

## Epidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu à l'hôpital d'Enfants de Tunis

L. THABET<sup>1</sup>,  
W. JOUAIHIA<sup>1</sup>,  
O. KAABACHI<sup>2</sup>,  
J. EL AMRI<sup>2</sup>,  
H. SMAOUI<sup>1</sup>,  
A. KECHRID<sup>1</sup>

**Résumé :** Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) jouent un rôle important dans les infections nosocomiales et posent des problèmes thérapeutiques. Le but de ce travail est d'analyser l'épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu à l'Hôpital d'Enfants de Tunis, vu la multirésistance de ces souches, leur pouvoir épidémique et leur rôle important en pathologie nosocomiale. Sur une période d'étude de 18 mois (Janvier 1998-Août 1999), 156 entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu ont été isolées à partir de prélèvements divers : hémocultures (36,5%), urines (38,5%), ponctions lombaires (1%), ponctions ostéoarticulaires (3,3%), pus (10,7%) et prélèvements trachéaux (8%). La fréquence de bêta-lactamases à spectre étendu était variable selon l'espèce : 36,5% pour *K. pneumoniae*, suivie de *K. oxytoca* (17,4%) et *Salmonella* (15%). Les entérobactéries productrices de BLSE ont été isolées dans tous les services mais surtout ceux de médecine (53%). Les facteurs de risque majeurs sont l'antibiothérapie préalable, les longues durées d'hospitalisation. L'emploi raisonné des antibiotiques ainsi que des moyens stricts d'hygiène sont nécessaires afin de limiter la dissémination de ces souches au sein de l'hôpital.

**Mots clés :** *bêta-lactamases à spectre étendu, entérobactéries, infections nosocomiales, prévention, enfant.*

**Summary :** Extended spectrum beta-lactamases enterobacteriaceae (ESBLE) play a major role in nosocomial infection and cause a public health problem. During an 18 months period (january 98-august 99), a retrospective study was carried in bacteriology laboratory in Children's Hospital. 156 strains of extended spectrum beta-lactamases enterobacteriaceae were collected. These strains were isolated from bacteriemia in 36.5% cases, urinary tract in 38.5% of cases, respiratory tract in 8% of cases, meningitis in two cases (1%), arthritis and osteomyelitis in five cases. The production of Extended spectrum betalactamases concerned 36.5% of isolated strains of *K. pneumoniae*, 17.4% of *K. Oxytoca* and 15% of *Salmonella*. Medical services were the most concerned by these strains(53%). Previous hospitalisation and previous use of antimicrobial agent were significantly associated with infections by ESBLE. A strategy needs to be developed to prevent the spreading of these multiresistant organisms. Limiting the use of wide spectrum antimicrobial agents and the strict observance of nursing procedures were the main important parameters to reduce ESBLE nosocomial acquisition in hospital. Awareness of the prevalence of these extended spectrum beta-lactamases is the best way to assess the quality of medical care and the prevention strategy.

**Key words :** *Extended beta-lactamases, Enterobacteriaceae, Antimicrobials agents, nosocomials infections, prevention, children.*

<sup>1</sup> Laboratoire de Bactériologie  
<sup>2</sup> Service d'Orthopédie  
Hôpital d'Enfants de Tunis

### Introduction

Avec l'introduction en thérapeutique des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération notamment le céfotaxime en milieu pédiatrique, les entérobactéries ont rapidement développé à leur égard différents mécanismes de résistance. En Tunisie la première souche d'entérobactérie (*K. pneumoniae*) productrice de bêtalactamases à spectre étendu (BLSE) a été isolée en 1984 (5). Depuis, ce mécanisme de résistance a diffusé au sein des autres espèces de cette famille (6). Les infections à entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) surviennent sur le mode épidémique ou endémique et sont précédées le plus souvent par une colonisation digestive (3). La transmission des EBLSE est manuportée, soit directement de patient à patient, soit par l'intermédiaire du personnel soignant (3).

