Profil épidémiologique et résistance aux antibiotiques des Souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées au centre de Traumatologie et Grands Brûlés en Tunisie durant trois ans

Lamia Thabet[1], Ayoub Zoghlami[2], Lamia Kanzari[1], Jalel Boukadida[3], Amen Allah Messadi[3], Abdelraouef Ghanem[1]

1-Laboratoire de Biologie Médicale - 2-Service de chirurgie générale - 3-Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie
4- Service de réanimation des brûlés ; Centre de Traumatologie et Grands Brûlés, Ben Arous, Tunisie
Faculté de médecine de Tunis. Université de Tunis El Manar

 L. Thabet, A. Zoghlami, L. Kanzari, J. Boukadida, A. A. Messadi, A. Ghanem

Profil épidémiologique et résistance aux antibiotiques des Souches de Pseudomonas aeruginosa isolées au centre de Traumatologie et Grands Brûlés en Tunisie durant trois ans

LA TUNISIE MEDICALE - 2012 ; Vol 90 (n°11) : 803 - 806

Epidemiological profile and antibiotic resistance of Pseudomonas aeruginosa isolates in burn and Traumatology center in Tunisia over a three-year period

LA TUNISIE MEDICALE - 2012 ; Vol 90 (n°11) : 803 - 806

RÉSUMÉ

Prérequis : Pseudomonas aeruginosa est une bactérie pathogène opportuniste fréquemment incriminée dans les infections nosocomiales chez les brûlés.
But : Etablir le profil épidémiologique des souches de P. aeruginosa responsables d'infections nosocomiales chez les brûlés hospitalisés dans le nouveau centre de Traumatologie et Grands brûlés en Tunisie.
Méthodes : Du 1er Juillet 2008 au 30 Juin 2011, 544 souches non répétitives de P. aeruginosa ont été isolées chez les brûlés. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM. Le sérotypage des souches a été réalisée par la technique d'agglutination avec les antisérums spécifiques (biorad). Les souches résistantes à l'imipenème (diamètre inférieur à 17 mm) ont bénéficié d'une recherche de la production de carbapénémase par le test à EDTA.L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel Whonet 5. 3(OMS)
Résultats : P. aeruginosa était essentiellement isolé de prélèvements cutanés et d'hémocultures (83,4%). Les taux de résistance à la ceftazidime, imipénème, ciprofloxacine et amikacine ont été respectivement 34%, 37,1%, 27,1% et 29,6%. L'analyse des sérotypes a montré la prédominance de 5 sérotypes : 011 (51%), 06(17%), 03 (8%), 04(12%), 012(5%). Parmi les 202 souches résistantes à l'imipénème, 58% étaient productrices de métallo-carbapénémase. Ces souches étaient résistantes à tous les antibiotiques sauf la colistine et de sérotype O11.
Conclusion : La prévention de la dissémination des carbapénémases passe par une détection rapide et une application stricte des règles d'hygiène.

SUMMARY

Background: Pseudomonas aeruginosa is a known opportunistic pathogen frequently causing serious infections in burned patients.
Aim: To analyze the epidemiological profile of Pseudomonas aeruginosa isolated in a Tunisian burn unit.
Methods: During a 3-year period (from 01 July 2008 to 30 June 2011), 544 non repetitive strains of P. aeruginosa were isolated from burn patients. Susceptibility to antibiotics was assessed according to CA-SFM guidelines. Serotypes were identified by slide agglutination test using P.aeruginosa O antisera (Biorad). Producing carbapenemase was analyzed for 202 imipenem resistant isolates by EDTA test. Susceptibility testing data were stored in a laboratory data base using whonet 5.3 software.
Results: The most frequent sites of isolation were cutaneous infections and blood cultures (83.4%). The percentages of resistant isolates were as follows: ceftazidime: 34%; imipenem: 37.1%, ciprofloxacin: 27.1% and amikacin: 29.6%. The most prevalent serotypes were: 011(51%), 06(17%), 03 (8%), 04(12%), 012(5%). Among the 202 imipenem resistant strains, 58% expressed a metallo-carbapenemase. All theses strains were resistant to all tested antibiotics except colistin and belonged to the serotype O11.
Conclusion: The dissemination of carbapenemases strains must be contained by implementation of timely identification, strict isolation methods and better hygienic procedures.

