

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES ENTÉROBACTÉRIES ISOLÉES D'URINES AU CENTRE HOSPITALIER RÉGIONAL DE SAINT LOUIS (SÉNÉGAL) DE JUIN 2011 À JUILLET 2012

Lo S¹, Ka R², Ba Diallo A³, Diallo OF¹, Diagne R², Dia ML², Sarr AM⁴, Sow AI^{2,4}

RESUME

Introduction : Les infections du tractus urinaire sont souvent dues à des entérobactéries principalement *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Proteus spp.* Ces bactéries sont caractérisées par leur résistance aux antibiotiques même à ceux de dernière génération. L'objectif de ce travail était de faire une étude prospective sur la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries isolées des urines au Laboratoire du CHR de Saint Louis entre juin 2011 et juillet 2012.

Matériels et Méthodes : Cette étude a porté sur 272 souches d'entérobactéries isolées d'échantillons urinaires. La culture et l'identification ont été faites selon la procédure classique à savoir l'étude des caractères morphologiques, culturels et biochimiques. L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion en gélose conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Résultats : Parmi les 272 souches d'entérobactéries isolées, nous avons 141 *Escherichia coli*, 71 *Klebsiella spp.*, 28 *Alkalescens dispar*, 17 *Enterobacter spp.*, 9 *Proteus mirabilis*, 3 *Providencia spp.* et 3 *Citrobacter spp.* *E. coli* était résistant respectivement à l'amoxicilline et à l'association amoxicilline + acide clavulanique à 89% et 65%. Les quinolones n'étaient actives que sur 20% des *Klebsiella*. 102 entérobactéries sécrétaient une Bêtalactamase à Spectre Elargi (BLSE) avec en majorité *E. coli* (52%) et *Klebsiella spp.* (40%). L'Aztréonam a inhibé 75% de ces souches BLSE et l'Imipenème 100%.

Conclusion : Les taux de résistance élevés et la fréquence des souches sécrétrices de BLSE témoignent de l'ampleur du phénomène de la résistance aux antibiotiques et de la nécessité de mettre en place des systèmes de surveillance. Des études moléculaires sont nécessaires pour caractériser les gènes de résistance présents chez nos isolats.

Mots-clés : Infection du Tractus Urinaire; Entérobactéries; Bêtalactamase à Spectre Elargi; Saint Louis

ABSTRACT

SUSCEPTIBILITY OF ENTEROBACTERIACEAE ISOLATED IN URINARY AT THE REGIONAL HOSPITAL OF SAINT LOUIS (SENEGAL) FROM JUNE 2011 TO JULY 2012

Introduction : Urinary tract infections are due largely to enterobacteria as *Escherichia coli*, *K. pneumoniae* and *Proteus spp.* A common feature of these species is their resistance to antibiotics including latest generation. The objective of this prospective work was to conduct a study measuring the sensitivity of enterobacteria isolated from urines in the laboratory at the regional hospital of Saint Louis from June 2011 to July 2012.

Materials and Methods : This study enrolled 272 strains of Enterobacteriaceae from bacteriological urines examinations. Culture and identification were performed according to the procedure adopted by the laboratory to study morphological, cultural and biochemical characteristics. Antimicrobial susceptibility was performed by diffusion technique on Mueller Hinton agar according to the recommendations of the Committee of susceptibility of the French Society of Microbiology (CA-SFM).

Results : Among the 272 of Enterobacteriaceae we obtained 141 *Escherichia coli*, 71 *Klebsiella spp.*, 28 *Alkalescens dispar*, 17 *Enterobacter spp.*, 9 *Proteus mirabilis*, 3 *Providencia spp.* and 3 *Citrobacter spp.* *E. coli* were resistant to amoxicillin and amoxicillin + clavulanic acid respectively in 89 % and 65%. The quinolones were only active on 20% of *Klebsiella*. 102 secreted expanded spectrum beta-lactamase (ESBL) mainly with *E. coli* (52%) and *Klebsiella spp.* (40%). Aztréonam inhibited 75% of ESBL and Imipenème 100%.