Le but de ce travail est d'analyser l'épidémiologie des entérobactéries productrices de BLSE à l'Hôpital d'Enfants de Tunis vu la multirésistance de ces souches aux antibiotiques, leur pouvoir épidémique et leur rôle important en pathologie nosocomiale.

### Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude rétrospective des entérobactéries productrices de BLSE faite au laboratoire de bactériologie de l'Hôpital d'Enfants de Tunis. La période d'étude était de 18 mois (janvier 1998 à août 1999). Les souches ont été isolées à partir de prélèvements divers : hémocultures, urines, pus, liquides de ponctions (lombaires, ostéoarticulaires, péritonéales). Durant la période d'étude, le portage intestinal d'EBLSE n'a pas été recherché. Une fiche de renseignement a été établie pour chaque cas, comportant : l'âge, la date d'hospitalisation, les facteurs de risque et le traitement. L'identification a été faite par galerie Api 10E (bioMérieux). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée par la technique de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton (Biorad) selon les normes du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (8). Les antibiotiques suivants ont été testés : amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique, ticarcilline, céfalotine, céfoxitine, céfotaxime, ceftazidime, imipénème, strepto-

mycine, kanamycine, gentamicine, tobramycine, amikacine, tétracycline, colistine, sulfaméthoxazole + triméthoprime (Biorad). La présence de BLSE a été détectée par le test de double synergie entre un disque d'amoxicilline + acide clavulanique et un disque de céphalosporine de troisième génération (céfotaxime ou ceftazidime). Une synergie étant visualisée par un élargissement de la zone d'inhibition au voisinage du disque d'amoxicilline + acide clavulanique : image en bouchon de champagne. Les souches productrices de BLSE présentent par ailleurs un diamètre réduit aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération avec une sensibilité conservée à la céfoxitine (13). Un contrôle de qualité interne a été régulièrement assuré par la souche ATCC *E. coli* 25922.

### Résultats

Au cours de la période d'étude, 1579 entérobactéries non répétitives ont été isolées. Parmi ces entérobactéries, 156 ont été productrices de BLSE (9.8%). La fréquence de BLSE était variable selon l'espèce : 36,5% pour *K. pneumoniae*, suivie de *K. oxytoca* (17,4%) et *Salmonella* (15%) (Tableau I). Parmi les espèces productrices de BLSE, *K. pneumoniae* vient en tête (83,5%), les autres espèces sont moins fréquemment productrices : *E. coli* (6,5%), *Proteus mirabilis* (5,5%), *Klebsiella oxytoca* (2,5%) et *Salmonella* (2%) : 1 *Salmonella enteritidis* 2 *Salmonella typhimurium*.

Les entérobactéries productrices de BLSE ont été isolées dans les différents services de l'hôpital mais essentiellement ceux de médecine (53%) (Tableau II). Les EBLSE ont été isolées surtout à partir des urines (38,5%) et des hémocultures (36,5%) mais aussi à partir de pus (10,6%) et de prélèvements trachéaux (8%). Dix souches (6,4%) d'EBLSE ont été isolées de sites normalement stériles (ponctions lombaires, articulaires et péritonéales) (Tableau III). Durant la période d'étude le portage intestinal d'EBLSE n'a pas été recherché. Les deux méningites rapportées ont concerné deux nouveaux nés, et correspondaient à des infections nosocomiales qui sont survenues respectivement après un délai de 4 et 10 jours. Les infections ostéoarticulaires (5 cas) ont intéressé deux nouveaux nés (15 jours, 1 mois), deux nourrissons

## Epidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases

**Tableau I :** Fréquence de la production de BLSE parmi les entérobactéries

Espèce	Nombre (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (356)	130 (36,5)
<i>Klebsiella oxytoca</i> (23)	4 (17,4)
<i>Salmonella</i> (20)	3 (15)
<i>Proteus mirabilis</i> (170)	9 (5,3)
<i>Escherichia coli</i> (953)	10 (1)
<i>Proteus indole +</i> (5)	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (52)	0
Total (1579)	156 (9,8)

