

ROLE DU LABORATOIRE DANS LA SURVEILLANCE DES BACTERIES MULTI-RESISTANTES D'ORIGINE INFECTIEUSES EN COTE D'IVOIRE DE 2007 A 2011.

OUATTARA N. DJÉNÉBA¹, BOBY BERNADETTE¹, GUESSENND NATHALIE, GUINAN J.C¹, MIREILLE DOSSO²

RESUME

RESUME

Les bactéries multirésistantes (BMR), par leur fréquence ou leurs conséquences thérapeutiques, tant à l'hôpital que dans la communauté, justifient une surveillance spécifique. Cette étude avait pour objectif de montrer l'organisation du Centre National de référence ORMICI dans la surveillance des bactéries multi résistantes dans un pays à ressources limitées. De 2007 à 2011, 5550 souches d'origine Humaine et 1098 souches d'origine animale et environnementale ont été reçues et analysées par l'ORMICI. L'analyse des fiches de renseignements, a montré que 58% des

souches étaient d'origine hospitalière et 20% de communautaire. Pour les Enterobacteries productrices de Bêta-lactamases à Spectre Elargi (EBLSE), les BMR les plus isolés, les taux qui sont passés à près de 20% en 2009 et 26,7 en 2010. Il devient également urgent de mettre en place un système d'alerte pour les bactéries multi-résistantes en milieu hospitalier notamment du fait du risque de diffusion de clones épidémiques de ces BMR dans la communauté.

Mots-clés : SURVEILLANCE, ENTEROBACTERIE, RÉSISTANCE, INFECTION NOSOCOMIALE,

ABSTRACT

Multi-drug resistant bacteria (MDR), by their frequency or their therapeutic implications, both in hospital and in the community, justify a specific surveillance. Show the organization of the National Reference Centre ORMICI in monitoring multi-resistant bacteria in a country with limited resources this study aimed. From 2007 to 2011, 5550 strains of Human origin and 1,098 strains of animal and environmental origin were received and analyzed by the NRC. Analysis sheets showed that 58

% of strains were hospital-based and 20% community. For Expanded Spectrum Beta-Lactamses (ESBL), the most isolated BMR, the rate rose to nearly 20 % in 2009 and 26.7 in 2010. . It also becomes urgent to develop an early warning system for multi-resistant bacteria in hospitals mainly because of the risk of spread of epidemic clones of the BMR in the community.

KEY-WORDS: SURVEY, ENTEROBACTERIACEAE, RESISTANCE, NOSOCOMIAL INFECTION

-
1. Département Epidémiologie Recherche Clinique, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
 2. Département de Bactériologie Virologie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

Correspondance : OUATTARA N'Gnoh Djeneba, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire
01 BP 490 Abidjan 01 Cel: (225) 01 49 10 90 / Email : ouattaragnoh@yahoo.fr

INTRODUCTION

Avec environ 17 millions de victimes chaque année, les maladies infectieuses demeurent, la principale cause de mortalité dans le monde. L'Afrique est de loin le continent qui paie le plus fort tribut, avec les deux tiers (2/3) de la charge de mortalité [Gangoué-Piéboji, et al, 2005].

La forte consommation d'antibiotiques en médecine humaine, animale et en agriculture, les mauvaises habitudes de prescription et l'automédication ont contribué à l'émergence de bactéries de plus en plus résistantes. Des problèmes tels que le manque de laboratoires, la prolifération des médicaments contrefaits, et l'absence de réglementation et de directives en la matière contribuent à renforcer le phénomène de résistance à ces produits. Ainsi, on assiste à la modification du profil de résistance d'espèces bactériennes des flores naturelles et à l'apparition d'infections à germes multi-résistants [Robert et al, 2006].

Les bactéries multirésistantes (BMR) qui cumulent de nombreuses résistances acquises posent des problèmes, particulièrement, leur diffusion épidémique, la circulation des patients ou animaux porteurs, leur mode de transmission et la menace de diffusion des gènes de résistance impliqués à d'autres espèces bactériennes [Freney Jet al, 2000]. Les bactéries multirésistantes, par leur fréquence ou leurs conséquences thérapeutiques, tant à l'hôpital que dans la communauté, justifient une surveillance spécifique chez l'homme à l'hôpital, dans la communauté, chez l'animal et dans

l'environnement. Cette surveillance permet d'aider à la prise de mesures de prévention de la diffusion des bactéries multirésistantes, de la politique d'antibiothérapie et d'apprécier l'impact des mesures de prévention [Ouattara N et al, 2013, A. Muller et al, 2006]. Cette surveillance est basée sur les indicateurs de prévalence dans l'espèce, mais aussi des indicateurs de fréquence (taux d'attaque, densité d'incidence...) et la caractérisation des cas (nosocomialité, modalité d'acquisition, circulation des patients et animaux porteurs...).

