

Article original

Incidence d'infections liées à *Escherichia coli* producteur de bêta lactamase à spectre élargi au Centre hospitalier départemental du Zou et Collines au Bénin

Incidence of infections dues to *Escherichia coli* strains producing extended spectrum betalactamase, in the Zou/Collines Hospital Centre (CHDZ/C) in Benin

A.T. Ahoyo^a, L. Baba-Moussa^{a,*}, A.E. Anago^b, P. Avogbe^a, T.D. Missihoun^a, F. Loko^b,
G. Prévost^c, A. Sanni^a, K. Dramane^a

^a Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, faculté des sciences et techniques, université d'Abomey-Calavi, 04BP0320 Cotonou, Bénin

^b Laboratoire de biochimie, école polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC/UAC), BP 2009, Cotonou, Bénin

^c UPRES EA-3432, institut de bactériologie, faculté de médecine, université Louis-Pasteur, hôpitaux universitaires de Strasbourg, 3, rue Koeberlé, 67000 Strasbourg, France

Reçu le 17 novembre 2006 ; accepté le 6 mars 2007

Disponible sur internet le 16 avril 2007

Résumé

Objectif. – Déterminer l'incidence des souches de *Escherichia coli* (EC) productrices de bêta lactamase à spectre élargi (BLSE) dans les services du Centre hospitalier départemental du Zou/Collines (CHDZ/C).

Matériel et méthodes. – L'étude a été réalisée pendant six mois. Les prélèvements ont été collectés auprès des patients hospitalisés depuis plus de 48 heures et dans l'environnement de l'hôpital. Les souches d'EC ont été identifiées suivant les critères bactériologiques classiques. Un antibiogramme a été réalisé sur les souches isolées par la méthode de diffusion des disques. La production de BLSE chez les souches a été détectée par la technique du double halo d'inhibition et confirmée pour la présence des gènes *blaTEM* et *blaSHV* par l'amplification génique.

Résultats. – Cent quatre-vingt-dix-sept souches d'entérobactéries ont été isolées chez 342 patients dont 143 EC. Parmi elles, 32, soit 22 % étaient des ECBLSE. Quatre-vingt-dix-neuf souches d'entérobactéries ont été également isolées de l'environnement de l'hôpital dont 46 EC, dont sept (15 %) ECBLSE. Les gènes *blaTEM* et *blaSHV* ont été identifiés chez les souches provenant des patients et chez celles provenant de l'environnement. Excepté pour l'imipénème, les souches productrices de BLSE isolées présentaient une plus grande résistance aux autres antibiotiques, notamment les C3G, que celles non productrices ($p < 0,00001$).

Conclusion. – Cette étude a révélé la présence des gènes codant pour les BLSE au sein des souches d'EC isolées au CHDZ/C. Elle prouve le besoin de promouvoir un programme de prévention des infections avec une régulation de l'antibiothérapie dans les hôpitaux du Bénin.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Objectives. – Over a 6-month period, extended-spectrum betalactamase (ESBL)-producing isolates of *Escherichia coli* (EC) were collected from in-patients and their environment at the Zou-Collines Hospital Centre (CHDZ/C) in Benin. The aim of this study was to determine the incidence of ESBL and to describe their phenotypic susceptibility to antibiotics in a secondary hospital (500 beds) in Benin.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : laminesaid@yahoo.fr (L. Baba-Moussa).

Methods. – From 15 May to 15 November 2005, clinical informations and samples were collected from patients suspected to have nosocomial infections. The isolates were identified, tested for antimicrobial susceptibility and analysed for the presence of ESBL genes *blaTEM* and *blaSHV* by PCR.

Results. – One hundred ninety-seven enterobacteria were isolated from the clinical samples of 342 patients, these isolates included 143 *EC* and 32/143 (22%) of these isolates produced ESBL. Forty-six *EC* were isolated from the environment and 7 (15%) of them produced ESBL. Except for Imipenem for which the difference was not significant, the isolates producing ESBL were more resistant to the other antibiotics (especially to third generation cephalosporins: Ceftriaxone, Cefotaxime, Ceftazidime ($P < 0.00001$)) than non-ESBL producing isolates. Both ESBL genes *blaSHV* and *blaTEM* were identified in the *EC* ESBL strains from patient and from the environment.