Conclusion : The bacteria isolated in this study are the same as those found in the literature; however, in contrast, resistance rates obtained in this study were higher for both beta-lactams and other antibiotics families. The frequency of secreting strains of ESBL is very high. Molecular studies are needed to characterize genes involved in drug resistance.

Keywords: Urinary Tract Infection; Enterobacteria; Expanded Spectrum Beta-lactamase; Saint Louis

- 1- Laboratoire du CHR de Saint-Louis
- 2- Laboratoire de Bactériologie, CHU de Fann, Dakar
- 3- Laboratoire de Bactériologie, CHU Le Dantec, Dakar
- 4- Direction des Laboratoires du Sénégal

Auteur correspondant : Dr Seynabou LO,
zeynaby78@hotmail.fr, Téléphone : 77 533 96 73

INTRODUCTION

Les entérobactéries (EB) représentent d'une part la deuxième cause d'infections graves après les cocci à Gram positif et, d'autre part, les germes les plus fréquemment isolés parmi les bacilles à Gram négatif (BGN).

Elles sont responsables de 85% des cas d'infections du tractus urinaire (ITU) [1]. Parmi elles, *Escherichia coli* (*E. coli*) est impliqué dans environ 80% des cas [2,3].

Les phénotypes de résistance aux Bêtalactamines les plus exprimés sont la production d'une pénicil-

linase à haut niveau, d'une céphalosporinase déréprimée ou d'une Bêtalactamase à Spectre Elargi (BLSE) [4-6]. Cela aboutit à l'apparition d'espèces contre lesquelles les possibilités thérapeutiques sont très réduites voire nulles, avec pour conséquences une durée d'hospitalisation prolongée, un surcoût financier et un accroissement de la morbidité et de la mortalité.

L'objectif général de ce travail prospectif était d'isoler, dans le Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint Louis (CHRSL), au Sénégal, les souches d'entérobactéries impliquées dans les ITU. Les objectifs spécifiques étaient : identifier les souches d'EB; tester leur sensibilité à différents antibiotiques; déterminer leurs phénotypes de résistance aux antibiotiques.

MATHERIEL ET METHODES

Période et Site de l'étude

Cette étude prospective a été réalisée entre juin 2011 et juillet 2012, soit une période de 14 mois. Nous avons travaillé au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint Louis au Sénégal où tous les échantillons d'urines ont été manipulés.

Matériel de l'étude

Nous avons travaillé sur les souches d'entérobactéries isolées chez des patients hospitalisés ou non au CHRSL, patients chez lesquels une ITU était suspectée et dont au moins un échantillon d'urines a été reçu au Laboratoire du CHRSL pour examen cyto-bactériologique des urines (ECBU).

Sur la base des recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM), 4ème édition 2014 [7], nous avons réalisé l'antibiogramme (ABG) sur la gélose Mueller Hinton avec les disques d'antibiotiques (AB) des Laboratoires Bio-Rad suivants : Amoxicilline (AMX: 25µg), Amoxicilline + Acide clavulanique (AMC: 20/10µg), Céfotaxime (CF: 30µg), Ticarcilline (TIC: 75µg), Céfotaxime (CTX: 30µg), Ceftriaxone (CRO: 30µg), Ceftazidime (CAZ: 30µg), Aztréonam (ATM : 30µg), Imipénème (IMP :10µg), Kanamycine (KA : 30µg), Gentamicine (GM: 10µg, Tobramycine (TM:10µg), Acide Nalidixique (NA : 30µg), Ciprofloxacine (CIP: 5µg), Colistine (CS: 30µg), Triméthoprime+Sulfaméthoxazole (SXT: 1,25 et 23,75µg). L'étalon Mcfarland 0,5 a servi à l'étalonnage des inoculas.