Mots-clés
Brûlés, carbapénémases, Pseudomonas aeruginosa, résistance aux antibiotiques, sérotype

Key-words
Antibiotic resistance, burn patients, carbapenemase, P. aeruginosa, serotype

Pseudomonas *aeruginosa* est une bactérie pathogène opportuniste fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales chez les brûlés (1). L'émergence de la multi-résistance chez cette bactérie pose un problème thérapeutique crucial pour ces patients et aggrave le pronostic de leur pathologie (2). La prévention revêt donc une importance majeure pour ces infections. Le sérotypage combiné à l'antibiotype de de P. aeruginosa permet un premier criblage pour rechercher des souches reliées épidémiologiquement, aide à préciser l'hypothèse d'épidémie et, par conséquent, à déclencher les mesures d'hygiène propres à limiter la dissémination (3).

Le but de cette étude était d'évaluer la prévalence, la résistance aux antibiotiques et le sérotype des souches de P. *aeruginosa* isolées chez les brûlés hospitalisés dans le service de réanimation du nouveau centre de Traumatologie et Grands brûlés (CTBG) de Ben Arous à Tunis (Tunisie), dans les trois ans suivant son ouverture.

MATERIEL ET METHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective. Le CTBG de Ben Arous a débuté son activité le 1er Juillet 2008. Le service des brûlés était auparavant situé dans une autre structure hospitalière, l'hôpital Aziza Othmana (HAO). Le service de réanimation du CTBG compte 20 lits. Seuls les patients ayant une durée d'hospitalisation supérieure à 48 heures ont été inclus dans cette étude. P. *aeruginosa* a été isolé à partir de différents prélèvements chez les brûlés et également à partir de l'environnement lors d'enquêtes épidémiologiques. L'identification a été réalisée selon les méthodes conventionnelles et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée selon les normes du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (4). Les souches ont été sérotypées par la technique d'agglutination sur lame à l'aide d'antisérums spécifiques (Biorad). La production de métallo-carbapénémase a été recherchée chez les souches résistantes à l'imipénème (diamètre de la zone d'inhibition inférieur à 17 mm) par un test à l'EDTA (5). L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel whonet 5. 3 (OMS).

RESULTATS

Répartition des souches en fonction du prélèvement

Sur les 3 ans de l'étude, 544 souches non redondantes de P. aeruginosa ont été isolées à partir de prélèvements à visée diagnostique. P. aeruginosa (15 %) était la seconde bactérie la plus souvent retrouvée, après Staphylococcus aureus (20%), et avant Acinetobacter baumannii (9%).

Les souches provenaient essentiellement de prélèvements cutanés et d'hémocultures (83,4%) (figure 1). Elles ont également été retrouvées dans des prélèvements respiratoires et urinaires et sur des cathéters. Par ailleurs, 10 souches ont été isolées à partir de l'environnement, au niveau de lavabos et de siphons d'éviers.

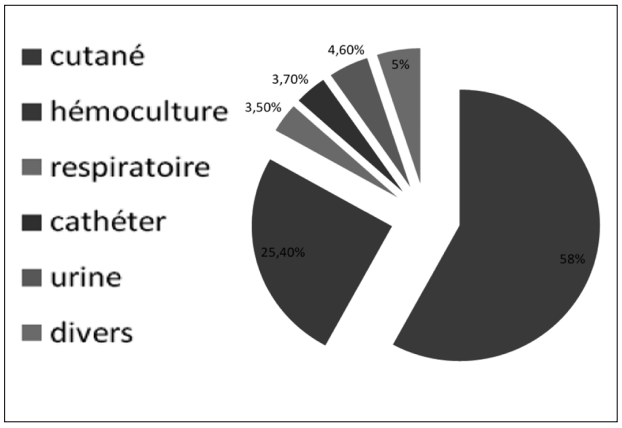
Sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré que 34% des souches étaient résistantes à la ceftazidime, 37,1% à l'imipénème, 11,5% à l'aztéonam, 27,1% à la ciprofloxacine et 29,6% à l'amikacine. Les taux de résistance sont restés statistiquement stables au cours des trois années de l'étude (Tableau 1).