En Côte d'Ivoire, les laboratoires sont souvent inexistantes et mal équipés pour pouvoir réaliser les tests standards nécessaires à une identification sûre de la bactérie responsable de la maladie, ou établir la résistance d'une bactérie à des antibiotiques précis [Ouattara N et al, 2013]. Les souches doivent être envoyées au centre national de référence Observatoire des résistances des microorganismes aux anti infectieux en Côte d'Ivoire (CNR ORMICI) dont les activités visent à surveiller l'évolution de la résistance des bactéries de toutes origines (humaine, animale ou environnementale) responsables ou non d'infection, de déterminer l'expression phénotypique de cette résistance et de détecter les mécanismes de résistance connus ou non. Cette étude avait pour objectif de montrer l'organisation du Centre National de référence ORMICI dans la surveillance des bactéries multi résistantes dans un pays à ressources limitées.

MATERIEL ET METHODE

CADRE INSTITUTIONNEL

Le CNR de la résistance bactérienne aux antibiotiques est logé à l'Institut Pasteur sur le site d'Adiopodoumé. Le document officiel qui régit l'organisation et le fonctionnement de cette surveillance est l'arrêté interministériel N°393 du 21 juin 2006 désignant la liste des Centres Nationaux de Référence (CNR) à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire dans le

domaine des maladies transmissibles. Cet arrêté définit les missions de ces CNR, qui sont entre autres, la surveillance et veille microbiologique, l'expertise en microbiologie, l'alerte et les conseils.

Les outils

Le CNR a mis à disposition, l'expertise en microbiologie à travers l'élaboration d'outils et de guides. En effet un manuel

de procédures de l'antibiogramme, des fiches techniques pour la vulgarisation de la détection de la production de bêta-lactamases à spectre élargi et des fiches techniques pour la standardisation des tests de sensibilité à partir d'extraits de plantes ont ainsi été élaborés.

A travers le renforcement des capacités, un cours régional pour l'antibiogramme portant sur les «Techniques phénotypiques de la détermination de la résistance aux antibiotiques des bactéries» a été organisé.

LES FICHES ÉPIDÉMIOLOGIQUES

Les fiches épidémiologiques validées par l'ensemble des laboratoires concernés, accompagnent les souches bactériennes.

Les données sont recueillies à l'aide d'une fiche d'analyse bactériologique qui recense les données socio-démographiques, l'identité du germe, le service, le type de prélèvement, les résultats de l'antibiogramme et les diamètres d'inhibition si cela est disponible.

LES FICHES DE RÉCEPTION

Ces fiches notifient les conditions de transfert des souches, la date et l'heure de réception.

Un numéro d'anonymisation est systématiquement attribué à chaque échantillon. Et tous ces renseignements sont consignés dans un registre de réception.

LES FICHES DE NON-CONFORMITÉ

Une fiche de non-conformité est remplie selon les conformités à chaque étape des processus.

LES RAPPORTS D'ANALYSE

Les rapports d'analyse sont édités par le logiciel de lecture Adagio® après validation biologique des analyses. Ce rapport comporte donc les résultats cliniques de sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques, et le profil de résistance des souches. Deux types de rapport sont ainsi édités, un rapport clinicien et un deuxième biologique.

COLLECTE DES ÉCHANTILLONS

Le CNR ORMICI reçoit des souches de différents laboratoires d'analyse médicale

des centres hospitaliers universitaires et laboratoires privés d'Abidjan et des centres régionaux.

La surveillance des malades porteurs de SARM ou d'entérobactéries BLSE est réalisée à partir des prélèvements à visée diagnostique reçus au laboratoire dans le cadre des activités de routine (surveillance passive) éventuellement associés à des prélèvements de dépistage systématique (surveillance active).

