

BACTERIOLOGIE

PROFILS DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES DE *VIBRIO CHOLERAE* O1 D'ORIGINE HUMAINE ISOLÉES EN CÔTE D'IVOIRE DE 1991 À 2006.

ANNÉ B JC¹, KACOU-NDOUBA A^{1,2}, KOUADIO-GUESSENND N¹,
TIECOURA KB³, KOFFI KS^{1,2}, ELOGNE-KOUAMÉ NC¹, DOSSO M^{1,2}

RESUME

Contexte : L'utilisation des antibiotiques lors des épidémies de choléra aussi bien chez les malades que les personnes contacts a considérablement contribué à l'émergence de bactéries résistantes.

Objectif : déterminer les profils de résistance aux antibiotiques des souches de *Vibrio cholerae* O1 isolées lors d'épidémies de choléra en Côte d'Ivoire.

Matériel et méthodes : Au cours des épidémies de 1991 à 2006, des selles de sujets malades provenant de différentes régions de Côte d'Ivoire ont été analysées en vue d'une confirmation au Département de Bactériologie-Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. L'identification des souches a été faite selon les méthodes de bactériologie standards (culture, biochimie, sérogroupage et sérotypage). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon la technique de Kirby-Bauer.

Résultats : Un total de 340 isolats de *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor de sérotype ogawa ont été isolés durant les différentes épidémies de 1991 à 2006. Les taux de résistance étaient élevés avec 63,3% pour le chloramphénicol et 50,9% pour l'ampicilline. La résistance au sulfaméthoxazole-triméthoprimine était de 26,5%. Les taux étaient relativement faibles pour la tétracycline (5,5%), l'acide nalidixique (0,6%) et la ciprofloxacine (0,6%). Les Bactéries Multi-résistantes (BMR) étaient observées dans 14%. Le phénotype de résistance le plus fréquent était *AM^RCHL^RSXT^R* avec 33 isolats soit 10%.

Conclusion : Le renforcement de la surveillance des épidémies de choléra devrait se poursuivre afin d'étudier les mécanismes de résistance des souches bactériennes aux antibiotiques et la circulation des clones.

MOTS CLÉS : *VIBRIO CHOLERAE* O1, DIARRHÉE, PROFILS DE RÉSISTANCE ANTIBIOTIQUE.

ABSTRACT

Background : Acquired resistance to antimicrobial drugs is becoming more prevalent among *Vibrio cholerae* because of using antibiotic during epidemics among patient and close contact.

Objective: This study was to determine the antimicrobial resistant patterns of *Vibrio cholerae* O1 strains isolated during cholera outbreak in Côte d'Ivoire.

Materials and Methods: during the cholera epidemics from 1991 to 2006, the stools were collected from patients with complaints symptomatic of cholera

from different area of country. Samples were analyzed at laboratory at the Department of Bacteriology- Virology in Pasteur Institute of Côte d'Ivoire. Identification was done according to standard bacteriology methods (culture, biochemical reaction, serogroupe and serotype). Antimicrobial susceptibility testing was performed using Kirby Bauer method.

Results: During the epidemic from 1991 to 2006, all of the 340 isolates were *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor serotype Ogawa. The highest levels of antibiotic

1- Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

2- Département de Bactériologie-Virologie /UFR des Sciences Médicales d'Abidjan

3- Centre National de Référence des Antibiotiques

Correspondance

Anné blessa Jean Claude

03 BP 631 Abidjan 03

Tel : (225) 01 00 69 27

resistance were seen to chloramphenicol and ampicillin respectively 63.3% and 50.9%. Resistance to sulfamethoxazole-triméthoprim was 26.5%. Tetracycline, nalidixic acid and ciprofloxacin resistance remain low respectively 5.5%, 0.6% and 0.6%. The Multidrug resistant strains (MDR) were observed

in 14%. The most frequent resistance pattern was AM^RCHL^RSXT^R with 33 isolates or 10%.

Conclusion: these data suggest that the cholera epidemic survey with regard to drug resistance should be continued to study mechanisms of the spread of these resistances and clones.

KEYS WORDS: VIBRIO CHOLERAEE O1, DIARRHOEA, ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERNS.

INTRODUCTION

Vibrio cholerae biotype El Tor est responsable de la septième pandémie de choléra. Plusieurs pays ont connu des épidémies successives dont la Côte d'Ivoire en 1970³. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, en 2006, 14 sur les 52 pays au monde qui ont déclarés des cas de choléra étaient de l'Afrique de l'Ouest. Avec une létalité de 1,72% [OMS, 2006]. La prise en charge des malades repose essentiellement sur la réhydratation par voie parentérale. Cependant, certains

auteurs avancent qu'une antibiothérapie associée accélérerait la guérison et romprait la chaîne de transmission³. La pression de sélection exercée par l'usage des antibiotiques a favorisé l'émergence de souches de *Vibrio cholerae* résistantes dans plusieurs pays aussi bien en Afrique que dans les autres pays du monde^{1,7,9}. L'objectif de cette étude était de déterminer les profils de résistance aux antibiotiques des souches de *Vibrio cholerae* O1 isolées de 1991 à 2006.