**Tableau II :** Répartition selon les services

Services	Nombre (%)
Médecine	83 (53)
Réanimation	37 (23,5)
Chirurgie	36 (23,5)
Total	156

**Tableau III :** Répartition des EBLSE par prélèvement

Prélèvements	Nombre (%)
Urines	60 (38,5)
Hémocultures	57 (36,5)
Trachéaux	13 (8)
Pus	16 (10,6)
Ponctions lombaires	2 (1)
Ponctions péritonéales	3 (2)
Ponctions ostéo-articulaires	5 (3,4)
Total	156

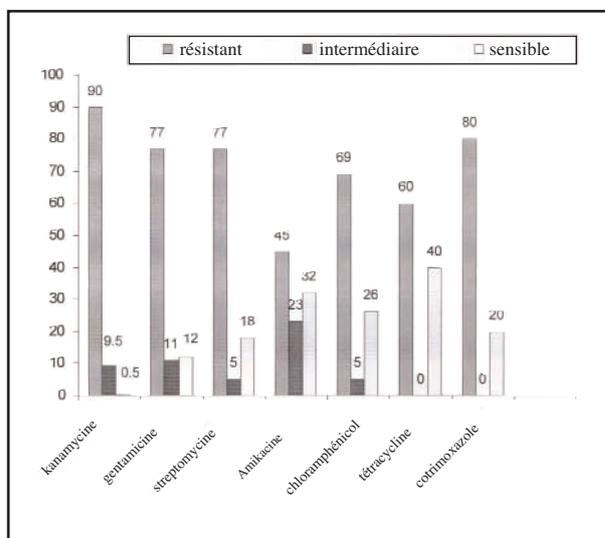
(2 mois) et un enfant (14 ans). Une longue durée d'hospitalisation ainsi que l'utilisation prolongée d'antibiotiques à large spectre ont été retrouvés chez 4 enfants. Le traitement a associé un geste chirurgical et une antibiothérapie (imipénème, amikacine). L'évolution a été marquée par des séquelles dans 2 cas (ostéomyélite chronique).

Toutes les souches isolées étaient résistantes aux principaux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (amoxicilline, ticarcilline, céfotaxime et ceftazidime), mais sensibles au céfoxitine et à l'imipénème et avaient un test de synergie positif. Ces souches étaient également résistantes à d'autres familles d'antibiotiques en

particulier les aminosides (figure 1). La résistance aux aminosides était variable selon l'espèce (Tableau IV) 50% à 79% pour la gentamicine et 25 à 50% pour l'amikacine.

**Tableau IV :** Pourcentage de résistance associée aux aminosides selon l'espèce

Espèce	Kanamycine	Gentamicine	Streptomycine	Amikacine
<i>K. pneumoniae</i>	90	79	77	46
<i>K. oxytoca</i>	100	50	75	50
<i>P.mirabilis</i>	89	78	78	25
<i>E. coli</i>	80	60	70	50



**Fig 1 :** Pourcentage de résistance associée aux antibiotiques des EBLSE

### Discussion

Depuis leur identification en 1983 (9) chez *K. pneumoniae*, les BLSE se sont progressivement diversifiées, et ont diffusé à l'ensemble des entérobactéries et dans de nombreux pays (5). Des enquêtes récentes sur les isolats hospitaliers de *K. pneumoniae* en France, en Angleterre et au Portugal montrent que 10 à 16% produisent des BLSE, alors que la production de BLSE est rare chez *E. coli* (< 0,1%) et chez *P. mirabilis* (10, 13, 17). Dans notre série la fréquence de production de BLSE était de 36,5% pour *K. pneumoniae*, 1% pour *E. coli* et 5,3% pour *P. mirabilis*. Une étude tunisienne rapporte également la prédominance de *K. pneumoniae* parmi les EBLSE (4). Dans la littérature, les EBLSE sont isolées essentiellement à partir de prélèvements de patients hospitalisés

dans les services de réanimation et de chirurgie, l'isolement des BLSE dans les autres services (médecine et de pédiatrie) est moins fréquent (11, 13). La fréquence élevée d'isolement des EBLSE dans les services de pédiatrie générale (53%) dans notre étude pourrait être expliquée par l'antibiothérapie à large spectre, les mauvaises conditions d'exécution des soins et une hygiène déplorable.

