

PREVALENCE DES ENTEROBACTERIES PRODUCTRICES DE BETALACTAMASE A SPECTRE ELARGI ET RESISTANCE A L'IMIPENEME AU LABORATOIRE DE BACTERIOLOGIE-VIROLOGIE DU CHNU/FANN - DAKAR

PREVALENCE OF EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE ENTEROBACTERIACEAE AND RESISTANCE TO IMIPENEM IN CHNU / FANN BACTERIOLOGY AND VIROLOGY LABORATORY – DAKAR

Sarr H¹, Diop A², Diallo F³, Niang AA^{2,3}, Dieye B², Diagne R⁴, Lo S⁵, Ka R⁴, Dia ML^{2,3} Sow AI^{2,3}

1. UFR des Sciences de la Santé, Université Assane Seck de Ziguinchor
2. Laboratoire de Bactériologie – Virologie du CHNU de FANN Dakar – Sénégal
3. Laboratoire Bactériologie – Virologie, CHNU de FANN Dakar – Sénégal
4. UFR des Sciences de la Santé, Université de Thiès
5. UFR des Sciences de la Santé, Université Gaston Berger

Résumé

Introduction - Les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (EBLSE) sont des bactéries multirésistantes (BMR) qui peuvent être responsables d'infections graves. La multirésistance est à l'origine d'une impasse thérapeutique et conduit à une prescription d'antibiotiques à large spectre (carbapénèmes). L'objectif de l'étude était de déterminer la prévalence des EBLSE et la résistance à l'imipénème

Méthodologie - Il s'agissait d'une étude rétrospective réalisée du 01 janvier 2015 au 31 décembre 2016. Les fiches d'antibiogrammes (ABG) et les registres de paillasse ont permis de recueillir respectivement les profils de sensibilité aux antibiotiques des souches et les données sociodémographiques des patients sources.

Résultats - Nous avons colligé 1185 souches d'entérobactéries dont *Escherichia coli* 47% (n=557), *Klebsiella pneumoniae* 20,7% (n=245) et *Enterobacter spp* 18,9% (n=224). Le phénotype BLSE était majoritaire avec 38,7% (n=459), suivi du phénotype pénicillinase à haut niveau avec 31,3% (n=371). Les souches résistantes à l'imipénème représentaient 1% (n=12). Le pourcentage d'EBLSE par espèce, montrait que *Klebsiella pneumoniae* représentait 47,7% et *Escherichia coli* 35,2%. Sur les 12 espèces d'entérobactérie résistantes à l'imipénème, *Enterobacter spp* représentait 50% (n=6) suivi de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Escherichia coli* avec 16,7% (n=2) pour chacune.

Conclusion - La résistance des entérobactéries aux bêtalactamines, pose un réel problème de santé publique. La production de BLSE touche actuellement les carbapénèmes, donc il est important de conserver l'efficacité de ces molécules en évitant leur usage abusif.

Mots clés : Entérobactéries, multirésistance, EBLSE, Carbapénème

Summary

Introduction : Enterobacteriaceae producing extended spectrum beta-lactamases (EBLSE) are multidrug-resistant bacteria (BMR) that can be responsible for serious infections. Multidrug resistance is at the origin of a therapeutic impasse and leads to the prescription of broad spectrum antibiotics (carbapenems). The aim of this study was to determine the prevalence of EBLSE and resistance to imipenem.

Methodology : This is a retrospective study carried out from January 01, 2015 to December 31, 2016. The antibiogram sheets (ABG) and the bench-top registers made it possible to collect the antibiotic sensitivity profiles of the strains and the socio-demographic data of the source patients respectively. The data obtained were entered and exploited using the Epi-Info software, version 3.5.4.

Results : We collected 1185 strains of enterobacteria, including *Escherichia coli* 47% (n = 557), *Klebsiella pneumoniae* 20,7% (n = 245) and *Enterobacter spp* 18,9% (n = 224). The BLSE phenotype was predominant with 38,7% (n = 459), followed by the high level penicillinase phenotype with 31,3% (n = 371). The strains resistant to imipenem represented 1% (n = 12). The percentage of EBLSE by species showed that *Klebsiella pneumoniae* represented 47.7% and *Escherichia coli* 35,2%. Out of the 12 species of enterobacteria resistant to imipenem, *Enterobacter spp* represented 50% (n = 6) followed by *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* with 16,7% (n = 2) for each.