Méthodes de l'étude

L'isolement et l'identification des souches bactériennes ont été faits selon la procédure standard d'un Laboratoire de Bactériologie médicale: étude des caractères morphologiques, cultureux, biochimiques et antigéniques. L'ABG a été réalisé par la méthode de diffusion en gélose (gélose Mueller Hinton) selon les

recommandations du CA-SFM 2014 [7] à savoir : la préparation de l'inoculum obtenu par dilution à 10^8 UFC de la suspension bactérienne étalonnée à 0,5 Mcfarland, puis l'ensemencement par écouvillonnage dans trois directions, ensuite le dépôt des disques grâce au distributeur automatique et enfin l'incubation à l'étuve à $+37^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures. La lecture de l'ABG a consisté à mesurer le diamètre d'inhibition autour de chaque disque d'AB et interpréter les résultats selon les standards du CA-SFM 2014. La présence d'une image de synergie en « bouchon de champagne » dans la zone de contact entre le disque d'Amoxicilline+Acide clavulanique et ceux des céphalosporines de troisième génération ou de l'Aztréonam a été retenue comme signe de production de BLSE.

Nous avons exploité les dossiers des patients correspondant aux souches testées; les informations suivantes ont été collectées : l'âge, le sexe, le diagnostic clinique et l'existence d'une sonde vésicale à demeure.

RESULTATS

Durant les 14 mois de l'étude, 292 souches bactériennes ont été isolées en situation pathogène dans 2000 échantillons d'urines analysés au Laboratoire du CHRSL, soit un taux d'isolement de 14,6%. Parmi elles, nous avons identifié 272 souches d'entérobactéries soit 93,15%; leur répartition est la suivante: 141 *Escherichia coli* (51,83%), 71 *Klebsiella* (26,10%) dont 65 *K. pneumoniae* (23,89%), 28 *Alkalescens dispar* (10,29%), 17 *Enterobacter* spp (6,25%), 9 *Proteus mirabilis* (3,30%), 3 *Providencia* spp (1,10%) et 3 *Citrobacter* spp (1,10%) (Figure 1).

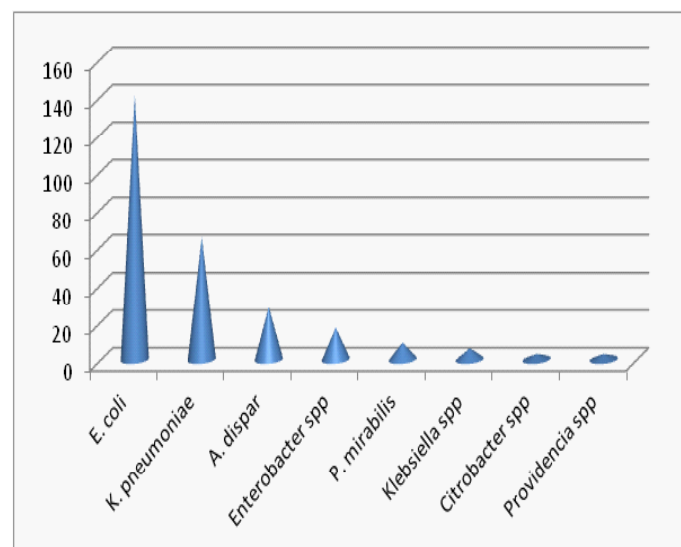


Figure 1: Répartition des Entérobactéries isolées des urines à Saint-Louis entre 2011 et 2012

Elles provenaient de 27 patients hospitalisés et de 245 patients suivis à titre externe. Leur âge variait de 21 à 61 ans et le sexe féminin était prédominant (52,7%) ; 38% de ces femmes consultaient soit pour

un bilan prénatal soit pour un bilan de stérilité.

L'activité des Bêtalactamines sur les deux principales entérobactéries isolées (*E. coli* et *K. pneumoniae*) était faible pour les Pénicillines et modérée pour les Céphalosporines.

En effet, seuls 11% des souches d'*E. coli* étaient sensibles à toutes les Bêtalactamines. Les taux de sensibilité étaient respectivement de 11%, 35% et 67% à l'amoxicilline, à l'association Amoxicilline + Acide clavulanique et à la Céfotaxime. Les céphalosporines de troisième génération (C3G) comme le Céfotaxime, la Ceftazidime et la Ceftriaxone ont inhibé 66% des isolats d'*E. coli*. Le Triméthoprime+Sulfaméthoxazole, l'Acide nalidixique et la Ciprofloxacine ont été actifs sur au moins 60% des souches alors que la Gentamycine en inhibait moins de la moitié.