Dans notre étude, les urines et les hémocultures représentent les principaux sites d'isolement des EBLSE (respectivement 38,5% et 36,5%), suivies des prélèvements trachéaux (8%). 6,4% des EBLSE sont isolées de sites normalement stériles (ponctions lombaires, articulaires et péritonéales). Dans une étude française (13), les EBLSE ont été isolées essentiellement au niveau des urines (55%), suivies des prélèvements trachéaux (12 à 15%). Leur isolement dans les hémocultures demeure rare (4 à 5%) et aucun cas de méningite ni d'arthrite n'a été signalé. La présence fréquente d'EBLSE dans les hémocultures et leur isolement dans les liquides de ponction, illustre la gravité de ces infections et la nécessité d'entreprendre des mesures préventives urgentes.

L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a montré leur multirésistance : 77% des souches sont résistantes à la gentamicine, 45% à l'amikacine, 60% à la tétracycline, 69% au chloramphénicol, et 80% au cotrimoxazole. En effet, les plasmides portant les gènes des BLSE portent également des gènes de résistance à différents autres antibiotiques (5). Toutes les souches isolées sont sensibles à la céfoxitine et à l'imipénème. La résistance aux carbopénèmes est un phénomène non commun chez les entérobactéries mais vu l'usage fréquent de ces antibiotiques pour le traitement des souches multirésistantes, spécialement les souches BLSE, certaines souches acquièrent une résistance à cette famille d'antibiotiques. L'apparition récente des bêta-lactamases capables d'hydrolyser les carbapénèmes en plus d'autres mécanismes de résistance pose un problème thérapeutique (19). Récemment, il a été mentionné l'apparition d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* résistante à l'imipénème par production de bêta-lactamase dont l'activité a été inhibée en présence d'acide

clavulanique (15).

Plusieurs études (12, 13, 16) rapportent que les facteurs de risque liés à l'acquisition d'infections à EBLSE sont les longues durées d'hospitalisation, l'antibiothérapie préalable ainsi que les manœuvres invasives (cathétérisme, sondage, intubation). Dans notre étude ce sont les deux premiers facteurs qui ont été retrouvés.

### Conclusion

Dans notre étude les EBLSE sont produites par 9,8% des entérobactéries, et notamment par *K. pneumoniae* (36,5%). Les EBLSE sont fréquemment isolées à partir d'hémocultures (36,5%) et retrouvées au niveau des liquides de ponction (6,3%). Elles touchent tous les services et sont multi-résistantes aux antibiotiques. Ces données justifient le dépistage et l'isolement des enfants colonisés ou infectés (17), la limitation du risque de transmission croisée par l'application de règles d'hygiène stricte en particulier le lavage des mains, ainsi que l'utilisation raisonnée des antibiotiques qui joue un rôle essentiel par la diminution de la pression de sélection. En effet, l'utilisation non motivée ou inadaptée des antibiotiques est responsable de graves modifications de l'écologie bactérienne individuelle et collective, et de la sélection d'une flore multirésistante pouvant être source d'infection (2). L'établissement de guides de bonnes pratiques et de recommandations de prescriptions selon le site et les germes en cause serait une démarche intéressante dans la lutte contre les infections nosocomiales ainsi qu'une surveillance continue des bactéries multirésistantes afin d'évaluer l'efficacité des mesures entreprises.

