



Article Original

Phénotype de Résistance aux Antibiotiques des Souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* Isolées à Bamako

Antibiotic Resistance Phenotype of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae Strains Isolated in Bamako

Mohamed Ag Baraïka^{1,2}, Aboubacar A Goro¹, Aminata Maïga³, Youssouf Dembélé⁴, Mahamadou Abdou¹, Flabou Bougoudogo², Bourèma Kouriba^{1,5}

Affiliations

- Institut National de Santé Publique (INSP), Bamako-Mali
- Faculté de Pharmacie, USTTB Bamako-Mali
- Laboratoire de Biologie Médicales, CHU-Point G, Bamako-Mali
- Laboratoire PA&KA, Bamako-Mali
- Centre d'Infectiologie Charles Mérieux de Bamako-Mali

Auteur correspondant

Mohamed Ag Baraïka, Faculté de Pharmacie (FAPH), Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB), Point G, Bamako – Mali
Tel: +223 76 20 96 70

Email : moagba08@yahoo.fr

Mots clés : Phénotypes,

Résistances, *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*, Bamako

Key words: Phenotype,

Resistance, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, Bamako

RESUME

Introduction. La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. L'objectif de cette étude était de déterminer les phénotypes de résistances des souches *E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées de divers prélèvements pathologiques à Bamako. **Méthodologie.** Il s'est agi d'une étude prospective sur une période d'un an, portant sur les comptes rendus des demandes d'examens bactériologiques au laboratoire. Les méthodes standards de bactériologie ont été utilisées pour l'identification de nos souches sur la base des caractères morphologiques, biochimiques et culturaux. L'antibiogramme des souches isolées a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton avec des disques suivant les recommandations du CASFM/EUCAST. **Résultats.** Un total de 639 souches d'Entérobactéries, dont 449 souches de *E. coli* et 108 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées au laboratoire. Ces souches ont été isolées majoritairement des urines et des pus. L'antibiogramme réalisé sur les souches isolées des patients hospitalisées et non hospitalisées montre que l'ensemble de nos souches étudiées chez exprimaient des phénotypes variables évoluant dans le même sens pour les antibiotiques des différentes familles d'antibiotiques testées. Il a révélé une proportion de bactéries productrices de de Céphalosporinase haut niveau variant entre 33,3 % et 70,8 %. La résistance à tous les aminosides testés variait entre 30,3 % et 50,0 %. La résistance aux quinolones dite de haut niveau de résistance qui associe une altération concomitante sur le gène *gyrA* et le gène *parC* a été observée dans une proportion élevée des entérobactéries isolées. **Conclusion.** Cette étude montre un niveau élevé de résistances acquises aux différentes familles d'antibiotiques due à la production de certaines enzymes par nos souches bactériennes étudiées. Ces résistances soulignent la nécessité d'adapter les schémas thérapeutiques à l'épidémiologie locale.

ABSTRACT

Introduction. Antibiotic resistance is one of the most serious threats to global health today. The aim of this study was to determine the resistance phenotypes of *E. coli* and *K. pneumoniae* strains isolated from various pathological samples in Bamako. **Methodology.** This was a prospective study over a period of one year, based on reports of requests for bacteriological examinations in the laboratory. Standard bacteriological methods were used to identify our strains on the basis of morphological, biochemical and cultural characteristics. Antibiograms of the isolated strains were performed using the Mueller Hinton agar diffusion method with discs in accordance with CASFM/EUCAST recommendations. **Results.** A total of 639 strains of Enterobacteriaceae, including 449 strains of *E. coli* and 108 strains of *K. pneumoniae* were isolated in the laboratory. Most of these strains were isolated from urine and pus. The antibiogram performed on the strains isolated from hospitalised and non-hospitalised patients showed that all of our strains expressed variable phenotypes that evolved in the same direction for the different families of antibiotics tested. It revealed a proportion of high-level cephalosporinase-producing bacteria ranging from 33.3% to 70.8%. Resistance to all the aminoglycosides tested ranged from 30.3% to 50.0%. High-level resistance to quinolones, which combines a concomitant alteration in the *gyrA* gene and the *parC* gene, was observed in a high proportion of the enterobacteria isolated. **Conclusion.** This study shows a high level of acquired resistance to different families of antibiotics due to the production of certain enzymes by the bacterial strains studied. These resistances highlight the need to adapt treatment regimens to local epidemiology.

INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale. Le traitement devient plus difficile et parfois voire impossible du fait de la perte d'efficacité des antibiotiques sur les bactéries [1]. Il s'agit d'un problème de santé publique extrêmement préoccupant, qui touche de nombreux pays, bien que les souches multi-résistantes soient différentes d'un pays à l'autre [2]. Les entérobactéries constituent une vaste famille représentant les deux tiers des isoléments d'un laboratoire de bactériologie médicale [3]. Ces bactéries sont plus redoutables non seulement par la production de β lactamase mais aussi parce qu'elles pourraient posséder d'autres mécanismes de résistance aux antibiotiques [2, 4, 5]. La résistance de cette famille bactérienne aux antibiotiques a évolué en dent de scie au fil des années, faisant craindre une évolution vers une inactivité des antibiotiques aux souches multi-résistantes c'est-à-dire résistantes à plusieurs familles antibiotiques à la fois [6, 7]. Dans les pays industrialisés dits pays du Nord, cette problématique de la résistance des bactéries aux antibiotiques est mieux connue et évaluée. Elle reste moins connue dans les pays du Sud, particulièrement les pays d'Afrique subsaharienne [2, 8]. Cependant des études d'approche épidémiologique rapportent que les pays Africains ne sont pas en marge du phénomène de la résistance aux antibiotiques [9]. De cette revue de littérature il ressort le défi de peu de disponibilité de données publiées sur les phénotypes de résistance aux antibiotiques en Afrique subsaharienne notamment au Mali. Nous avons initié cette étude dans le but de contribuer à pallier à ce déficit des données sur les phénotypes de résistance des bactéries aux antibiotiques. L'objectif de cette étude était de déterminer les phénotypes de résistances des souches *E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées de divers prélèvements pathologiques à Bamako.

PATIENTS ET METHODES

Il s'agissait d'une étude prospective sur une période d'un an, portant sur les comptes rendus des demandes d'examens bactériologiques au laboratoire PA&KA. Le choix de ce laboratoire privé de Bamako a été motivé par le nombre conséquent de patients reçus par an pour des examens microbiologiques. Pendant cette période d'étude, 639 souches d'entérobactéries dont 449 souches de *E. coli* et 108 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées des divers prélèvements pathologiques à visée diagnostique chez les patients venus au laboratoire avec des demandes d'examens bactériologiques. Les méthodes standards de bactériologie ont été utilisées pour l'identification de nos souches sur la base des caractères morphologiques, biochimiques et culturels, à savoir l'aspect des colonies sur les différents milieux de culture, la coloration de Gram, et les résultats de la galerie API 20E. L'antibiogramme des souches isolées a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton [10] avec des disques suivant les recommandations du CASFM/EUCAST [11, 12]. Cette identification des souches bactériennes et l'étude de la sensibilité aux

antibiotiques ont été confirmées pour certaines souches sur le système VITEK®2 Compact Bio-Mérieux à l'aide des cartes d'antibiogramme (AST-N222 et AST-N233) et d'identification (GN). Parmi Les disques d'antibiotiques testés on notait pour les familles, des β lactamines, des aminosides et des fluoroquinolones.

RÉSULTATS

Un total de 639 souches d'Entérobactéries, dont 449 souches de *E. coli* et 108 souches de *K. pneumoniae* ont été isolées au laboratoire, ce qui représentait 87,1% de l'ensemble des souches d'Entérobactéries isolées pendant la période d'étude. Concernant la fréquence d'isolement des différentes souches bactériennes isolées, *E. coli* était la souche la plus retrouvée avec 449 souches soit 70,26% de l'ensemble des entérobactéries isolées suivi de *K. pneumoniae* avec 108 souches soit 16,90%.