COLLABORATIONS

Le CNR collabore avec les Centres et Instituts suivants :

Centres Hospitaliers Universitaires de Cocody et de Yopougon, Institut National de la Santé Publique (INSP), Institut National d'Hygiène Publique (INHP), Institut de Cardiologie d'Abidjan (ICA), Laboratoire National d'Appui au Développement Agricole (LANADA), Centre de Recherche Océanologique (CRO), Centre Ivoirien Anti-Pollution (CIAPOL), Réseau International des Instituts Pasteur et Instituts associés.

Le CNR participe à des réseaux nationaux (Centre Nationaux de Référence) et internationaux de surveillance de la résistance (Groupe d'étude de l'antibio-résistance dans le cadre du Réseau International des Instituts Pasteur).

TECHNIQUES UTILISÉES

Les renseignements de premier niveau sont collectés à partir de la fiches d'analyse accompagnant la souche. Ces renseignements permettent de préciser l'origine de la souches, son caractère nosocomial ou non.

Les méthodes classiques d'étude de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques ont été utilisées. Ce sont, la méthode de diffusion en milieu gélosé (Antibiogramme classique) et la détermination des concentrations minimales inhibitrices pour certains antibiotiques. Les résultats de l'antibiogramme ont été analysés afin d'établir les mécanismes de résistance mis en jeu par la souche étudiée. Ils sont modifiés en fonction des règles interprétatives de lecture. Ces règles sont établies par des comités d'experts tels que le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de

Microbiologie (CA-SFM/Comité Français) ou le National Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI/Comité Américain).

Le CNR utilise les normes françaises du CA-SFM pour l'interprétation de l'antibiogramme qui se fait à l'aide de l'automate de lecture ADAGIO® de Biorad.

En ce qui concerne l'étude moléculaire de la résistance, la méthode utilisée est l'amplification génique par PCR classique avec utilisation d'amorces spécifiques des gènes responsables de la résistance observée au plan phénotypique. Les agents infectieux concernés sont les entérobactéries, les non entérobactéries genre *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, et les cocci à Gram positive, genre *Staphylococcus*.

Les marqueurs de résistance étudiés sont les entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre étendu (EBLSE), *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la ceftazidime et *Acinetobacter* résistants à la ticarcilline et aux céphalosporines de 3^{ème} génération.

DONNÉES COLLECTÉES

Les données sont recueillies à l'aide d'une fiche d'analyse bactériologique qui recense les données socio-démographiques, traite-

ment antibiotique en cours, antécédents de gestes invasifs, types de prélèvement, germes identifiés, résultats de l'antibiogramme en diamètre et en concentrations minimales inhibitrices.

Une fois au laboratoire, un numéro de laboratoire est attribué à la souche dans le but d'une anonymisation et d'une sécurisation des données.

Les doublons ont été définis comme des souches de même espèce, isolées d'un même patient, quel que soit le prélèvement d'origine, quelles que soient les différences de sensibilité aux antibiotiques. Ainsi après l'élimination des doublons; à un patient correspondait une souche.

Analyse des données

Les données collectées ont été stockées, analysé de façon descriptive et l'interprétation des diamètres en souches sensibles, intermédiaires et résistantes a été faite à l'aide de l'automate de lecture ADAGIO® selon le Comité d'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA SFM) des années en cours.

RETRO INFORMATION

Elle se fait sous la forme de bilan annuel et sous la forme de publications scientifiques.

RESULTATS

De 2007 à 2011, 5550 souches d'origine Humaine et 1098 souches d'origine animale et environnementale ont été reçues et analysées par le CNR. Les souches provenaient essentiellement des centres hospitaliers universitaires d'Abidjan, des hôpitaux généraux et de laboratoires privés (voir figure 1) Leur répartition au cours des années est donnée au tableau I. L'analyse des fiches de renseignements, a montré que 58% des souches étaient d'origine hospitalière et 20% de communautaire ; Dans 22% des cas, l'absence de renseignements cliniques et démographiques n'ont pas permis de classer les souches.

Lorsque les fiches étaient renseignées, les services les plus demandeurs, toutes

provenances confondues, étaient les services cliniques avec 27,2%, la pédiatrie, néonatalogie avec 26,8% et les services les moins demandeurs étaient les services chirurgicaux avec 7,6%.

A l'analyse du tableau II, il ressort une prédominance des bacilles à Gram négatif genre entérobactérie et moins de 1% pour les cocci à Gram négatif. Cette répartition était la même au cours des années

La répartition des entérobactéries des groupes un, deux et trois est représentée par la figure 2.