Conclusion. – This study shows the presence of ESBL genes among *EC* in various wards of the CHDZ/C hospital proving that there is a need to implement a strict hospital infection control program and a regular surveillance of resistance to antimicrobial agents.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Bêtalactamase à spectre élargi ; *Escherichia coli*

Keywords: Extended-spectrum betalactamase; *Escherichia coli*

1. Introduction

Escherichia coli (*EC*) est une entérobactérie retrouvée en abondance dans la flore commensale humaine, en particulier dans le tube digestif de l'homme qu'elle colonise dès les premières heures de la naissance. Elle constitue l'espèce dominante de la flore aérobie anaérotolérante [1]. L'emploi intensif des antimicrobiens a entraîné la sélection de souches multirésistantes particulièrement celles qui résistent aux bêtalactamines et qui sont isolées des infections urinaires et pulmonaires, des pus, des septicémies, avec une fréquence croissante en milieu hospitalier [2]. Avec l'apparition des bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) dans les années 1980 et leur large diffusion de par le monde [3,4], les souches d'*EC* qui la produisent (*ECBLSE*) sont devenues particulièrement importantes en raison de la haute probabilité d'échec lors de l'utilisation empirique d'antibiotiques en l'absence d'antibiogramme. Les infections causées par les souches productrices de BLSE sont associées à une morbidité et une mortalité élevées, à une prolongation de la durée de l'hospitalisation et à une augmentation des coûts d'hospitalisation [5,6]. Aujourd'hui, de nombreuses épidémies hospitalières dues à des entérobactéries productrices de BLSE appartenant souvent, mais non exclusivement à l'espèce *EC* ont été rapportées [7,8]. Les surfaces ainsi que les objets se trouvant dans l'environnement immédiat du patient ont été montrés comme pouvant être contaminés par des bactéries productrices de BLSE [9].

En mars 2005, le programme de contrôle des infections nosocomiales du Centre hospitalier départemental du Zou et Collines (CHDZ/C) a identifié une série d'infections interreliées et causées par *EC* multirésistant aux antibiotiques. La résistance élargie aux céphalosporines de troisième génération dans la famille des entérobactéries a communément été associée à l'expression des BLSE codées par les gènes *blaTEM* et *blaSHV* [10,11] qui ont diffusé à travers les établissements de soins de tous les continents [12]. Des études menées dans certains pays africains confirment la présence des clones de ces BLSE. [13,14].

Le but du présent travail est de déterminer le nombre et l'incidence des souches d'*EC* productrices de BLSE et portant les gènes *blaTEM* et *blaSHV* chez les patients hospitalisés et dans leur environnement au CHDZ/C.

2. Patients et méthodes

2.1. Enquête clinique

Le Centre hospitalier départemental du Zou et des Collines (CHDZ/C) est un hôpital de niveau intermédiaire dans le système sanitaire du Bénin ; il a une capacité d'accueil d'environ 500 lits et reçoit annuellement près de 20 000 patients hospitalisés. Durant une période de six mois allant du 15 mai au 15 novembre 2005, nous avons recueilli de manière prospective des informations cliniques et collecté des prélèvements à visée diagnostique chez les patients hospitalisés. Les patients du service de pédiatrie (150 lits) et ceux de l'hospitalisation ambulatoire ont été exclus de cette étude.

Était inclus dans l'étude, tout patient hospitalisé pendant au moins 48 heures, dans un service participant à l'enquête et chez lequel une souche de *ECBLSE* a été isolée à partir d'un prélèvement à visée diagnostique. Les prélèvements de dépistage ont été exclus. Les dates d'hospitalisation et des prélèvements constituaient les marqueurs d'inclusion dans l'étude. Les dénominateurs suivants ont été collectés sur la base des données administratives : le nombre d'admissions à l'hôpital, le nombre total de journées d'hospitalisation.

Des prélèvements relevant de l'environnement (les surfaces du bloc opératoire, blouses et mains du personnel soignant, dossier du malade, draps, clenche de porte, table d'examen, stéthoscope, brosse de lavage des mains, chariot de soin, monitor d'électrocardiogramme, sanitaire, interrupteur) ont été effectués chaque mois pour la recherche de *ECBLSE*.

2.1.1. Analyses microbiologiques

Tous les prélèvements, quelles que soient leurs origines, ont été traités dans un but diagnostique. *EC* a été isolé des différents prélèvements sur le milieu Rapid 'E. coli AgarTM (Biorad Marnes la coquette France). La confirmation des souches isolées a été réalisée par la galerie biochimique classique.