Ces souches étaient isolées des urines, des pus, des selles, de prélèvements vaginaux, des expectorations, du sang et des liquides de ponction, provenaient majoritairement des urines et des pus (Figure 1). L'antibiogramme réalisé sur les souches isolées chez les patients non hospitalisés, pour la famille des β lactamines, la fréquence des souches sauvages était de 11,0% pour *E. coli* et 45,0% pour *K. pneumoniae*. Le céphalosporinase haut niveau était produite par plus de la moitié des souches de *E. coli* et un quart des souches de *K. pneumoniae*. Pour la pénicillinase haut niveau, elle était produite par 18,4% des souches de *E. coli* et 6,7% de souches de *K. pneumoniae*. En qui concerne les aminosides, le phénotype sauvage était à plus de 50% pour les deux souches bactériennes étudiées. Les souches exprimant les phénotypes KTG caractérisés par la résistance à tous les aminosides étaient retrouvés dans plus de 30% chez les deux souches. La résistance aux fluoroquinolones associant une altération concomitante sur le gène *gyrA* et le gène *parC* était retrouvée dans 63,5% chez les souches de *E. coli* et 41,7% pour les souches de *K. pneumoniae* (Tableau I).

Tableau I. Phénotype de résistance des souches bactériennes de *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* isolées chez les patients en milieu communautaire

Phénotypes de résistance aux différentes familles d'antibiotiques testées	<i>E. coli</i> N=255 (%)	<i>K. pneumoniae</i> N=60 (%)
Betalactamines		
Sauvage	28 (11,0)	27 (45,0)
Pase HN	47 (18,4)	4 (6,7)
Case HN	128 (50,2)	20 (33,3)
BLSE	15 (5,9)	1 (1,7)
Aminosides		
Sauvage	172 (67,4)	35 (58,3)
KT	7 (2,7)	0
KTG	82 (32,1)	18 (30,0)
Fluoroquinolones		
Sauvage	103 (40,4)	28 (46,7)
2gyrAparC	162 (63,5)	25 (41,7)

Pase : Pénicillinase ; Case : Céphalosporinase ; HN : Haut Niveau ; BLSE : Bêta-lactamase à Spectre Étendu ; KTG : Kanamicine-Tobramicine-Gentamicine ; 2gyrAparC : phénotype de 2 mutations du gène *gyrAparC*.

L'antibiogramme réalisé sur les souches isolées des patients hospitalisés, les phénotypes sauvages étaient

respectivement de 4,6%, 49,0% et 23,7% pour les betalactamines, les aminosides et les fluoroquinolones.

Tableau II. Phénotype de résistance des souches bactériennes de *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* isolées chez les patients en milieu hospitalier

Phénotype de résistance aux différentes familles d'antibiotiques testées	<i>E. coli</i> N=194(%)	<i>K. pneumoniae</i> N=48(%)
Betalactamines		
Sauvage	9 (4,6)	15 (31,2)
Pase HN	19 (9,8)	0
Case HN	110 (56,7)	34 (70,8)
BLSE	10 (5,15)	2 (4,7)
Aminosides		
Sauvage	95 (50,00)	29 (60,4)
KT	4 (2,1)	0
KTG	71 (36,6)	24 (50,0)
Fluoroquinolones		
Sauvage	46 (23,7)	21 (43,7)
2GyrAParC	135 (69,6)	33 (68,7)

Pase : Pénicillinase ; Case : Céphalosporinase ; HN : Haut Niveau ; BLSE : Bêta-lactamase à Spectre Etendu ; KTG : Kanamicine-Tobramicine-Gentamicine ; 2Gyr A Par C : phénotype de 2 mutations du gène gyrAparC.

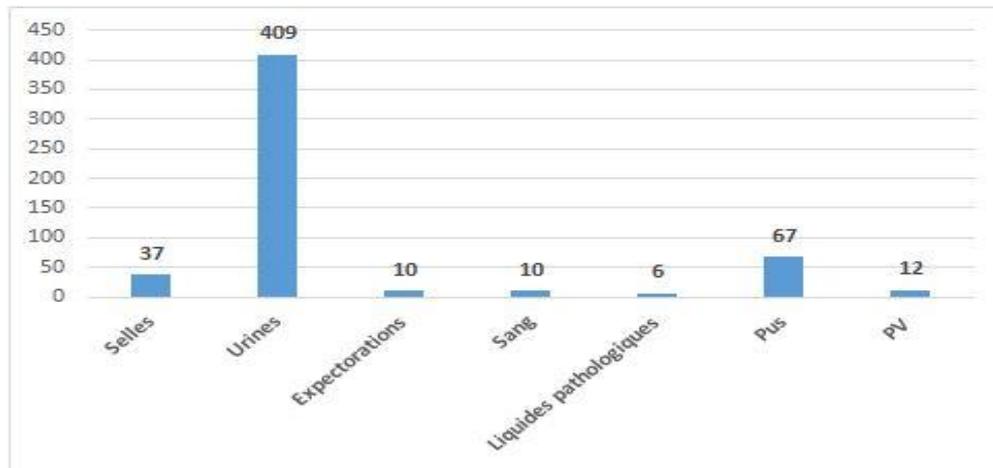


Figure 1. Répartition des produits pathologiques analysés pour l'isolement de *E. coli* et *K. pneumoniae*