Conclusion : The resistance of enterobacteria to beta-lactams poses a real public health problem. The production of ESBL currently affects carbapenems, so it is important to maintain the effectiveness of these molecules by avoiding their misuse.

Key words: Enterobacteriaceae, multidrug-resistant, EBLSE, carbapenem

INTRODUCTION

Les entérobactéries développent des résistances aux bêtalactamines par production d'enzymes inactivant ces antibiotiques. Les bêtalactamases sont des enzymes constitutionnelles ou acquises, qui provoquent l'ouverture du cycle beta-lactame [1]. L'augmentation de l'incidence d'entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases à spectre élargi (EBLSE) est à l'origine d'infections graves et a conduit à une prescription accrue d'antibiotiques à large spectre.

L'émergence et la dissémination de nouvelles bêtalactamases, premier mécanisme en cause dans la résistance aux bêtalactamines des bactéries à Gram négatif (BGN), sont concomitantes à l'introduction des bêtalactamines dans l'arsenal thérapeutique. Ainsi, l'utilisation des céphalosporines de troisième génération (C3G) au début des années 1980, permettant de lutter contre les infections à germes producteurs de pénicillinases, a été suivie, dès 1983 de la description de la première bêtalactamase à spectre élargi (BLSE) chez *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) en Allemagne [1]. Bien que les BLSE aient été décrits chez des entérobactéries, ces enzymes sont trouvés principalement chez les espèces bactériennes comme *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli* [2]. Actuellement plus de 200 BLSE ont été décrites et leur diffusion à travers le monde pose un véritable problème de santé publique [3]. Les EBLSE sont associées à des

infections mortelles, augmentant la morbidité et la mortalité et les coûts associés aux soins de santé [4].

Le défi majeur est aujourd'hui de limiter la propagation des EBLSE aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier. L'objectif de ce travail était la détermination de la prévalence des EBLSE et résistantes à l'imipénème au laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier National Universitaire (CHNU) de FANN.

MATERIEL ET METHODE

Il s'agissait d'une étude rétrospective réalisée du 01 janvier 2015 au 31 décembre 2016, portant un total de 1185 souches d'entérobactéries isolées et identifiées de divers produits pathologiques reçus et traités au laboratoire. Les entérobactéries étaient isolées sur milieu sélectif de E.M.B (Eosine Methylene Blue) puis nous avons réalisé une coloration de Gram pour confirmer la morphologie des BGN. L'identification est réalisée grâce à la galerie classique composée de Kligler Hajna (KH), Mannitol-mobilité (MM), Citrate de Simmons (CS), Urée-tryptophane et l'eau peptonnée simple (EPS). La détermination de l'espèce d'entérobactérie est suivie de la réalisation d'un antibiogramme (ABG). Il est réalisé en préparant un inoculum bactérien avec une densité équivalente à 0,5 McFarland. Ensuite 1 ml de cette suspension est ajouté à 9 ml d'eau physiologique stérile pour obtenir ainsi une dilution au 1/10e. Avec un écouvillon, on ensemence une gélose ordinaire de Muller Hinton (MH) à partir de

la dilution au 1/10e. Plusieurs familles d'antibiotiques ont été testées (**Tableau I**) et consigner sur une fiche qui détermine le profil de sensibilité aux antibiotiques. Nous avons sélectionné les fiches d'antibiogramme des entérobactéries correctement identifiées, interprétées et disponible. Les fiches d'ABG d'entérobactéries non disponibles, non identifiées ou avec un phénotype non interprétable n'étaient pas colligées.

Les informations de tout patient chez qui une entérobactérie a été identifiée étaient enregistrées sur un registre de paillasse.

Les fiches d'ABG ont permis de recueillir les profils de sensibilité aux antibiotiques des souches et les registres de paillasses de recueillir les données sociodémographiques (âge, sexe). Ces informations ont été saisies et exploitées grâce au logiciel Epi- Info, version 3.5.4 (Tableau I).