Les prélèvements environnementaux ont été faits au moyen d'un écouvillon stérile humidifié avec de l'eau physiologique stérile. Après écouvillonnage, le milieu est immédiatement plongé dans un tube contenant le bouillon nutritif TSB (trypticase soya broth Bio Mérieux) et déposés à l'étuve à 37 °C. Le

milieu Lethen broth (Difco) a remplacé le bouillon TSB pour les surfaces désinfectées avant le prélèvement. Lorsqu'une croissance est notée le milieu Rapid TM E coli Agar a été ensemencé pour l'isolement d'*EC*.

2.1.2. Sensibilité des souches aux antibiotiques

Un antibiogramme a été réalisé pour chaque souche isolée par la méthode de diffusion à partir de disques chargés sur gélose de Muller Hinton (Diagnostics Pasteur, Marnes la Coquette, France) selon les recommandations du NCCLS [15]. Les antibiotiques testés sont : amoxicilline, amoxicilline-clavulanate (20/10 µg), pipéracilline (30 µg), céfazoline (30 µg), céfoxitine (30 µg), céfotaxime (30 µg), ceftazidime (30 µg), ceftriaxone (30 µg), aztréonam (30 µg), imipénème (10 µg), gentamicine (10 µg), ciprofloxacine (5 µg), triméthoprim-sulfaméthoxazole (1,25/23,75 µg), et acide nalidixique. La souche d'*EC* ATCC 25922 a servi de souche témoin pour le contrôle de qualité.

2.1.3. Détection de la bêta-lactamase à spectre élargi

Toutes les souches ont été testées pour la production de la bêta-lactamase à spectre élargi en utilisant la méthode du double halo précédemment décrite par Jarlier et al. [16] et Thomson et al. [17]. Le résultat d'un test positif se traduit par une potentialisation de la zone d'inhibition autour des disques de céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, ou aztréonam en présence de l'acide clavulanique.

2.1.4. Recherche des gènes blaTEM et blaSHV par la PCR

Les souches d'*EC* identifiées comme productrices de BLSE par la méthode du double disque ont été examinées par la PCR classique pour la présence des gènes *blaTEM* et *blaSHV*. L'ADN a été extrait des souches d'*EC* à partir d'une culture fraîche en bouillon nutritif par la technique classique du TEK-phénol chloroforme alcool isoamylique, précipité avec de l'isopropanol lavé avec de l'éthanol à 70 %, et suspendu dans du tampon Tris-EDTA [18]. Les séquences des amorces utilisées pour l'amplification sont les suivantes : pour le gène *blaTEM* : A (5'-GTATCCGCTCATGAGACAATA-3'), et reverse, B(5'-TCT AAA GTA TAT ATG AGT AAA CTT GGT CTG-3') pour le *blaSHV* SHV-F (5'-CGC CGG GTT ATT CTT ATT TGT CGC-3') et SHV-R (5'-TCT TTC CGA TGC CGC CGC CAG TCA-3'), générant un fragment de 947 paires de bases pour le gène *blaTEM* et 1017 paires de bases pour le gène *blaSHV*[19]. L'ADN a été amplifié dans un volume final de 50 µl contenant 25 pmoles de chaque amorce, 50 ng d'ADN, 1,5 mM MgCl₂, 200 µM de dNTP, 1 × tampon de réaction PCR et cinq unités de la Taq ADN polymérase (DyNAzyme EXT DNA polymerase). Les conditions de PCR consistent en une étape initiale de dénaturation à 95 °C pendant 30 secondes suivie de 30 cycles d'amplification comprenant chacun une étape d'hybridation à 60 °C (TEM) et 68 °C (SHV) pendant 30 secondes, une étape d'élongation à 72 °C pendant une minute, puis une étape d'extension finale à 72 °C pendant trois minutes. Les produits de la PCR ont été séparés par électropho-

rèse dans un gel d'agarose à 1,2 % (poids/volume) contenant du bromure d'éthidium et les bandes ont été révélées sous UV.

2.2. Méthode de comparaison statistique

Les données ont été encodées et analysées avec le Logiciel SPSS version 10.1. Les différentes proportions ont été comparées par le test exact de Fischer au seuil de signification de 0,05.

3. Résultats

3.1. Fréquence

En six mois, sur 923 patients hospitalisés plus de 48 heures, 572 ont eu un prélèvement à visée diagnostique adressé au laboratoire de microbiologie ce qui représente 62 % du total des patients hospitalisés dans les services de chirurgie générale, de médecine et de gynéco-obstétrique qui ont participé à cette étude. Parmi les 572 patients prélevés et analysés, 342 patients ont eu une infection bactérienne dont 58 % (197/342) sont liées à une entérobactérie (Tableau 1). Les souches d'*EC* représentent 72 % (143/197) de ces entérobactéries et ont été isolées pour la majorité dans les urines environ 65 % (93/143) (Tableau 2). L'incidence de tous les nouveaux cas de patients porteurs de ECBLSE est de 3,5 % et la proportion des souches ECBLSE au sein des souches d'*EC* est de 22 % (32/143) (Tableau 1).