Vingt quatre (24) souches de *K. pneumoniae* présentaient un phénotype sauvage pour les Bêtalactamines. La Colistine était la molécule la plus active (80%) suivie par la Gentamycine (55%) et les C3G (moins de 50%). Le Triméthoprime+Sulfaméthoxazole, l'Acide nalidixique, la Ciprofloxacine et l'association Amoxicilline + Acide clavulanique ont inactivé environ 20% des souches; ce taux est de 11% pour les aminosides comme la Gentamycine et la Tobramycine.

L'activité des C3G et des quinolones sur les souches d'Enterobacter était modérée (55% et 50%) alors que les aminosides et la colistine en ont inhibé 78% et le Triméthoprime+Sulfaméthoxazole seulement 28%. Les aminosides, avec 50% de taux d'inhibition, étaient les molécules les plus actives sur *P. mirabilis*.

Parmi les 272 isolats d'entérobactéries, 102 (37,5%) sécrétaient une BLSE. Ce phénomène a été observé essentiellement chez *E. coli* (52%) et *Klebsiella* (40%) et rarement chez les autres EB (Figure 2).

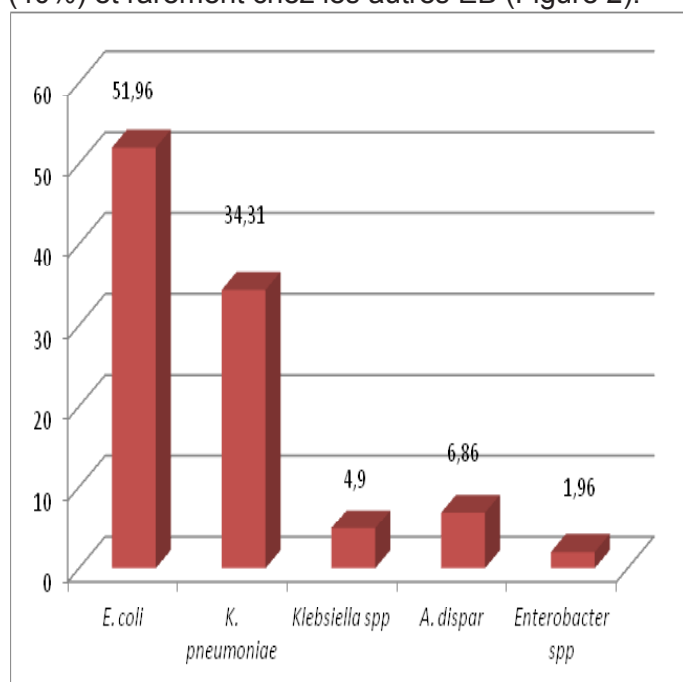


Figure 2: Répartition des souches productrices de BLSE selon les espèces

Nous avons retrouvé ces souches chez 4 patients porteurs de sonde vésicale à demeure (3 *K. pneumoniae* et 1 *E. coli*). Les antibiotiques les plus actifs sur ces souches sécrétrices de BLSE étaient par ordre décroissant : l'Imipenème (100%), l'Aztréonam (75%), l'Acide nalidixique (66%) et la Ciprofloxacine (60%). Les aminosides (Gentamycine, Tobramycine, Kanamycine) ont inhibé moins de la moitié (42 à 47%) de ces souches sécrétrices de BLSE (Figure 3).