RESULTATS

Sur un total de 1185 souches, 628 (53%) provenaient de patients externes. Pour les patients hospitalisés, 173 (14,6%) étaient au Service de Neurologie, 118 (10%) en Pneumologie et 108 (9,15%) aux Maladies Infectieuses.

Les souches étudiées ont été isolées principalement dans des échantillons d'urines (n=666 soit 56,2%) et (n=261 soit 22%). Il s'agissait essentiellement d'*E. coli*, de *K. pneumoniae* et *Enterobacter spp* (Figure 1).

Parmi elles, il y'avait 459 EBLSE dont 197 souches d'*E. coli* soit 42,9%, 118 souches de *K.*

pneumoniae soit 25,7%, 98 souches d'*Enterobacter spp* soit 21,4% et 23 souches de *Citrobacter spp* soit 5%.

Les souches d'entérobactéries résistantes à l'imipenème étaient au nombre de 12 dont 6 *Enterobacter spp* (50%) l'espèce majoritairement représentée. (Tableau II).

DISCUSSION

Les entérobactéries étaient isolées dans plusieurs types de produits pathologiques et diverses souches avec différents phénotypes ont été retrouvées.

Nous avons retrouvé, comme d'autres auteurs dakarois [5] les souches d'EBLSE surtout dans les échantillons d'urines et de pus. Dans l'étude menée par Tine et al entre 2011 et 2013 [6]. [4], la prévalence des souches EBLSE était de 24,3% ; elle est passée à 38,7% dans notre étude entre 2015 et 2016. Précisons cependant qu'il ne s'agit pas des mêmes hôpitaux dakarois car le taux de prévalence des EBLSE est connu comme variable selon les structures sanitaires d'un même pays. Par contre, ce qui est commun aux deux études, c'est la prépondérance de *K. pneumoniae* et d'*E. coli* parmi les EBLSE circulant à Dakar. Nous les avons retrouvés plus chez les patients hospitalisés que chez ceux consultant à titre externe. Néanmoins, cette prévalence chez les patients externes est non négligeable. Jusqu'à la fin des années 1990, les entérobactéries productrices de BLSE étaient principalement des espèces dites « hospitalières », *Klebsiella pneumoniae* ou

Tableau I : Liste des antibiotiques testés à l'antibiogramme des entérobactéries (CA-SFM 2016)

Antibiotiques	Abréviations	Charge (µg)	Diamètres critiques (mm)	
			Φ ≥ D Sensible	Φ < d Résistant
Amoxicilline	AMX	20	19	19
Amox. + Ac. Clav	AMC	20 - 10	19	19
Ticarcilline	TIC	75	23	23
Pipéracilline	PIP	30	20	17
Céfalotine	CF	30	18	12
Céfoxitine	FOX	30	19	15
Céfotaxime	CTX	5	20	17
Ceftriaxone	CRO	30	23	20
Ceftazidime	CAZ	10	22	19
Céfépime	FEP	30	24	21
Aztréonam	ATM	30	24	21
Imipénème	IPM	10	22	16
Chloramphénicol	C	30	17	17
Tobramycine	TOB	10	17	14
Gentamycine	GM	10	17	14
Amikacine	AN/ AK	30	16	13
Netilmicine	NET	10	15	12
Cotrimoxazol	Sxt/Cot	1,25/ 23,75	16	13
Ac. nalidixique	NA	30	19	14
Fosfomycine	FOS	200	16	13
Péfloxacine	PEF	5	24	24
Norfloxacine	NOR	10	22	19
Ciprofloxacine	CIP	5	22	19
Lévofloxacine	LEV	5	22	19
Nitroxoline	NI	20	30	12
Colistine	CS	50	15	15