En outre, 420 prélèvements environnementaux ont été analysés pour la recherche des souches d'*EC*. Seulement 11 % (46/420) de ces prélèvements sont positifs à *EC* dont 15 % (7/46) sont des ECBLSE (Tableau 1). Le Tableau 3 montre la répartition de ces souches en fonction des lieux de prélèvement. On peut remarquer que les sanitaires présentent le taux le plus élevé de contamination à *EC* 47 % (8/17).

3.2. Caractéristiques des patients

L'âge des 32 patients porteurs d'une souche de ECBLSE varie de 18 à 75 ans avec une classe modale de (20–49 ans) qui comporte 24 patients soit un pourcentage de 75 %. Dix-huit des patients, soit 56 %, sont de sexe féminin. La majorité des patients (20 sur 32) étaient hospitalisés dans le service de chirurgie. La durée d'hospitalisation varie de 4 à 14 jours pour dix des patients et de plus de 15 pour les autres. Au moment de l'isolement de la première souche de ECBLSE, 19 des patients soit 59 % étaient transférés d'un autre centre de santé, pendant que trois patients soit environ 10 % sont arrivés directement de leur domicile et le reste, dix patients sont des accidentés de la voie publique.

Avant leur admission au CHD/ZC tous les patients ont reçu un traitement irrégulier d'antibiotique, soit par automédication 21 (65 %) patients, soit sur prescription médicale 11 (35 %) patients. Au cours de la présente hospitalisation, le premier traitement d'antibiothérapie n'est précédé d'aucun

Tableau 1
Fréquence d'isolement de *Escherichia coli* durant la période d'étude
Table 1
Frequency of identification of *Escherichia coli* during the study period

Type de prélèvement	Fréquence des infections bactériennes nosocomiales (%)	Pourcentage de culture positive aux entérobactéries	Pourcentage de cultures positives à <i>EC</i>	Pourcentage d' <i>EC</i> au sein des entérobactéries isolées	Pourcentage d' <i>EC</i> BLSE dans <i>EC</i>	Incidence des <i>EC</i> BLSE pour 100 admissions
Prélèvements à visée diagnostique (<i>n</i> = 572)	60 (342/572)	57,7 (197/342)	42 (143/342)	72,5 (143/197)	22 (32/143)	3,5 (32/923)
Prélèvements environnementaux (<i>n</i> = 420)	–	23,5 (99/420)	11 (46/420)	46 (46/99)	15 (7/46)	–
Total		39 (296/762)	25 (189/742)	64 (189/296)	21 (39/189)	

Tableau 2
Fréquences d'isolement de *Escherichia coli* par nature de prélèvements
Table 2
Frequency of identification of *Escherichia coli* according to the nature of samples

Nature du prélèvement	Pourcentage d' <i>EC</i>	Pourcentage d' <i>EC</i> BLSE
Urines	65 (93/143)	22,6 (21/93)
Plaies opératoires	22 (31/143)	16 (5/31)
Sang	1,4 (2/143)	50 (1/2)
Secrétions respiratoires	4 (6/143)	33 (2/6)
Secrétions vaginales	7,6 (11/143)	27 (3/11)
Total	143	22 (32/143)

Tableau 3
Distribution des souches d'*EC* isolées dans l'environnement hospitalier en fonction des sites de prélèvements au CHDZ/C

Table 3
Distribution of *EC* strains identified in the hospital environment according to sites of sampling at the CHDZ/C

Lieux de prélèvements	Prélèvements totaux	Prélèvements positifs	
		<i>Escherichia coli</i>	<i>EC</i> BLSE
Mains du personnel	121	2	0
Blouses du personnel	62	4	0
Chariots de soin	52	5	0
Stéthoscopes	4	0	0
Brosses de lavage des mains	45	12	2
Tables d'examen	25	4	1
Sanitaires	17	8	2
Interrupteurs	8	2	1
Dossiers des patients	60	6	1
Clenches de porte	26	3	0
Total	420	46	7

examen de laboratoire et c'est souvent son échec qui conduit le médecin à prescrire des examens microbiologiques.