Tableau 1 : Evolution de la résistance aux antibiotiques de P. aeruginosa durant la période de l'étude (% de souches résistantes)

	2008 (n=138)	2009 (n=245)	2010 (n=113)	2011 (n=48)	Total (n=544)
Ceftazidime	39 ,4	38,1	27,9	24,6	34
Pipéracilline	33,1	42,3	35,2	23	37
Pipéracilline-tazobactam	31,9	31,6	16,2	26,7	27,1
Imipénème	37,5	41,5	35,1	31,2	37,1
Aztréonam	11,2	12	11,2	11,4	11,5
Colistine	0	0	0	0	0
Tobramycine	36,7	45	38,7	37,5	41,2
Gentamicine	36,9	49,2	42,3	38,3	44,1
Amikacine	30	32	22,9	27,6	29,6
Ciprofloxacine	34,5	37	30	29	27,1
Fosfomycine	49,3	44,2	26,4	25,5	40,4

Figure 1 : Répartition des souches de P. aeruginosa isolés chez les brûlés selon la nature du prélèvement



Sérotypes

L'analyse des sérotypes a montré la prédominance de cinq sérotypes : O11 (51%), O6 (17%), O3 (8%), O4 (12%), O12 (5%), suivis de O8 (4%) et O1 (3%).

Production de carbapénémase

Sur les 544 souches de P. *aeruginosa*, 202 (37,1%) étaient résistantes à l'imipénème, dont 117(58%) productrices de métallo-carbapénémase. Ces souches étaient résistantes à tous les antibiotiques testés sauf la colistine et appartenaient au sérotype 011. Par ailleurs, elles ont été isolées tout au long de l'étude.

Souches isolées dans l'environnement hospitalier

Les souches isolées au niveau des lavabos et des siphons des éviers étaient de sérotype O11 pour sept isolats, et O6 pour les trois autres souches. Parmi les sept isolats de séroptype O11, six étaient résistants à tous les antibiotiques sauf la colistine et producteurs de métallo-carbapénémase, phénotype retrouvé chez les 117 souches isolées à partir de prélèvements à visée diagnostique. Les 3 autres isolats de l'environnement avaient trois antibiotypes différents(ATB 1 :céftazidime R , Imipénéme S , Fosfomycine S ,ATB 2 : Céftazidime S , imipénème S, Fosfomycine S et ATB 3 : céftazidime R , Imipénéme S , Fosfomycine R) .Les antibiotype 1 , 2 et 3 sont respectivement retrouvés chez 14 ,10 et 3 isolats cliniques.

DISCUSSION

Les infections nosocomiales constituent un problème particulièrement grave chez les brûlés en réanimation, du fait de la mortalité et du coût d'hospitalisation qu'elles engendrent (6). P. *aeruginosa* est le principal agent impliqué dans ces infections. Sa prolifération est favorisée par l'environnement humide souvent rencontré dans les centres de brûlés (pansements, solutions d'antiseptiques…). Cette bactérie est capable d'une survie prolongée dans ces niches, qui constituent à la fois un réservoir et un vecteur de transmission pour ces patients (1, 7, 8, 9).

Dans notre étude, P. *aeruginosa* était essentiellement responsable de surinfections cutanées et de bactériémies. La peau brûlée est dévitalisée et constitue un milieu idéal pour la prolifération des germes. Elle représente une porte d'entrée aux infections nosocomiales chez les brûlés. Les manœuvres invasives (intubation, cathétérisme, sonde vésicale) constituent également des facteurs de risque d'infection chez les brûlés (10). P. *aeruginosa* est caractérisé par une aptitude remarquable à acquérir des résistances aux antibiotiques, posant d'énormes problèmes thérapeutiques qui aggravent le pronostic de ces infections (11). Dans cette étude, la résistance à la ceftazidime affectait 34% des souches, un taux moindre que celui d'Estahbani et al. (7) qui rapportent une résistance supérieure à 90% dans un centre de brûlés Iranien. Song et al. (6) mentionnent une résistance à la ceftazidime de 54% chez les brûlés en Corée du sud.

Les carbapénémes, molécules de choix pour le traitement des infections à P. *aeruginosa*, peuvent également être concernés par la résistance. Dans notre étude, 37,1% des souches étaient résistantes à l'imipénème. Cette fréquence varie chez les brûlés de 25% à 52% selon les études (6, 9).