On constate que certains marqueurs comme les BLSE peuvent atteindre des pics importants comme le montre le tableau III. Ces phénomènes peuvent être en rapport

avec des situations épidémiques en milieu hospitalier à investiguer. Cela pose l'importance de la détermination de l'alerte et des procédures d'investigation.

Les souches de *P. aeruginosa* et d'*Acinetobacter spp* ont montré un haut niveau de résistance à la ticarcilline avec ou sans adjonction de l'acide clavulanique de 2007 à 2011.

P. aeruginosa a montré un taux de 27,7% de résistance à la ceftazidime en 2009, 43,4% en 2010 et 43,9 en 2011. Par contre, pour les souches d'*Acinetobacter* testées, les résistances à la ceftazidime sont passées de 83% en 2007 à 100% en 2008, 81,5% en 2009 et 90,6% en 2010 les taux sont restés inchangés en 2011, avec 81.3%.

DISCUSSION

La surveillance de bactéries multi résistantes, nécessite la collecte d'informations de premier niveau et des renseignements cliniques pour une meilleure classification des souches et donc une meilleure prise de décision en cas d'émergence de ces souches.

Il est de mise à travers le monde de réaliser des dépistages systématiques de façon régulière dans les services identifiés comme pourvoyeurs de bactéries multi-résistantes tels que les soins intensifs et réanimation, les soins de suite, de réadaptation et les soins de longue durée [Anonyme].

Un renforcement des capacités des laboratoires de microbiologie de Côte d'Ivoire s'avère nécessaire pour améliorer les techniques de diagnostic et d'étude de la sensibilité aux antibiotiques. De plus, il serait important de formaliser la surveillance en réseau de laboratoires de Bactériologie dans la surveillance des infections à B.M.R.

Il faut également au niveau national, initier des réunions de consensus thérapeutique des maladies infectieuses, impliquant les laboratoires du Réseau de Bactériologie. Un appui des pharmaciens hospitaliers serait utile dans la lutte et la surveillance des bactéries multi-résistantes en surveillant la consommation des antibiotiques, et son impact sur l'évolution des résistances. L'apport d'informations complémentaires permet de faire un état des lieux des politiques d'utilisation des antibiotiques et pourrait concourir à une réflexion nationale sur les indicateurs permettant de caractériser la performance des politiques.

Au niveau du CNR ORMICI il serait utile de renforcer la surveillance à l'aide d'indica-

teurs plus pertinents tels que les indicateurs de prévalence dans l'espèce mais aussi des indicateurs de fréquence (taux d'attaque, densité d'incidence...) et la caractérisation des cas (souches nosocomiales, modalité d'acquisition, circulation des patients et animaux porteurs...).

En effet, des statistiques établies pour des situations cliniques (infections documentées) dont le contexte épidémiologique est précisé contribuent à définir les indications des antibiotiques et constituent des informations précieuses pour les cliniciens dans leurs activités de prescription, ainsi que les sociétés savantes et autorités sanitaires dans le cadre de l'établissement de recommandations nationales sur le bon usage des antibiotiques. Il s'agit de dégager des profils de probabilité d'activité des principaux antibiotiques non seulement pour chacune des espèces bactériennes impliquées dans la pathologie considérée (ex. sensibilité des entérobactéries isolées des bactériémies communautaires prises en charge à l'hôpital, toutes espèces confondues) [Vincent Jarlier et al, 2002, Romero-Vivas J et al, 1995]. Les indicateurs retenus pour la surveillance doivent permettre d'apprécier le niveau de transmission de la (des) BMR ciblée(s), et ainsi d'évaluer l'efficacité des actions préventives mises en place [Laurence MARTY et al, 1999].