Les diagnostics d'hospitalisation posés ont été les suivants par ordre de fréquence décroissante: les interventions chirurgicales diverses 38 %, les accidents graves de la voie publique 16 % ; l'hypertension artérielle 14 %, les cardiopathies 12 %, les pathologies hépatiques 10 %, les pneumopathies 10 %.

3.3. Sensibilité aux antibiotiques des souches isolées

Dans l'ensemble, les antibiotypes montrent une grande hétérogénéité des souches isolées (Tableau 4). La résistance la plus faible a été observée pour l'imipénème aussi bien pour les souches *EC*BLSE (5 %) que pour les souches *EC* non

Tableau 4
Sensibilité des 189 souches de *Escherichia coli* aux antibiotiques par la méthode des disques

Table 4
Susceptibility of the 189 *Escherichia coli* strains to various antibiotics using the diffusion disk test

Antibiotiques	Pourcentage de résistance des souches de <i>EC</i> BLSE (N=39)	Pourcentage de résistance des souches de <i>EC</i> non BLSE (N=150)	<i>p</i> value ^a
Amoxicilline	100 (39/39)	62 (93/150)	< 0,05
Amoxicilline-acide clavulanique	97,5 (38/39)	53 (80/150)	< 0,05
Céfalotine	64 (25/39)	21 (32/150)	< 0,05
Ceftriaxone	97,5 (38/39)	29 (44/150)	< 0,05
Céfotaxime	87 (34/39)	32 (48/150)	< 0,05
Ceftazidime	97,5 (38/39)	34 (51/150)	< 0,05
Aztréonam	80 (31/39)	35 (53/150)	< 0,05
Gentamicine	74 (29/39)	51 (77/150)	< 0,05
Ofloxacin/cipro	48 (19/39)	16 (24/150)	< 0,05
Acide nalidixique	69 (27/39)	26 (39/150)	< 0,05
Doxycycline	82 (32/39)	27 (30/150)	< 0,05
Triméthoprim-sulfaméthoxazole	92 (36/39)	67 (101/150)	< 0,05
Imipénème	5 (2/39)	2 (3/150)	> 0,05
Pipéracilline	98 (38/39)	19 (28/150)	< 0,05

N : nombre de souches.

^a $p < 0,05$ (test de Fisher exact, 2-tailed) indique les différences statistiquement significatives dans les taux de résistance.

BLSE (2 %) (Tableau 4). Cette différence n'est pas significative ($p = 0,59$). Les fréquences de résistance à l'amoxicilline, à la céfalotine, qui sont des antibiotiques utilisés dans le traitement de première intention des infections urinaires sont relativement élevées dans les deux groupes mais elles le sont plus pour les souches de *EC*BLSE que pour les souches *EC* non BLSE (Tableau 4). Cette différence est très significative ($p < 0,0005$). Environ 21 % (39/189) des souches d'*EC* isolées durant la période de l'étude sont productrices de BLSE.

Mis à part l'imipénème, il y a une différence statistiquement significative de résistance entre les souches productrices et non productrices de BLSE pour tous les autres antibiotiques ($p < 0,001$), en particulier pour les céphalosporines de troisième génération (ceftriaxone, céfotaxime, ceftazidime) (Tableau 4).

3.3.1. Amplification génique de blaSHV et blaTEM

Les 39 souches identifiées comme productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ont été testées par PCR. Dix-sept sou-

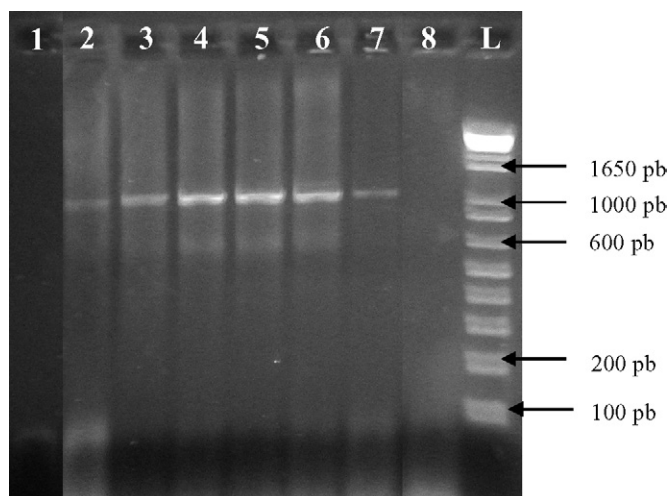


Fig. 1. Souches de ECBLSE avec *blaTEM*.

Fig. 1. ECESBL with *blaTEM*.

Ligne 1 : témoin négatif de la PCR.

Lignes 2–7 : échantillons positifs à la PCR pour *blaTEM*.