Parmi les mécanismes de la résistance aux carbapénèmes, la production de carbapénémase est la plus préoccupante. En effet, ces enzymes entraînent une résistance de haut niveau à toutes les ß-lactamines à l'exception de l'aztréonam, à condition qu'il n'y ait pas d'autre mécanisme associé (efflux, céphalosporinase hyperproduite). De plus, les souches productrices de carbapénémase sont habituellement multi-résistantes aux antibiotiques, y compris aux aminosides. Enfin, la localisation des gènes de carbapénémases au sein d'intégrons, eux-mêmes portés par des éléments mobiles tels que plasmides et transposons, permet leur dissémination au sein de bactéries pathogènes, de genres et d'espèces différents. Dans notre étude, 58% des souches résistantes à l'imipénème étaient productrices de métallo-carbapénémase. La caractérisation moléculaire de l'enzyme en cause n'a pas été réalisée, mais une étude précédente sur les souches du service des brûlés de l'hôpital Aziza Othmana a montré que la carbapénémase produite était de type VIM-2 (12), enzyme également décrite dans deux autres études tunisiennes (13, 14). Dans un centre de brûlés à Taiwan (15), Huang et al. ont rapporté une prévalence de la production de carbapénémase de 36% chez les souches résistantes à l'imipénème. La carbapénémase en cause était de type VIM-3 et associée à une multi-résistance épargnant la colistine. Par contre, la production de carbapénémase était très rare dans l'enquête trans-réseaux de l'ONERBA en 2007 qui portait sur 2200 souches isolées dans 58 hôpitaux français (0.1% de l'ensemble des souches et 1.4% des souches résistantes à la ceftazidime) ; le mécanisme prédominant de la résistance à l'imipénème était la perte de la porine D2 (16).

Dans notre étude, les souches productrices de carbapénémase étaient résistantes à tous les antibiotiques sauf la colistine. La multi résistance des germes impliqués dans les infections nosocomiales est encore plus préoccupante chez les brûlés, et accentue la mortalité chez ces patients pour lesquels le

pronostic est déjà sombre (15). De plus, ces souches appartenaient toutes au sérotype O11, suggérant une épidémie. Plusieurs épidémies d'infections nosocomiales à P. *aeruginosa* multi résistants de sérotype O11 ont été décrites (17, 18). Dans d'autres cas, les épidémies d'infections nosocomiales à P. *aeruginosa* multi résistants étaient dues à des souches de sérotype O12 (19-21). Dans notre centre la mise en évidence d'un P. *aeruginosa* de sérotype O11, oriente l'antibiothérapie dés le premier jour, sans attendre le résultat de l'antibiogramme. La colistine est alors la molécule de choix. Des P. *aeruginosa* multi-résistants, de sérotype O11 et producteurs de métallo-enzyme ont été retrouvés dans l'environnement hospitalier. L'isolement de ce type de souche doit conduire à renforcer les mesures d'hygiène chez les malades. Le contrôle des infections nosocomiales à P. *aeruginosa* n'est pas toujours facile à appliquer, particulièrement chez les brûlés. Les réservoirs sont souvent importants, multiples et méconnus et la colonisation persistante chez ces patients rend l'éradication du pyocyanique difficile. Néanmoins, un détartrage régulier et soigneux des lavabos et des canalisations est recommandé pour contrôler l'implantation du pyocyanique dans les structures hospitalières (22). Le renforcement du lavage des mains, le dépistage de la colonisation par les bactéries multi-résistantes, ainsi qu'une meilleure utilisation des antibiotiques sont également des mesures efficaces qui doivent êtres entreprises en urgence (21). Des mesures d'isolement géographique si la structure le permet, sinon des mesures d'isolement technique doivent être immédiatement mises en place (8).

CONCLUSION

Ainsi, cette étude confirme que P. *aeruginosa* est un agent majeur d'infections nosocomiales chez les Brûlés. Les souches rencontrées sont fréquemment multi-résistantes. Des souches résistantes à tous les antibiotiques sauf la colistine, de sérotype O11 et productrices de métallo-carbapénémase sont vraisemblablement devenues épidémiques au CTBG comme elles l'étaient au HAO. Le sérotypage combiné à l'antibiotype et à un test à l'EDTA permet une détection rapide de ces isolats, la mise en œuvre d'une antibiothérapie probabiliste pertinente, et le déclenchement de mesures prophylactiques drastiques qui, seules, pourront permettre à terme d'éradiquer ces bactéries.