MATERIEL ET METHODES

Il s'agit d'une étude transversale qui a porté sur les souches de *Vibrio cholerae* O1 isolées lors des épidémies de 1991 à 2006. Les isolats provenaient des selles des sujets présentant un syndrome cholériforme. Les selles provenaient de différentes régions sanitaires de la Côte d'Ivoire. Dans le cadre de la confirmation des cas de choléra, le département de Bactériologie-Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire a réalisé le diagnostic à l'aide des méthodes bactériologiques standards. Après l'isolement sur géloses sélectives TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Saccharose) et GNA (Gélose Nutritive Alcaline), l'identification a fait appel aux caractères morphologiques, culturels et biochimiques dont le test d'oxydase, la galerie API 20E, Biomérieux®, Marcy-l'Etoile, France. Le sérogroupage à l'aide d'immuns sérum (antisérum *Vibrio cholerae* O1 Bio-Rad®F-92430 Mannes-la-coquette) a permis de confirmer le diagnostic du choléra O1.

Le sérotypage a été réalisé à l'aide de sérum monovalent anti-Ogawa et anti-Inaba.

Un antibiogramme a été systématiquement réalisé sur ces souches selon la technique de diffusion en milieu gélosé de Kirby-Bauer. Les antibiotiques marqueurs testés étaient : ampicilline (AM, 10µg), chloramphénicol (CHL, 30µg), tétracycline (TET, 30µg), sulfaméthoxazole-triméthoprim (SXT, 25/µg), l'acide nalidixique (NA, 30µg) la ciprofloxacine (CIP, 5µg). La lecture et l'interprétation ont été faites selon les critères du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM). Le contrôle de qualité a été effectué avec la souche de référence *E. coli* ATCC 25922.

La saisie des données et leur analyse s'est fait dans le logiciel Epi Info 3.3.2. Le pourcentage de résistance a été calculé pour chaque antibiotique en divisant la fréquence des bactéries résistantes par le nombre de bactéries testées.

RESULTATS

Toutes les 340 souches de *Vibrio cholerae* identifiées étaient du biotype El Tor, du sérotype O1 et du sérotype Ogawa.

Niveau de résistance de *Vibrio cholerae* O1 aux antibiotiques selon les années

Dans le tableau I est résumé les taux de résistance en pourcentage de *Vibrio cholerae* O1 aux antibiotiques de 1991 à 2006. Pour l'ampicilline, la résistance globale était de 50,9%, avec des taux allant de 37% à 100%. En 1991, ce taux était de 48,2%, en 2002 il était de 37% et de 91,3% en 2006. Concernant le chloramphénicol, la résistance

globale était de 63,3%. En 1994, 95% des isolats étaient résistants à cet antibiotique, ce taux est resté élevé en 2006 avec 91,3%. Vis-à-vis du sulfaméthoxazole-triméthoprime, la résistance globale était de 26,5% en 1995, ce taux était de 56,3%. Ces chiffres étaient en hausse en 2002 et en 2006 avec des taux respectifs de 91,3% et 100%. Le taux de résistance globale était relativement faible pour la tétracycline (5,6%), l'acide nalidixique (0,6%) et la ciprofloxacine (0,6%). Une bactérie est dite multi-résistante lorsqu'elle est résistante à au moins trois (3) familles d'antibiotiques. Le taux de Bactérie Multi-Résistante (BMR) était globalement de 14% et en 2006 il était de 91%.

Tableau I : Niveau de résistance de *Vibrio cholerae* O1 aux antibiotiques selon les années

Années Antibiotiques	1991 N(%)	1992 N(%)	1994 N(%)	1995 N(%)	2001 N(%)	2002 N(%)	2006 N(%)	TOTAL N(%)
CHL ^R	4(4,7)	0(0)	114(95,5)	32(100)	1(16,7)	35(76,1)	21(91,3)	207(63,3)
AM ^R	41(48,2)	15(100)	61(45,9)	13(40,6)	5(83,3)	17(37)	21(91,3)	173(50,9)
SXT ^R	0(0)	0(0)	1(0,8)	18(56,3)	6(100)	42(91,3)	23(100)	90(26,5)
TET ^R	3(3,5)	0	2(1,5)	0	3(50)	3(6,5)	8(34,8)	18(5,6)
NA ^R	0	0	0	0	1(16,7)	0	1(4,3)	2(0,6)
CIP ^R	0	0	0	0	1(16,7)	0	1(4,3)	2(0,6)
BMR	2(2,5)	0	0	10(31)	3(50)	12(27)	20(91)	47(14)

CHL : Chloramphénicol ; AM : Ampicilline; SXT : Sulfaméthoxazole-triméthoprime; TET : tétracycline ; NA : Acide nalidixique ; CIP : Ciprofloxacine ; BMR : Bactérie Multi-Résistante.

Phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Vibrio cholerae* O1

Sur un ensemble de 340 souches, seulement 48 isolats soit 14% étaient sensibles à tous les antibiotiques testés, c'est-à-dire de phénotype sauvage. Dans 86%

des cas, les bactéries étaient résistantes à au moins un antibiotique. La multi résistance représentait 14,3%. Le phénotype de BMR le plus fréquent était AM^RCHL^RSXT^R dans 10% des cas suivi du phénotype AM^RCHL^RSXT^RTET^R avec 2,5% (voir Tableau II).

Tableau II : Distribution des phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Vibrio cholerae* O1

Marqueurs de résistance	Phénotype de résistance antibiotique	N	%
0	Sauvage	48	14
1	AM ^R	57	17
	TET ^R	4	1
	CHL ^R	75	22
	SXT ^R	4	1
2	AM ^R CHL ^R	57	17
	AM ^R TET ^R	5	1,5
	AM ^R SXT ^R	7	2
	CHL ^R SXT ^R	42	12,5
	CHL ^R TE ^R	1	0,3
	TET ^R SXT ^R	2	0,6
3	AM ^R CHL ^R SXT ^R	33	10
	AM ^R TET ^R SXT ^R	2	0,6
	AM ^R TET ^R CHL ^R	2	0,6
4	AM ^R CHL ^R TET ^R SXT ^R	8	2,5
5	AM ^R TET ^R SXT ^R NA ^R CIP ^R	1	0,3
6	AM ^R CHL ^R TET ^R SXT ^R NA ^R CIP ^R	1	0,3

DISCUSSION

Les taux de résistance des isolats de *Vibrio cholerae* O1 étaient variables selon les antibiotiques. Ils étaient globalement plus élevés avec l'ampicilline (50,9%) et le chloramphénicol (63,3%). Ces chiffres se rapprochent de ceux observés en Tanzanie en 2000 avec 46% pour l'ampicilline et 64,5% pour le chloramphénicol¹³. A Djibouti, les taux étaient plus faibles pour l'ampicilline (38%) et le chloramphénicol (21%)^{12,13}.

La résistance moyenne au sulfaméthoxazole-triméthoprime était de 26,5% mais durant l'épidémie de 2002, ce taux était de 91,3% et en 2006, 100% des souches étaient résistantes. Alors qu'en 1992, toutes les souches isolées étaient sensibles. Il est à noter que des taux élevés ont été rapportés en Tanzanie en 2000¹³, au Sénégal de 2004-2006 (90,3%)⁷ au Mozambique en 2006⁶ en Zambie de 1990-2004 (97%)⁸ et en Iran en 2009 (95%)²⁰⁰⁹¹. Au Ghana, la caractérisation génotypique de *V. cholerae* a mis en évidence un transposon de SXT et un intégron de classe 2⁹. Ces résultats montrent que cet antibiotique ne devrait plus être

utilisé dans le traitement du choléra. En effet, cette molécule est souvent prescrite dans le traitement des gastroentérites et en chimioprophylaxie chez des personnes infectées par le VIH. Des travaux ont montré que 90% des sujets sont porteurs asymptomatiques ou font une banale gastroentérite. La prise de ce médicament participerait à la sélection puis à la dissémination de souches résistantes émergentes dans la population². De plus, l'utilisation de molécule à base de sulfamides dans le traitement du paludisme pourrait être à l'origine de résistance croisée⁶.

Concernant les tétracyclines, la résistance était relativement faible (5,6%). Dans d'autres pays africains, les taux étaient très élevés avec 95% en Zambie en 2006 et 97,3% au Mozambique en 2007^{6,7}. Par contre au Sénégal, toutes les souches testées étaient sensibles à la doxycycline⁷. En Inde, les taux de résistance aux tétracyclines étaient de 27,3% pour Ogawa et 15% pour Inaba¹¹.

L'émergence de *V. cholerae* O1 résistant aux fluoroquinolones notamment à la ciprofloxacine (12,5%) était signalée en Inde

durant l'épidémie de 2002⁵. En Iran, ce taux était de 8% en 2005⁴. Au Mozambique, aucune souche résistante à la ciprofloxacine n'a été détectée⁶. Il en était de même au Sénégal⁷.