Ligne 8 : échantillon négatif à la PCR pour *blaTEM*.

Ligne L : marqueur de poids moléculaire.

ches isolées dans le service de chirurgie dont 12 de patients et 5 de l'environnement sont porteuses du gène *blaSHV* et présentent le même profil de résistance aux antibiotiques. Six autres souches provenant de patients du service de médecine générale et porteuses du gène *blaSHV* sont de même antibiotype mais différent des précédents. Huit souches possèdent le gène *blaTEM* et sont présentes uniquement chez les patients, trois souches possédaient à la fois les gènes *blaSHV* et *blaTEM*. La Fig. 1 montre les résultats de PCR pour quelques échantillons positifs pour *blaTEM*. Trois souches provenant de patients, deux souches de l'environnement, identifiées comme productrices de bêta-lactamase à spectre élargi ne possèdent ni le gène *blaSHV* ni le gène *blaTEM*. Elles possèdent d'autres gènes codant pour des BLSE, probablement *blaCTX* fréquemment rencontré dans les hôpitaux en Afrique [20,21]. Au total, sur les 32 souches de patients, productrices de bêta-lactamase à spectre élargi, 18 possèdent le gène *blaSHV*, huit possèdent le gène *blaTEM*, trois possèdent à la fois les deux gènes et trois autres ne possèdent aucun des deux gènes.

4. Discussion

L'objectif principal de notre travail était d'établir la fréquence des souches d'*EC* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi causant des infections chez les patients hospitalisés dans les services du CHD/ZC au Bénin. Notre étude a montré que la proportion des souches ECBLSE au sein de l'espèce *EC* est relativement élevée (22 %) en comparaison à des fréquences de 12 et 14,3 %, respectivement trouvées par Ho et al. [22] à Hong Kong et Gangoué et al. à Yaoundé au Cameroun [14]. Ce résultat paraît être du même ordre de grandeur que les proportions trouvées dans les pays africains à taux élevés de BLSE, comme la Tanzanie 28,7 % rapporté par Björn Blomberg et al. [23].

Les circulations inter- et intrahospitalières des patients porteurs d'ECBLSE, ainsi que la fréquence de leurs séjours hospitaliers préalables à l'isolement des ECBLSE, apparaissent importantes et constituent des facteurs qui prédisposent à l'acquisition des bactéries multirésistantes. La grande majorité des souches d'*EC* isolées dans notre étude sont sensibles à l'imipénème, en revanche il est à noter les résistances fréquentes au triméthoprimé-sulfaméthoxazole et à l'amoxicilline qui, du reste, sont des antibiotiques abondamment prescrits de par leurs disponibilités et leurs coûts abordables sur le marché local. La plupart des souches ECBLSE étaient corésistantes à la gentamicine, à la ciprofloxacine et au triméthoprimé-sulfaméthoxazole ; cela corrobore les travaux de Tolun et al. [24] et de Alhambra et al. [25]. Les mécanismes de cette résistance ne sont pas encore clairement établis, mais certains auteurs suggèrent la cotransmission des BLSE et des autres résistances aux antibiotiques par un même plasmide de conjugaison [26].

Les profils de résistance aux antibiotiques et les différents phénotypes de BLSE obtenus ont montré que les souches appartenaient à plusieurs clones. Cela témoigne des modes de transmission variées comme la dissémination clonale de plusieurs souches multirésistantes ou la transmission d'un plasmide entre plusieurs souches avec sélection polyclonale.

Ces souches renferment les gènes *BlaSHV* et ou *BlaTEM* et sont résistantes aux céphalosporines de troisième génération à savoir ceftriaxone, céfotaxime, ceftazidime. Plusieurs travaux avaient montré que la présence de ces gènes pouvait conférer la résistance aux céphalosporines de troisième génération.

Les souches de ECBLSE de phénotype de résistance CAZa (niveau de résistance à la ceftazidime plus important que celui de céfotaxime, ceftriaxone et aztréonam) possédant le gène *blaSHV*, isolées chez 12 des patients présents à la même période dans le service de chirurgie et dans l'environnement du même service, ont des profils de résistance aux antibiotiques superposables, ce qui évoque une probable épidémie intrahospitalière liée à cette bactérie. Enfin la fréquence élevée de ECBLSE que nous avons mise en évidence est le reflet du niveau moyen de l'hygiène dans l'hôpital.