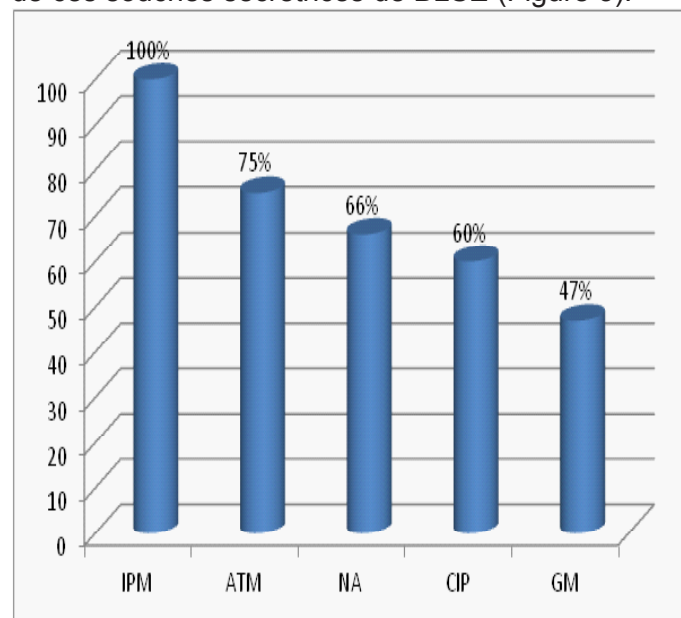


Figure 3: Sensibilité des souches BLSE aux autres antibiotiques

DISCUSSION

Les entérobactéries représentaient 93% des bactéries isolées au Laboratoire du CHRSL chez les patients chez qui une ITU était suspectée. Des taux similaires (85%) ont été rapportés dans la littérature [8]. *E. coli* reste de loin l'entérobactérie la plus isolée, vraisemblablement à cause de sa capacité d'adhérence aux cellules; il est suivi par *K. pneumoniae* ou *P. mirabilis* [1,8]. Nous avons abouti au même constat dans notre étude, où *E. coli* (48%) et *K. pneumoniae* (25%) occupent les premiers rangs. Cet ordre de fréquence ne change pas même chez les patients porteurs de sonde vésicale à demeure [3,8].

Les taux de résistance de nos souches d'*E. coli* aux Bêtalactamines sont comparables à ceux rapportés dans d'autres pays [9]; cependant, ils sont plus élevés que les données publiées ailleurs dans le monde [4]. Nous avons noté un taux résistance de 60% aux quinolones; cette résistance rapportée depuis des années, ne cesse de croître. Elle serait liée en partie à une consommation abusive et incontrôlée de ces molécules surtout en Médecine Vétérinaire [10,11]. Une évolution, certes progressive, de la résistance aux aminosides a été notée en Europe chez *E. coli* et *K. pneumoniae* [12]; les taux relevés au CHRSL sont plus élevés.

Les BLSE ont été décrites initialement chez les bactéries du genre *Klebsiella* puis chez *E. coli*. Elles sont essentiellement de type TEM, SHV et CTX-M [5,6] et sont sécrétées surtout par les souches d'origine humaine (95%) [13]. Dans notre étude, 37,5% des souches produisaient l'une de ces enzymes. Ce taux est supérieur à celui rapporté (24,3%) au Centre Hospitalier Universitaire A. le Dantec de Dakar durant la période 2011-2013 [13]. Au CHRSL, nous avons constaté que la production d'une BLSE était plus fréquente chez les souches d'*E. coli* (52%) que chez celles de *K. pneumoniae* (34%). C'était l'inverse au CHU le Dantec en 2013 où les taux étaient de 92% pour *K. pneumoniae*, 35% pour *E. coli* 18% pour *Enterobacter* [13]. L'ordre de fréquence et les taux rapportés dans ce CHU sont comparables à ceux établis en France en 2011-2012 où *K. pneumoniae* (15,8%), précédait les *Enterobacter* (12%) et *E. coli* (5,3%) [14]. Au Liban, entre 1998 et 2001, les *Serratia* venaient en tête (44,3%), suivies par *K. pneumoniae* (23,7 %) et *E. coli* (20,7 %) [15].

Les taux de résistance de ces souches BLSE pour la Ciprofloxacine était de 51% et de 49% pour l'association Triméthoprime-Sulfaméthoxazole. Ces résultats sont sensiblement proches de ceux obtenus par Park [15] avec 54% pour la Ciprofloxacine et 44% pour le Triméthoprime-Sulfaméthoxazole.

Toutes nos souches sécrétrices de BLSE étaient sensibles à l'Imipénème comme rapporté par d'autres auteurs [15]. Elles étaient plus sensibles à la Ciprofloxacine (60%) que les isolats testés en France [14] et en Corée du Sud [16] pour lesquels ce taux variait de 49% à 46%. L'activité du Triméthoprime-Sulfaméthoxazole sur les souches productrices de BLSE est modérée (44% à 49%) dans ces deux pays.