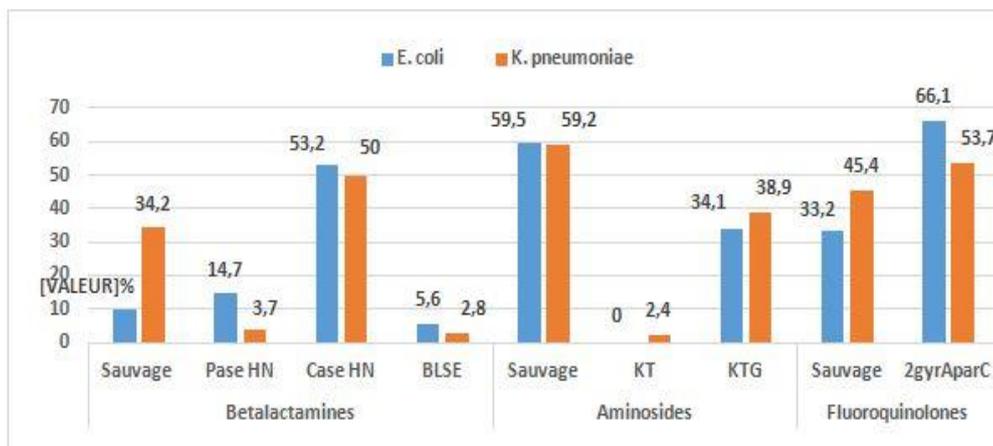


Figure 2. Phénotypes de résistance de l'ensemble des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* étudiées
 Pase : Pénicillinase ; Case : Céphalosporinase ; HN : Haut Niveau ; BLSE : Bêta-lactamase à Spectre Etendu ; KTG : Kanamicine-Tobramicine-Gentamicine ; 2Gyr A Par C : phénotype de 2 mutations du gène gyrA et parC.

Concernant les souches de *E. coli*, cependant pour les souches de *K. pneumoniae* nous retrouvons respectivement, 31,2%, 60,4% et 43,7% de phénotype sauvage pour les betalactamines, les aminosides et les

fluoroquinolones. Ce tableau montre que 5,1% et 4,1% des souches de *E. coli* et *K. pneumoniae* sont productrices de bêta-lactamase à spectre étendu. Pour la céphalosporinase haut niveau, nous notons plus de 50%

de souche de *E. coli* et de *K. pneumoniae* productrices de cette enzyme (Tableau II). L'analyse de ce tableau montre que l'ensemble des souches étudiées chez les patients hospitalisées et non hospitalisées exprimaient des phénotypes semblables évoluant dans le même sens pour les différentes familles d'antibiotiques (Figure 2).