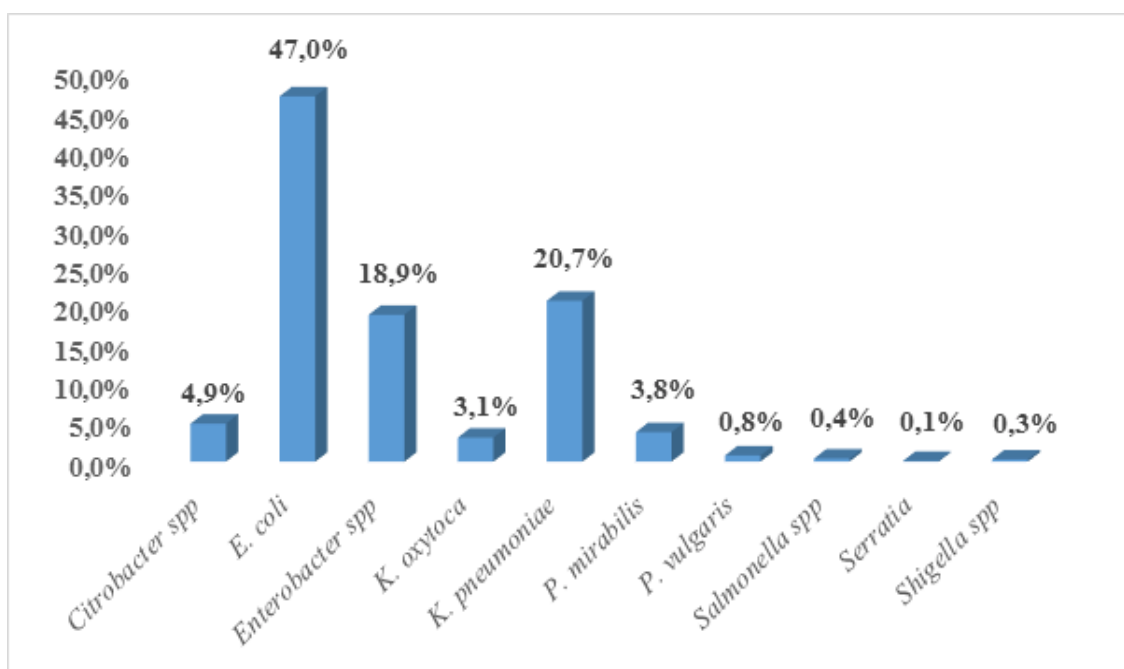


Figure 1 : Répartition des souches selon l'espèce d'entérobactérie

Tableau I : Résistance à l'imipénème selon l'espèce d'entérobactérie

Espèces	Nombre	Pourcentage (%)
<i>Enterobacter</i>	6	50
<i>Escherichia coli</i>	2	16,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	16,7
<i>Citrobacter spp</i>	1	8,3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	8,3
Total	12	100

Enterobacter spp, productrices d'enzymes du type TEM et/ou SHV et diffusant de façon clonale entre patients hospitalisés [7,8].

Parmi les 459 entérobactéries productrices de BLSE, *Escherichia coli* était l'espèce la plus représentée avec 42,9% (n=197) suivi de *Klebsiella pneumoniae* avec 25,7% (n=118). Ces résultats sont similaires à ceux de Camara M. et al en 2013 qui avaient trouvé 31,2% et 50,5% de souches productrice de BLSE respectivement chez *E. coli* et *K. pneumoniae* [9]. Des résultats similaires ont été rapportés ailleurs ; aux États-Unis [10] et en Inde [11], montrant une prévalence des BLSE allant de 60% à 71% pour *K. pneumoniae* et 35,% à 42% pour *E. coli*. Les souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* productrices de BLSE sont de plus en plus signalées dans le monde en milieu communautaire et hospitalier suggérant la nécessité d'une surveillance des profils de résistance aux antimicrobiens [12].

La résistance croissante des bactéries aux antibiotiques est devenue un enjeu majeur de santé publique faisant craindre des situations épidémiques et endémiques et des impasses