CONCLUSION

La résistance aux antibiotiques est un phénomène qui ne cesse de progresser. La fréquence des souches sécrétrices de BLSE est très élevée ce qui impose la mise en place d'un système de surveillance. Des études moléculaires doivent être effectuées pour la caractérisation des gènes impliqués dans la résistance de nos isolats aux antibiotiques. Une sensibilisation du personnel de Santé est une priorité afin de détecter et d'étiqueter les patients infectés ou colonisés par une bactérie sécrétrice de BLSE ou tout autre bactérie multi résistante aux antibiotiques. On pourrait ainsi mettre en oeuvre des mesures d'isolement efficaces de tels patients au sein des centres de soins.

REFERENCES

1- Zhang Y, Yang J, Ye L, Luo Y, Wang W, Zhou W et al. Characterization of Clinical Multidrug-Resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates 2007–2009 in China. *Microbial Drug Resistance*. 2012;18(5):465-470.

2- Athieko MCD. Caractères phénotypiques des souches d'*Escherichia coli* uropathogènes isolées au Sénégal, au Niger et au Togo. Thèse Pharm, Dakar. 1995; N° 38.

3- Buhannic M, Négrin N, Pellissier D. Antibiothérapie des infections urinaires : évaluation du suivi des recommandations de la conférence de consensus. *J Pharm Clin*. 1999; 18(3): 213-217.

4- Ho WS, Balan G, Puthuchery S, Kong BH, Lim KT, Tan LK et al. Prevalence and Characterization of Multidrug-Resistant and Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* from Pediatric Wards of a Malaysian Hospital: *Microb Drug Resist*. 2012; 18(4):408-16

5- Elhani D. Les bétalactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Ann Biol Clin*. 2012; 70(2):117-40

6- Ruppé E. Épidémiologie des bétalactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *J antib*. 2010;12(1): 3–16.

7- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). Recommandations 2014.

8- Ferjani A, Mkaddemi H, Tilouche S, Marzouk M, Hannechi N, Boughammoura L et al. Caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques des bactéries uropathogènes isolées dans un milieu pédiatrique. *Arch pédiatr*. 2011; 18(2):230-234.

9- Fallah F, Karimi A, Goudarzi M, Shiva F, Navidinia M, Jahromi MH et al. Determination of integron frequency by a Polymerase Chain Reaction–Restriction Fragment Length Polymorphism Method in Multidrug-Resistant *Escherichia coli*, Which Causes Urinary Tract Infections. *Microb Drug Resist*. 2012; 18(6):546-9.

10- Neuhauser MM, Weinstein RA, Rydman R, Danziger LH, Karam G, Quinn JP. Antibiotic Resistance Among Gram-Negative Bacilli in US Intensive Care Units: Implications for Fluoroquinolone use. *JAMA*. 2003; 289(7):885-888.

11- Batard E, Montassier E, Ballereau F, Potel G. De la consommation d'antibiotiques aux résistances bactériennes: l'exemple de la résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones. *Rev Méd Thérap*. 2011; 17(4): 294-301.

12- European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC): Surveillance de la résistance aux antimicrobiens en Europe, Rapport de surveillance 2011.

13- Tine A. Prévalence des entérobactéries sécrétrices de BLSE isolées au laboratoire de bactériologie du CHU Le Dantec entre 2011 et 2013. Thèse Pharm, Dakar. 2013 N°94.

14- Trystram D., Jarlier V. Evolution de la distribution relative des entérobactéries productrices de BLSE selon l'espèce: Enquête Assistance Publique des Hôpitaux de Paris. 2009, Paris

15- Hamze M, Dabboussi F, Izard D. Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques : étude sur quatre ans (1998-2001) dans le nord du Liban : Cahiers d'études et de recherches francophones / Santé. 2003; 13(2): 107-12.

16- Park SH, Choi SM, Lee DG, Kim J, Choi JH, Kim SH et al. Emergence of Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* as a Cause of Community-Onset Bacteremia in South Korea: Risk Factors and Clinical Outcomes. *Microb Drug Resist*. 2011; 17(4): 537- 44.