### Références

- 1- André P. Prévenir l'infection, un défi quotidien pour chacun de nous. Presse. Méd. 1999 ; 28 : 4-6.
- 2- A. Andremont. Impact des antibiotiques sur l'écologie de la résistance bactérienne : rôle du tube digestif. Méd. Mal. Infect. 2000 ; 30 : 179-184
- 3- Barbut F., Soulier A., Ollivier JM., Blon H., Lienhart A., Petit J.C. Prévention de la transmission des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE) dans un service de réanimation chirurgicale digestive par une réorganisation des soins infirmiers. Méd. Mal. Infect. 1994 ; 24 :

698-704.

**4-** Ben Abdallah. H, Boutiba. I, Ghozzi. R, Kammoun A, Ben redjeb. S.

Surveillance des entérobactéries productrices de BLSE à l'Hôpital Charles Nicolle de Tunis (1993-2001).

Société Tunisienne de Pathologie Infectieuse, XII<sup>ème</sup> Congrès National, 2002, 43.

**5-** Ben Redjeb S., Fournier G., Ben Hassen A., Philipon A. Two novel transferable extended spectrum b-lactamase from *K. pneumoniae* in Tunisia. *Fems. Microbiol. lett.* 1998 ; 67 : 33-8.

**6-** Ben Redjeb S., Ben Hassen A., Phillipon A. Bétalactamase plasmidique (ampc) chez *Proteus mirabilis* en Tunisie. *Méd. Mal. Infect.* 1999 ; 29 : 415-7.

**7-** Bonacorsi S., Bingen E. Germes multirésistants en pédiatrie. *Path. Biol.* 1998, 46 : 261-7.

**8-** Comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie, communiqué 1997. *Pathol. Biol.* 1997 ; 45 :1-2

**9-** Kenneth. S. Thomson.

Controversies about extended spectrum and Ampc. 333-6. *Betalactamases. Emerging Infectious Diseases* 2001, 2 :333-6

**10-** Ledru S., Canone JP. Suivi de l'épidémiologie des bactéries multirésistantes par le laboratoire de microbiologie du centre hospitalier de Lens. *Méd. Mal. Infect.* 1994 ; 29 : 508-15.

**11-** Leroy O., Beaucaire G. Lutte contre la diffusion des infections à entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre étendu. *Méd. Mal. Infect.* 1996 ; 26 : 690-7.

**12-** Lecaillon E., Roulland S., Geudet P., Delpech N. Epidémiologie descriptive des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) à l'hôpital de

Perpignan. *Méd. Mal. Infect.* 1994 ; 24 : 705 - 709.

**13-** Lucet J.C., Regnier B. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. *Path. Biol.* 1998 ; 46 : 235-43.

**14-** Mensah K., Bergeret M., Raymond J. Staphylocoques résistants à la méticilline et entérobactéries multirésistantes isolés à l'hôpital Saint-Vincent de Paul à Paris. *Méd. Mal. Infect.* 1997 ; 27 : 628-30.

**15-** Pagani L, M. Perilli, R.Migliavacca, Fluzzaro, G. Amicosude.

Extended spectrum TEM and SHV type betalactamase producing *klebsiella pneumoniae* strains causing outbreaks in intensive care units in Italy. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect.Dis.* 2000, 19 : 765 - 772.

**16-** Phillipon A., Fournier G., Paul G., Vedel G., Nevot P. Détection et distribution des bêta-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries. *Méd. Mal. Infect.* 1998 ; 12 : 869-76.

**17-** Sirot D. bêta-lactamase plasmidique à spectre étendu. *J. Antimicrob. Chemother.* 1995 ; 36 : 19-34

**18-** Vanhems. P.

Nosocomial pulmonary infection by antimicrobial resistant bacteria of patients hospitalized in intensive care units : risk factors and survival. *J. Hosp. Infect.* 2000 ; 45 : 98-106

**19-** Xigit. H, A.M Queenann, G.J Anderson, A. Damenech Sanchez, JW Biddle, Christine D Steward, K. Bush, Fred C. Tenuver. Novel carbopenem hydrolyzing beta-lactamase, KpC-1 from a carbopenem resistant strain of *klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobiol agents and chemotherapy*, 2001 ; 45 :