thérapeutiques [13,14]. Depuis 2010, on assiste à une émergence rapide d'espèces d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (I/R) et/ou productrices de carbapénémases [15]. Parmi nos isolats testés, 12 entérobactéries produisaient une carbapénémase soit 1% ; ils appartenaient aux genres *Enterobacter*, *Escherichia* et *Klebsiella*. La sécrétion de cette enzyme a été constatée en Europe depuis au moins 10 ans et est de type varié : VIM-1 (Verona IMipénémase), NDM-1 (New Delhi metallo-beta-lactamase), Sulfhydryl Variable (SHV), Cefotaximase-Munich (CTX-M) [16,17]. Cette prévalence était estimée à 6,05% au Maroc en 2014 [18] où *Klebsiella pneumoniae* semblait être la souche productrice potentielle de carbapénémases, avec une prévalence de 16,40%, suivi d'*Enterobacter cloacae* avec 6,33%. Dans notre étude la majorité des souches productrices de carbapénémases étaient isolées chez les patients alités pouvant s'expliquer par la pression de sélection liée à l'usage intensif des antibiotiques dans les services d'hospitalisation.

Faute de moyens, la nature des enzymes sécrétées par nos souches n'a pu être caractérisée de même que les gènes de résistances.

CONCLUSION

La production d'enzymes inactivant les bêtalactamines (BLSE) est le premier mécanisme de résistance chez les entérobactéries. Au Sénégal, commence à apparaître des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmes bien que la disponibilité des carbapénèmes notamment de l'imipénème soit relativement récente. Il convient évidemment de tout mettre en œuvre pour que cette situation reste la plus immuable possible. L'émergence de telles souches pourrait conduire à une impasse thérapeutique.

REFERENCES

- 1. Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al.** Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983;11:315-317.
- 2. Pitout JDD, Laupland KB.** Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public health concern. *The Lancet Infect Dis.* 2008;8(3):159-166.
- 3. Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18: 657-686.
- 4. Pitout JD.** Infection with extended-spectrum β -lactamases producing Enterobacteriaceae: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs.* 2010;70(3):313-333.
- 5. Diouf OK.** Profils phénotypiques de résistance aux carbapénèmes de souches productrices de bêtalactamases à Spectre Elargi. Thèse Pharm, Dakar 2015, no 08.
- 6. Tine A.** Prévalence des entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases à spectre étendu isolées au laboratoire de bactériologie du CHNU Aristide Le Dantec. Thèse Pharm, Dakar 2013, no 94.
- 7. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, et al.** CTX-M changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59:165-174.
- 8. Canton R, Coque TM.** The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol.* 2006;9:466-475.
- 9. Camara M, Ba Diallo A, Diop Ndiaye H, Karam F, Lo S, Diagne Samb A, Toure Kane NC, Mboup S, Gaye Diallo A.** Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in a Dakar University Hospital, Senegal. *Afr J Med Biol.* 2016;1(1):15-21.

10. **Ajao AO, Johnson JK, Harris AD, Zhan M, Mc Gregor JC, Thom KA, et al.** Risk of acquiring extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* from prior room occupants in the intensive care unit. *Infect Contr Hospital Epidemiol.* 2013;34(5):453-458.
11. **Taneja J, Mishra B, Thakur A, Dogra V, Loomba P.** Nosocomial blood-stream infections from extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from GB Pant Hospital, New Delhi. *J Infect Develop Countr.* 2010;4(8):517-520.
12. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-Spectrum β -lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(4):657-686.
13. **Levy SB, O'Brien TF.** Antimicrobial resistance alerts and implications. *Clin Infect Dis* 2005;41:S219–220.
14. **American Society For Microbiology.** Antibiotic resistance: an ecological perspective on an old problem. DOI: 10.1128/AAMCol. 12Oct. 2008.
15. **Jans B, Huang T-D D, Bogaerts P, Catry B, Glupczynski Y.** Carbapenemase producing Enterobacteriaceae in Belgium, Surveillance data institut scientifique de santé publique January 2012-June 2013.
16. **Nordmann P, Cuzon G, Naas T.** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* 2009;9:228-236.
17. **Livermore DM.** Has the era of untreatable infections arrived. *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(Suppl 1):i29–36.
18. **Akel Z.** Profils phénotypiques des entérobactéries productrices de carbapénèmases. Thèse Pharm, Rabat, 2014, no 75.

Correspondance : Dr Habibou SARR
UFR des Sciences de la Santé, Université Assane Seck de Ziguinchor
BP : 523 - Diabir
Tel : +221 77 903 11 94
Email : habibou10@live.fr