Lucet et al. [7] ont montré qu'il est possible de contrôler efficacement des situations dans lesquelles les BLSE sont épidémiques ou hyperendémiques par l'identification correcte des pathogènes, l'hygiène des mains, l'isolement des patients, le port de gants et de blouses. Cette étude a montré que ces recommandations n'étaient que partiellement appliquées durant la période de l'étude. Le défaut d'information et le manque de sensibilisation des personnels médicaux et paramédicaux aux problèmes des bactéries multirésistantes semblent être les causes probables de la non-observance des mesures d'hygiène.

Dans notre étude, les efforts pour améliorer la désinfection des mains et de l'environnement immédiat du patient n'ont pas suffi pour enrayer immédiatement la transmission qui s'est poursuivie au-delà de deux mois. En effet, le changement de comportement en faveur de l'observance de l'hygiène des mains a pris du temps.

En outre, si le rôle primordial du laboratoire de microbiologie clinique est de fournir un résultat d'identification bactérienne qui permet de poser un diagnostic étiologique et celui de l'antibiogramme qui constitue une aide aux traitements [27], des défaillances sont observées dans bon nombre de pays africains y compris le Bénin. En effet, devant toute suspicion de maladie infectieuse, le clinicien prescrit au malade un traitement antimicrobien avant l'identification précise du micro-organisme en cause; il choisit en général un antibiotique à large spectre dont l'échec conduit à la demande des examens microbiologiques favorisant ainsi la sélection des souches multirésistantes.

L'inadaptation des structures pour l'isolement des malades, l'insuffisance en quantité et en qualité du matériel médical mis à la disposition des soignants et la vente illicite des médicaments contrefaits ont été des facteurs favorisant la dissémination des ECBLSE dans notre contexte.

Plusieurs mesures ont été prises pour circonscrire la dissémination des souches d'EC, notamment, l'éducation du personnel, un meilleur accès au savon pour le lavage des mains avec amélioration de la friction hydroalcoolique entre deux patients, une plus grande propreté de l'établissement, la fermeture pour un mois des salles de bain communes, la surveillance du lavage des mains des patients et de leurs familles avant les repas et les activités.

Le cohortage des patients porteurs de bactéries multirésistantes (BMR) dans deux grandes salles avec possibilité de circuler dans l'établissement a été décisif dans la maîtrise de l'épidémie. L'efficacité des mesures d'isolement pour réduire les infections à BMR en l'absence de politique de restriction de l'utilisation des antibiotiques est bien montrée dans un travail effectué en France, en 2001, par Eveillard [28] et conforte nos résultats.

Une politique d'antibiothérapie justifiée et/ou d'une restriction dans la prescription des céphalosporines de troisième génération et même de toutes les céphalosporines conduisent à une diminution significative de la fréquence des BLSE comme l'ont rapporté Patterson et al. [29]. De telles directives ne sont pas encore en vigueur au Bénin.

5. Conclusion

Cette étude a révélé l'existence réelle des infections provoquées par ECBLSE au CHDZ/C en 2005. L'analyse des souches isolées à partir des 32 patients et de quelques prélèvements de l'environnement montre une prédominance de la présence du gène *blaSHV* et permet de suspecter la dissémination d'une souche épidémique du clone *blaSHV* chez 12 malades hospitalisés dans les services de chirurgie sans toutefois que le mode de diffusion ait pu être élucidé. Une meilleure observance de l'hygiène des mains seule n'a pas permis de limiter la propagation de ce micro-organisme très résistant aux antibiotiques. L'association des compétences des cliniciens, des microbiologistes et des équipes de contrôle de l'infection est nécessaire pour le succès et s'impose comme une nécessité dans notre contexte.

Remerciements

Nous remercions les patients, les soignants et le personnel de laboratoire, qui ont accepté de collaborer à la réalisation de l'enquête. Le Pr Michel Delmée et le Dr Anne Simon du Laboratoire de microbiologie de l'UCL sont remerciés pour leur assistance et Michèle Janssens pour avoir mis à notre disposition les souches témoins. Ce travail a en partie été supporté par la Direction départementale de la santé du Zou et des Collines à Abomey au Bénin.