Références

1. E Tredget, H Shankowsky, R Rennie, R Burrel, S Logsetty. Pseudomonas infections in the thermally injured patient. Burns 2004; 30:3-26.
2. N Mesaros, P Normand, P Plesiat, P Leclerque, F Van Bambeke. Pseudomonas aeruginosa : résistance et options thérapeutiques à l'aube du deuxième millénaire. Antibiotiques 2007; 9 :189-98.
3. P Berthelot, F Grattard, FO Mallaval, A Ros, F Lucht, B Pozzetto. Epidémiologie des infections nosocomiales à Pseudomonas aeruginosa, Burkholderia cepacia et Stenotrophomonas maltophila. Path.Biol 2005; 53:341-8.
4. Comité de l'antibiogramme de la SFM. Bull. Soc. Fr. Microbiol. 2008.
5. C Franklein, L Lilios, AY Peleg. Phenotypic detection of carbapenem-susceptible metallo-,-lactamase producing Gram negative bacilli in the clinical laboratoty. J Clin Microbiol 2006; 44: 3139-44.
6. W Song, Lee Kyu Man, HJ Kang, DH Shin, DK Kim. Microbiologic aspects of predominant bacteria isolated from the burn patients in Korea. Burns 2001; 27: 136-9.
7. H Estahbanati , P Kashani , F Ghanaatpished. Frequency of Pseudomonas aeruginosa serotypes in burn wound infections and their resistance to antibiotics. Burns 2002;28: 340-8.
8. M A Bahar, S Jamali, A Samadi kuchaksaraei. Imipenem resistant Pseudomonas aeruginosa strains carry metallo , lactamase gene bla VIM in a level Iranian burn hospital. Burns 2010; 36: 826-30.
9. A Japoni, A Alborzi, M Kalani, J Nasiri, M Hayati, S Farshad. Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the south of Iran. Burns 2006; 32:343-7.
10. L Thabet, K Bousselmi, S Ben Redjeb, AA Messadi. Profil épidémiologique et sensibilité aux antibiotiques des souches de Pseudomonas aeruginosa isolées dans un service de réanimation des brûlés. Tunis. Med 2007; 85: 124-7.
11. P Nordmann. Mécanismes de résistance aux bêta-lactamines de Pseudomonas aeruginosa. Ann Fr Anesth Reanim 2003; 22: 527-30.
12. L Thabet, V Dubois, C Andre, A Messadi, C Quentin. Imipenem-resistant Pseudomonas aeruginosa in a Tunisian Burn center: overlapping outbreaks and cross-infections of strains exhibiting various resistance mechanisms, including VIM-2 production. 49th ICAAC(interscience on antimicrobial agents and chemotherapy) San Francisco: 12-15 septembre 2009.
13. S Hammami, I Boutiba, R Ghozi, M Saidani, A SlimA, S Ben Redjeb. Nosocomial outbreak of imipenem resistant Pseudomonas aeruginosa producing VIM-2 metallo , lactamase in a kidney transplantation unit. Diagn Pathol 20011; 6: 106.
14. W Mansour, L Poirel, D Bettaieb, O Bouallégue, N Boujaafer, P Nordmann. Metallo,-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa isolates in Tunisia. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009; 64: 458-61.
15. YT Huang, SH Chang, T Lauderdale, A Yang, JT Wang. Molecular epidemiology of carbapenem-resistant Pseudomonas aeruginosa carrying metallo-,-lactamase genes in Taiwan. Diagn Microbiol Infect Dis. 2007; 59: 211-6.
16. D Hocquet,P Plesiat , B Dehecq , P Mariotte , D Talon , X Bertrand , ONERBA. Nationwide investigation of extended spectrum beta-lactamases, metallo-beta-lactamases,and extended-spectrum oxacillinases produced by ceftazidime-resistant Pseudomonas aeruginosa strains in France. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 3512-5.
17. A Ben Hadj Khalifa, H Thien, C Pourel, M Khedher, M Mastouri, D Moissenet. Caractérisation phénotypique et génotypique de 96 isolats cliniques de Pseudomonas aeruginosa à l'Hôpital F.Bourguiba (Monastir, Tunisie). Pathol. Biol 2010; 58: 84-8.
18. H Richet . Prise en charge d'une épidémie à Pseudomonas aeruginosa. Ann Fr Anesth Reanim 2003; 22: 544-7.
19. JJ Fanner, RA Weinstein, CH Zierdt, CD Brokopp. Hospital outbreaks caused by Pseudomonas aeruginosa importance of serotypes O11. J Clin Microbiol 1982; 16: 266-70.
20. F Grattard, OG Gaudin, B Pozzetto, A Ros, AD Mbida. Genotypic homogeneity of Pseudomonas aeruginosa O12 strains demonstrated by analysis of protein profiles, DNA fingerprints and rRNA gene restriction patterns. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993; 12: 57-61.
21. S Hammai, R Ghozzi, B Burghoffer, G Arlet, S Ben Redjeb . Mechanisms of carbapenem resistance in non metallo-.,-lactamase-producing clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa from a Tunisian hospital. Pathol. Biol 2009; 57: 530-5.
22. X Bertrand ,C Slekovec , P Cholley , D Talon . Epidémiologie des infections à Pseudomonas aeruginosa. Revue Francophone des laboratoires 2001; 435: 35-40.