DISCUSSION

La présente étude a mis évidence plusieurs phénotypes de résistance des souches de *E. coli* et de *K. pneumoniae* avec une prédominance de céphalosporinase haut niveau, de phénotype KTG et enfin de phénotype 2gyrAparC respectivement pour les bêta-lactamines, les aminosides et les fluoroquinolone. Elle montre que de l'ensemble des souches de la famille des Entérobactéries isolées au laboratoire, *E. coli* était la souche la plus isolée suivie de *K. pneumoniae* avec respectivement 70,3 % et 16,9 %. Ces souches étaient majoritairement isolées des urines et des pus et provenaient des patients hospitalisés et des patients non hospitalisés vivant en communauté. Pour la famille des bêta-lactamines, les phénotypes sauvages exprimés par l'ensemble de nos souches étudiées étaient respectivement de 9,6 % et 34,2 % pour *E. coli* et *K. pneumoniae*. Ces souches exprimaient un phénotype de pénicillinase haut niveau de l'ordre de 14,7 % et 3,7 %, ces taux sont inférieurs à ceux rapportés à Madagascar qui était de 50% pour *E. coli* [13]. Ce phénotype exprime un haut niveau de résistance aux oxapénames concernant l'association de l'amoxicilline et acide clavulanique et ce haut niveau de résistance pourrait s'expliquer par une baisse de l'activité de l'inhibiteur des bêta-lactamines résultant d'une hyperproduction de pénicillinase ou de l'activation de l'inhibiteur lui-même [13]. Cependant ces deux souches étaient respectivement productrices de céphalosporinase haut niveau de l'ordre de 53,2% et 50% respectivement pour *E. coli* et *K. pneumoniae*. D'une manière générale, nos valeurs sont supérieures en ce qui concerne le phénotype sauvage et le phénotype céphalosporinase haut niveau par rapport à celles rapportées par Gonsu Kanga et al en 2014 à Yaoundé dans une étude portant sur le phénotype de résistance des souches d'*E. coli* responsables d'infections urinaires [14]. En regroupant l'ensemble de nos souches en deux groupes à savoir les souches isolées en milieu ambulatoire et les souches isolées en milieu hospitalier, nous faisons le même constat en ce qui concerne vos valeurs pour nos souches isolées chez les patients en milieu ambulatoire, par contre pour nos souches isolées en milieu hospitalier nos résultats sont superposables à ceux rapportés par Gonsu Kanga et al en 2014 à Yaoundé [14]. Pour la recherche des bactéries productrices de BLSE, il ressort de notre étude que de l'ensemble de nos souches étudiées, les taux des souches productrices de BLSE dans notre échantillonnage sont inférieures à celles rapportées par certains auteurs en Afrique [13, 14] qui ont trouvés respectivement 12,7% et 22,5 % à Yaoundé en 2014 et à Antananarivo en 2017. En considérant les souches isolées en milieu ambulatoire ou celles isolées en milieu hospitalier, nous observons le même constat que pour l'ensemble de nos souches qu'il s'agit de *E. coli* ou de *K. pneumoniae*. Les taux pour les souches de *K. pneumoniae*

productrices de BLSE sont inférieurs à celui rapporté par Arafa et al en 2009 à Constantine en Algérie qui ont mené une étude sur la caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *K. pneumoniae* subsp *pneumoniae* dans un hôpital universitaire [15]. En ce qui concerne la famille des aminosides, l'ensemble de nos souches isolées, qu'il soit regroupé en deux groupes ou pas, le phénotype sauvage exprimé par nos souches était au-delà de 50 %. Ces taux étaient superposables celui rapportés dans la littérature par certains auteurs [13, 14]. Pour les autres phénotypes de la famille des aminosides nous avons retrouvés le phénotype KTG chez 34,1 % de l'ensemble des souches de *E. coli* et 38,9 % de celles de *K. pneumoniae*. Pour nos souches isolées en milieu hospitalier, nous retrouvons des taux de bactéries exprimant le phénotype KTG supérieurs à 30 %. Cependant pour les souches isolées en milieu communautaire nous observons des taux de l'ordre de 32,1% pour *E. coli* et 30 % pour *K. pneumoniae*. Ces valeurs sont supérieures à celles rapportés par certains auteurs au Cameroun à Yaoundé en 2014 et Madagascar en 2017 [13, 14]. Ce phénotype KTG appelé phénotype d'imperméabilité traduisant la résistance à tous les aminosides et pourrait être expliqué par utilisation de certaines molécules de cette famille des aminosides au cours des traitements probabilistes de nombreuses infections en milieu communautaire et hospitalier, cela pourrait expliquer ces taux élevés de phénotype KTG exprimé par nos souches bactériennes étudiées. Concernant les phénotypes des aminosides exprimés par nos souches, le mécanisme pourrait relever essentiellement de l'acquisition d'enzymes modifiantes. Ces enzymes appartiennent à trois classes correspondant à des activités de phosphorylation, acétylation nucléotidylation [16]. En effet, pour les molécules des fluoroquinolones testées nous avons observés des phénotypes sauvages de l'ordre de 33,2% pour les souches de *E. coli* et de 38,9% pour les souches de *K. pneumoniae*. Ces résultats sont en dessous de ceux rapportés par Zafindraso Domoina et al en 2017 à Madagascar dans une étude sur les phénotypes de résistance des souches de *E. coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire de CHU de Befelatanana Antananarivo [14]. Cependant pour une résistance de haut niveau qui associe une altération concomitante sur les 2gènes *gyrA* et le gène *parC* qui est chromosomique, nous avons rapportée des taux de 66,1% et 53,7% successivement pour l'ensemble des souches de *E. coli* et celles de *K. pneumoniae*. Nos taux sont supérieurs à ceux rapportés par des auteurs à travers l'Afrique [13, 14]. Cependant, des études rapportent des résistances élevées des entérobactéries aux quinolones (Acide Nalidixique, Ciprofloxacine, Norfloxacine).