Pour améliorer la surveillance, on pourrait décrire en plus un certain nombre d'indicateurs dont le nombre de nouveaux malades chez lesquels une BMR a été isolée d'au moins un prélèvement à visée diagnostique ou d'au moins un prélèvement de dépistage et réaliser des courbes annuelles

de cas cumulés, des courbes épidémiques pour un service ou pour l'ensemble d'un hôpital [Boyce JM et al, 1983, McGowan Jr et al 1983]. On pourrait également réaliser la distinction entre cas acquis et cas importés, définis en fonction du délai entre l'admission et le prélèvement positif et la notion d'un portage [Talon D et al, 2002, Wakefield DS, et al 1988]. Il est aussi important de

souligner l'importance de la mise en place de mesures organisationnelles (transmission de l'information entre services hospitaliers et le CNR en cas d'isolement d'une BMR et de transfert du patient d'un service à un autre) et d'hygiène (isolement technique des patients porteurs) pour limiter la diffusion de ces BMR dans les hôpitaux [Goldmann DA et al, 1996, Hiramatsu K, et al, 1997]

CONCLUSION

Ces résultats montrent qu'en Côte d'Ivoire, les BMR constituent un véritable problème de santé publique et appellent à des prises de décision relatives à la politique de l'antibiothérapie d'une manière générale et plus spécifiquement d'hygiène en milieu hospitalier. Ceci est lié à l'origine hospitalière de plus de la moitié des souches analysées. Pour les EBLSE, les BMR les plus isolés, les taux qui sont passés à près de 20%

en 2009 et 26,7 en 2010. Il devient donc urgent de développer des enquêtes en milieu communautaire afin de disposer des taux de résistance des bactéries en médecine de ville. Il devient également urgent de mettre en place un système d'alerte pour les bactéries multi-résistantes en milieu hospitalier notamment du fait du risque de diffusion de clones épidémiques de ces BMR dans la communauté.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1-Anonyme : Résistance aux antibiotiques et monde en développement-SciDev.Net <http://www.scidev.net/fr/middle-east-and-north-africa/features/r-sistanc>
- 2-A. Muller, I. Patry, D. Talon, C. Cornette, J.M. Lopez-Lozano, P. Plésiat, X. Bertrand, * Mise en place d'un outil informatisé de surveillance de la résistance bactérienne et de la consommation antibiotique dans un centre hospitalier universitaire. *Pathologie Biologie* 54 (2006) 112-117.
- 3-Boyce JM, White RL, Spruill Y. Impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on the incidence of nosocomial staphylococcal infections. *J Infect Dis* 1983;148:763-6.
- 15-Freney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C, 2000, *Precis de bactériologie clinique, ed ESKA, France 1692 pages*
- 4-Gangoué-Piéboji J, Bedenic B, Koulla-Shiro S, Randegger C, Adio D, Ngassam P, Ndumbé P, Hachler H, 2005, Extended-Spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Yaounde, Cameroon. *J. Clin. Microb.*, (43): 3273-3277.
- 5-Goldmann DA, Weinstein RA, Wenzel RP, Tablan OC, Duma RJ, Gaynes RP, et al. Strategies to prevent and control the emergence and spread of antimicrobial-resistant microorganisms in hospitals. A challenge to hospital leadership. *JAMA* 1996;275:234-40.
- 6-Hiramatsu K, Aritaka N, Hanaki H, Kawasaki S, Hosoda Y, Hori S. Dissemination in Japanese hospitals of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin *Lancet* 1997;350:1670-3.
- 7-Laurence MARTY, Vincent JARLIER. Surveillance des bactéries multirésistantes: justification, rôle du laboratoire, indicateurs, données françaises récentes. *Progrès en Urologie* (1999), 9, 41-49
- 8-McGowan Jr. JE. Antibiotic resistance in hospital organisms and its relation to antibiotic use. *Rev Infect Dis* 1983;5:1033-48.
- 9-Ouattara N'gnoh Djeneba, Guessennd Nathalie, Gbonon Valerie, Toe Evelyne, Dadie Thomas, Tiecoura Bertin Consommation des Antibiotiques dans la filière aviaire à Abidjan: Cas de quelques fermes semi-industrielles. *European Journal of Scientific Research* Vol. 94 No 1 January, (2013), pp.80-85

- 10-Robert J, 2006, Surveillance de la résistance. Dans : Patrice Courvalin, Roland Leclercq, Edouard Bingen eds. AntibioGramme, 2ème édition ; Paris : ESKA p95-108
- 11-Romero-Vivas J, Rubio M, Fernandez C, Picazo JJ. Mortality associated with nosocomial bacteremia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1995;21:1417-23.
- 12-Talon D, Woronoff-Lemsi MC, Limat S, Bertrand X, Chatillon M, Gil H, et al. The impact of resistance to methicillin in *Staphylococcus aureus* bacteremia on mortality. *Eur J Intern Med* 2002;13:31-6.
- 13-Vincent Jarlier, Yves Péan, Hubert Chardon. La surveillance de la résistance aux antibiotiques. Adsp 38 mars 2002.
- 14- Wakefield DS, Helms CM, Massanari RM, Mori M, Pfaller M. Cost of nosocomial infection : relative contributions of laboratory, antibiotic and per diem costs in serious *Staphylococcus aureus* infection. *Am J Infect Control* 1988;16:185-92.