Références

- [1] Cooke EM. *Escherichia coli* and man. London: Churchill Living Stone; 1973.
- [2] Lucet JC, Chevret S, Decré D, et al. Outbreak of multiresistant enterobacteriaceae in an intensive care unit: epidemiology and risk factors for acquisition. *Clin Infect Dis* 1996;22:430–6.
- [3] Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933–51.
- [4] Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983;11:315–7.
- [5] Patterson JE. Antibiotic utilization: is there an effect on antimicrobial resistance. *Chest* 2001;119:426–30.
- [6] Masterton R, Drusano G, Paterson DL, Park G. Appropriate antimicrobial treatment in nosocomial infections-the clinical challenges. *J Hosp Infect* 2003;55:1–12.
- [7] Lucet J-C, Decré D, Fichelle A, Joly-Guillou M-L, Pernet M, Deblangy C, et al. Control of a prolonged outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae in a university hospital. *Clin Infect Dis* 1999;20:1411–8.
- [8] Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in non-hospitalized patients. *J Clin Microbiol* 2004;42:1089–94.
- [9] Tietz A, Francioli P, Widmer AF, et al. Bêtalactamases à spectre étendu : implications pour l'hygiène hospitalière. *Swiss noso* 2004 (11, Numéro 4, article 2).
- [10] Dubois SK, Marriott MS, Amyes SG. TEM- and SHV-derived extended-spectrum beta-lactamases: relationship between selection, structure and function. *J Antimicrob Chemother* 1995;35:7–22.
- [11] Heritage J, M'Zali FH, Gascoyne-Binzi D, Hawkey PM. Evolution and spread of SHV extended spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother* 1999;44:309–18.
- [12] Stobberingh EE, Arends J, Hoogkamp-Korstanje JAA, Goessens WHF, Visser MR, Buiting AGM, et al. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in Dutch hospitals. *Infection* 1999;27:348–54.
- [13] Pitout JDD, Thomson KS, Hanson ND, Ehrhardt AF, Moland ES, Sanders CC. β -Lactamases responsible for resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis* isolates recovered in South Africa. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:1350–4.
- [14] Gangoué-Piéboji J, Bedenic B, Koulla-Shiro S, Randegger C, Adiogo D, et al. Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Yaounde, Cameroon. *J Clin Microbiol* 2005;43:3273–7.
- [15] National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 12th informational supplement. Wayne, Pa: NCCLS document M100-S12; 2002.
- [16] Jarlier V, Nicolas M, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10:867–78.

- [17] Thomson KS, Sanders CC. Detection of extended-spectrum β -lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae*: comparison of the double-disk and three-dimensional tests. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:1877–82.
- [18] Ausubel FM, Brent R, Kingston RE, Moore DD, Seidman JG, Smith JA, et al. *Current protocols in molecular biology*. Chichester, United Kingdom: John Wiley & Sons, Inc.; 1994.
- [19] Tzelepi E, Giakkoupi P, Sofianou D, Loukova V, Kermeroglou A, Tsakris A. Detection of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates of *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J Clin Microbiol* 2000;38:542–6.
- [20] Kariuki S, Corkill JE, Revathi G, Musoke R, Hart CA. Molecular characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Kenya. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45:2141–3.
- [21] Faustine N, Roland J, Stig H, Willy U, Nina L. Extended spectrum-lactamases among Gram-negative bacteria of nosocomial origin from an Intensive Care Unit of a tertiary health facility in Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 2005;5:86 10.1186/1471-2334-5-86.
- [22] Ho PL, Tsang DNC, Que TL, Ho M, Yuen KY. Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum β -lactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong. *APMIS* 2000;108:237–40.
- [23] Bjørn B, Roland J, Manji KP, Tamim BS, Mwakagile DSM, et al. High rate of fatal cases of paediatric septicaemia caused by Gram-negative bacteria with extended-spectrum beta-lactamases in Dar es Salaam, Tanzania. *J Clin Microbiol* 2005;43:745–9.
- [24] Tolun V, Kucukbasmaci O, Torumkuney-Akbulut D, Catal C, Ang-Kucuker M, Ang O. Relationship between ciprofloxacin resistance and extended-spectrum beta-lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:72–5.
- [25] Alhambra A, Cuadros JA, Cacho J, Gomez-Garcés JL, Alos JI. In vitro susceptibility of recent antibiotic-resistant urinary pathogens to ertapenem and 12 other antibiotics. *J Antimicrob Chemother* 2004;53:1090–4.
- [26] Martínez-Martínez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351:797–9.
- [27] Pfaller MA, Herwaldt LA. The clinical microbiology laboratory and infection control: emerging pathogens, antimicrobial resistance, and new technology. *Clin Infect Dis* 1997;25:858–70.
- [28] Eveillard M, Eb F, Tramier B, Schmit JL, Lescure FX, Biendo M, et al. Evaluation of the contribution of isolation precautions in prevention and control of multi-resistant bacteria in a teaching hospital. *J Hosp Infect* 2001;47:116–24.
- [29] Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von Gottberg A, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000;30:473–8.