Le taux de bactérie multi-résistante (BMR)

était de 14,3% avec comme phénotype prédominant $AMC^RCHL^RSXT^R$ avec 33 souches suivi du phénotype $AMC^RCHL^RSXT^RTET^R$ avec 8 souches. A Madagascar, l'émergence de souche de *V. cholerae* multi-résistante a été signalée en 2000¹⁰.

CONCLUSION

La surveillance du niveau des bactéries aux antibiotiques est importante pour apprécier les tendances de la résistance bactérienne. Devant ces données, la question d'utiliser les antibiotiques dans les cas de choléra et la chimioprophylaxie systématique des personnes contacts reste posée. L'antibiothérapie utilisant

des molécules à bas niveau de résistance pourrait être préconisée dans les cas sévères en association avec la réhydratation parentérale qui constitue le traitement de base. La caractérisation génotypique des souches résistantes au sulfaméthoxazole-thriméthoprime permettra de mettre en évidence certains clones circulants.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- Adabi M, Bakhshi B, Goudarzi H, Zahraei SM, Pourshafie MR. Distribution of class 1 integron and sulfamethoxazole trimethoprim constin in *Vibrio cholerae* isolated from patients in Iran. *Microb Drug Resist*. 2009 ; 15(3) : 179-84.
- 2- Campos LC, Zahner V, Avelar KE, Alves RM, Pereira DS, Vital BJ, Freitas FS, Salles CA, Karaolis DK. Genetic diversity and antibiotic resistance of clinical and environmental *Vibrio Cholerae* suggests that many serogroups are reservoirs of resistance. *Epidemiol Infect*. 2004; 132(5):985-92.
- 3- Fournier JM. Choléra Encyclopédie Médicale Chirurgie (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses, 8-026-F-10, 1996, 5p.
- 4- Keremat F, Hashemi SH, Mamani M, Ranjbar M, Erfan H. Survey of antibiogram tests in cholera patients in the 2005 epidemic in Hamadan, Islamic of Iran. *East Mediterr Health J*, 2008 14(4): 768-75.
- 5- Krishna BV, Patil AB, Chandrasekhar MR. Fluoroquinolone-resistant *Vibrio cholerae* isolated during a cholera outbreak in India. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2006 100(3) : 224-6.
- 6- Mandomando I, Espasa M, Vallès X, Sacarlal J, Sigaube B, Ruiz J, Alonso P. Antimicrobial resistance of *Vibrio cholerae* O1 serotype Ogawa isolated in Manhica District Hospital, southern Mozambique. *J Antimicrobial Chemoter*. 2007 60(3) : 662-4.
- 7- Manga NM, Ndour CT, Diop SA, Dia NM, Kassal R, Diop BM, Sow AI, Sow PS. Cholera in Senegal from 2004 to 2006: lessons learned from successive outbreaks. *Med Trop*. 2008; 68(6): 589-92.
- 8- Mwansa JC, Mwaba J, Lukwesa C, Bhuiyan NA, Ansaruzzaman M, Ramamurthy T Alam M, Balabrish NG. Multiply antibiotic-resistant *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor strains emerge during cholera outbreaks in Zambia. *Epidemiol Infect*. 2007; 135(5): 847-53.
- 9- Opintan JA, Newman MJ, Nsiah-Poodoh OA, Okeke IN. *Vibrio cholerae* O1 from Accra, Ghana carrying a class 2 integron and the SXT element. *J Antimicrob Chemoter*. 2008;62(5):929-3..
- 10- Rakoto Alson AO, Dromigny JA, Pfister P, Mauclere P. *Vibrio cholerae* in Madagascar: study of a multiresistant strain. *Arch Inst Pasteur Madagascar*. 2001; 67(1-2):6-13.
- 11- Roychowdhury A, Pan A, Dutta D, Mukhopadhyay AK, Ramamurthy T, Nandy RK, Bhattacharya SK, Bhattacharya MK. Emergence of tetracycline-resistant *Vibrio cholerae* O1 serotype Inaba, in Kolkata, India. *Jpn J Infect Dis*. 2008; 61(2): 128-9.

- 12- Salwa FA, Momtaz OW, Morcos M, Pimentel G, Mubarak M, Materu SF, Ammar AA, Armstrong AW and Klena JD. Antimicrobial resistance and genotyping of *Vibrio cholerae* collected from outbreaks in East Africa, 2006-2007. *The Libyan Journal of Infectious Diseases* 2008 2 (1):.37-44.
- 13- Urassa WK, Mhando YB, Mhalu FS, Mjonga SJ. Antimicrobial susceptibility pattern of *Vibrio cholerae* O1 strains during two cholera outbreaks in Dar es Salaam, Tanzania. *East Afr Med J.* 2000; 77(7):350-3.