Tableau I : Répartition des souches bactériennes selon l'année

Origine souches	2007	2008	2009	2010	2011	Total
humaines	981	954	1032	1354	1229	5550
Environnementales et animales	127	167	176	186	442	1098

Tableau II : Répartition des différents genres bactériens testés en 2007, 2008, 2009, 2010 et 2011

Type de bactérie	Nombre (%)				
	2007 (n=981)	2008 (n=954)	2009 (n=1032)	2010 (n=1354)	2011 (1229)
Bacilles à Gram négatif					
entérobactéries	540 (55,1)	585 (61,3)	606 (58,7)	728(53,8)	652(53,1)
Non entérobactéries	159 (16,2)	143 (14,9)	156 (15,1)	177(13,1)	301(24,5)
Cocci à Gram positif					
Staphylococcus spp	224 (22,8)	159 (16,7)	173 (16,8)	380(28,1)	231(18,8)
Streptococcus spp	52 (5,3)	54 (5,7)	84 (8,1)	57(4,2)	41 (3,3)
Cocci Gram négatif					
Neisseria meningitidis	4 (0,4)	1,3)	4 (0,4)	5(0,4)	2(0,2)
Neisseria gonorrhoeae	2 (0,2)	1(0,1)	0 (0,0)	7(0,5)	0 (0,0)

Tableau III : Evolution des entérobactéries productrices de bêta lactamases à spectre élargi et de Staphylococcus aureus méticilline résistantes

	2007	2008	2009	2010	2011
EBLSE	14,9	16,8	19,7	26,7	23,5
MRSA	20	28	27,2	18,6	12,7

Tableau IV : Taux de résistance d'Acinetobacter spp aux antibiotiques en 2007, 2008, 2009, 2010 et 2011

	I+R%				
	2007 (N=31)	2008 (N=30)	2009 (N=28)	2010 (N=24)	2011 (N=52)
Ticarcil-line	64,0	95,4	75,0	65,8	60,0
TCC	61,0	78,9	32,0	32,4	34,8
Ceftazidime	83,0	100,0	81,5	90,6	81,3

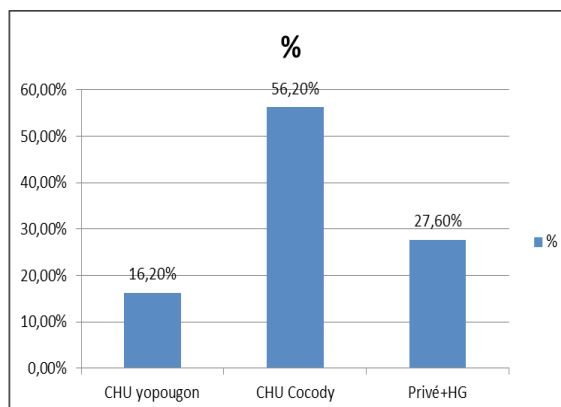


Figure1 : Répartition des souches selon leur provenance

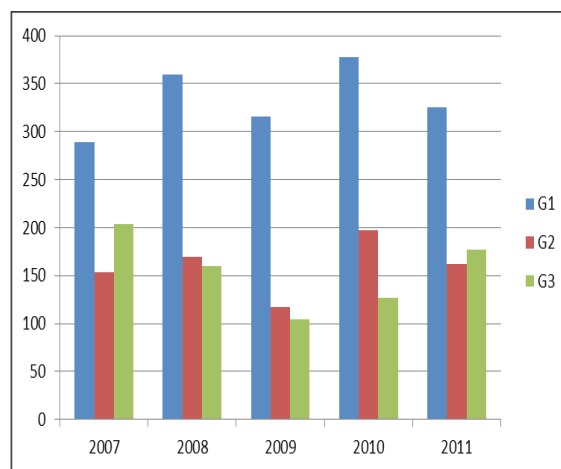


Figure 2 : Répartition des entérobactéries selon le groupe de 2007 à 2011