CONCLUSION

Cette étude a révélé un niveau de diffusion de la résistance aux antibiotiques dans la communauté et en milieu hospitalier des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae*. Elle souligne un niveau élevé de résistances acquises aux différentes familles d'antibiotiques due à la production de certaines enzymes

par nos souches bactériennes étudiées. Ces résistances révèle la nécessité d'adapter les schémas thérapeutiques à l'épidémiologie locale.

Conflit d'intérêt

Aucun

RÉFÉRENCES

- 1- WHO. Résistance aux antibiotiques. WHO. 2018 cité Décembre 2019. Google Scholar
- 2- Philippon A., et G. Arlet G. « Bêta-Lactamases de Bacille à Gram négatif / le mouvement perpétuel. » Annales de biologie clinique 2006, 64:37-51.
- 3- Brun-Buisson C., Philippon A., Ansquer M., Legrand P., Montravers F., et Duval J. Transferable enzymatic resistance to third-generation Cephalosporin during nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae* ». The Lancet 1987, 330(8554):302-6. doi: 10.1016/S0140-6736(87)90891-9.
- 4- Ben H. A., Sahnoun O., Ben Romdhane F., Loussaief C., Noomen S., et Bouzouaia N. Profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries uropathogènes isolées dans la région de Monastir. Rev Tun Infectiol 2008, 2(2):5-8.
- 5- Carattoli A. 2009. Resistance Plasmid Families in Enterobacteriaceae. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 53(6):2227-38. doi: 10.1128/aac.01707-08.
- 6- Fauchère, J. L. Bactériofiches: Techniques en bactériologie clinique. Paris 1997: Ellipse.
- 7- Ouedraogo, A. S., Jean Pierre A., Bañuls L. A., Ouédraogo R., et Godreuil S. Emergence and spread of antibiotic resistance in West Africa: contributing factors and threat assessment ». Médecine et Santé Tropicales 2017, 27(2):147-54. doi: 10.1684/mst.2017.0678.
- 8- Cohen, R., Bingen E., Grimprel E., Raymond J., et Gendrel D. 2011. « Résistance aux antibiotiques: un nouveau tournant à ne pas manquer ». Archives de pédiatrie 4(18):359-61. doi: 10.1016/j.arcped.2011.01.023.
- 9- Bekhti H., et Belhadi F. Z. « Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques au niveau de CH Tlemcen et l'EHS mère enfant entre 2016 et 2018 ». Thèse : Pharmacie, 2019, Université Abou Bekr Belkaïd, Algérie.
- 10- Bauer A., Kirby W., Sherris J. C., Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966; 45:493.
- 11- CASFM/EUCAST. Recommandations 2023 V.1.0 Juin. CSFM. 2020. Cité le 27 déc. 2023. PubMed | Google Scholar.
- 12- EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.1, 2023. <http://www.eucast.org>. Cité le 27 déc 2023.
- 13- Gonsu Kamga H, Nzenpang R, Toukam M, Sando Z and Koulla Shiro. Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaoundé Cameroun. African Journal of Pathology and Microbiology, 2014, Vol. 3, 1-4. Article ID235891, 4pages.
- 14- Zafindrasoa Domoina Rakotovao-Ravahatra, Fidiniaina Mamy Randriatsarafara, Saïda Rasoanandrasana, Léa Raverohanta, Andriamiadana Luc Rakotovao. Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. Pan African Medical Journal. 2017;26:166. doi:10.11604/pamj.
- 15- Refoo Arafa N, Smati F., Scheftel JM., Meunier O. Caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae* subsp *pneumoniae* isolées a l'hôpital Universitaire de Constantine, Algérie. Sciences & Technologie C - N° 30 Décembre (2009), pp 43-49.
- 16- Nguyen JC, Lambert T. Interprétation phénotypique de l'antibiogramme vis-à-vis des aminosides. RFL. 2012; 2012(445):75-7. Google Scholar