



**HAL**  
open science

# Prévalence, circulation et caractérisation des bactéries multirésistantes au Burkina Faso

Abdoul-Salam Ouedraogo

► **To cite this version:**

Abdoul-Salam Ouedraogo. Prévalence, circulation et caractérisation des bactéries multirésistantes au Burkina Faso. Médecine humaine et pathologie. Université Montpellier, 2016. Français. NNT : 2016MONTT001 . tel-01476152

**HAL Id: tel-01476152**

**<https://theses.hal.science/tel-01476152>**

Submitted on 24 Feb 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# THÈSE

Pour obtenir le grade de  
**Docteur**

Délivré par **UNIVERSITE DE MONTPELLIER**

Préparée au sein de l'école doctorale **Sciences  
Chimiques et Biologiques pour la Santé-ED 168**  
Et de l'unité de recherche INSERM 1058

Spécialité : **Biologie Santé**

Présentée par **Abdoul-Salam OUEDRAOGO**

**PREVALENCE, CIRCULATION ET  
CARACTERISATION DES BACTERIES  
MULTIRESISTANTES AU BURKINA-FASO**

Soutenue le **21 Mars 2016** devant le jury composé de

M. <b>Guillaume ARLET</b> , PU-PH, Université Paris 06	Rapporteur
Mme <b>Marie KEMPF</b> , MCU-PH, Université d'Angers	Rapporteur
M. <b>Sylvain GODREUIL</b> , PU-PH, Université de Montpellier	Directeur
M. <b>Christian CARRIERE</b> , MCU-PH, Université de Montpellier	Co-directeur

Je dédie ce travail

---

A la mémoire de mon père

A Nafi, qui m'a toujours soutenu avec beaucoup d'amour et de patience,

A nos enfants Nasser et Naïla, avec tout mon amour. Tachez de faire mieux !

A ma famille, merci d'avoir été là lors des moments de doutes,

A mes amis et camarades de promotion mes pensées affectueuses.

A la fondation Infectiopole Sud qui m'a octroyé la bourse de thèse,

A l'armée Burkinabè qui m'a permis de concilier mes travaux de thèse à Montpellier avec mes activités hospitalo-universitaires à Bobo-Dioulasso,

Au pays des « hommes intègres », le Burkina Faso,

A la France mon pays d'accueil!

Je remercie Monsieur le Professeur **Guillaume ARLET** et Madame le Docteur **Marie KEMPF** d'avoir bien voulu juger ce travail et d'accepter d'en être les rapporteurs.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Messieurs les Professeurs **Philippe VAN DE PERRE** et **Nicolas MEDA** dont la collaboration m'a permis de réaliser mon projet de thèse.

Je remercie Monsieur le Professeur **Sylvain GODREUIL** et Monsieur le Docteur **Christian CARRIERE** qui m'ont accueilli au laboratoire de bactériologie et proposé ce projet de thèse. J'espère que les connaissances et compétences acquises au cours de cette thèse élargiront nos domaines de collaboration.

Je tiens à remercier très sincèrement et du fond du cœur Madame le Docteur **Hélène JEAN-PIERRE**. Pendant toutes ces années, elle m'a encadré et enseigné avec passion l'antibiotologie et toujours dans la bonne humeur. Sa disponibilité constante, sa rigueur scientifique et ses qualités humaines nous ont permis de mener à bien ce travail.

Je tiens à remercier Madame le Docteur **Dominique DECRE**, pour ces précieux conseils, son aide et sa disponibilité permanente.

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur le Professeur **Robert T. GUIGUEMDE** et Madame le Professeur **Rasmata OUEDRAOGO** qui m'ont recruté comme assistant et guident mes pas dans cette exaltante fonction d'enseignant – chercheur

Je suis très reconnaissant envers

- Mes Maîtres de la Bactériologie-virologie du Burkina Faso

Messieurs les Professeurs **Lassana SANGARE**, **Idrissa SANOU** et Monsieur le Docteur **Mahamoudou SANOU** pour les conseils éclairés et l'aide à la réalisation de ce travail.

- Mes Maîtres de la Bactériologie-virologie du Sénégal

Monsieur le Professeur **Souleymane MBOUP** pour les conseils et encouragements.

Mesdames les Professeurs **Coumba TOURE-KANE** et **Halimatou DIOP-NDIAYE** pour leur présence encourageante et réconfortante.

Je tiens à remercier **Anke** et **Christian** qui ont toujours contribué à rendre les séjours montpelliérains agréables

Un grand merci au personnel du laboratoire de Bactériologie du CHU Arnaud de Villeneuve pour leur accueil. A **Salim** et **Nicolas** pour leur participation à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi au personnel du laboratoire de Bactériologie-virologie du CHU Souro Sanou de Bobo Dioulasso et à tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre ont contribué à l'élaboration de ce travail.

## SOMMAIRE

<b>I. Résumé.....</b>	<b>1</b>
<b>II. Abstract.....</b>	<b>3</b>
<b>III. Introduction et objectifs.....</b>	<b>5</b>
<b>IV. Chapitre I : Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest: Facteurs favorisants et évaluation de la menace : Revue de la littérature.....</b>	<b>8</b>
<b>V. Chapitre II : Portage fécal d'entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases à spectre élargi chez des patients hospitalisés et des volontaires sains au Burkina Faso.....</b>	<b>38</b>
<b>VI. Chapitre III : Prévalence élevée des entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi parmi les souches cliniques isolées dans les hôpitaux du Burkina Faso.....</b>	<b>67</b>
<b>VII. Chapitre IV : Première description de plasmides IncX3 portant le gène <i>bla</i><sub>OXA-181</sub> dans des isolats cliniques de <i>Escherichia coli</i> au Burkina Faso.....</b>	<b>97</b>
<b>VIII. Chapitre V : Proportion élevée de <i>Staphylococcus aureus</i> porteurs de gènes de la leucocidine de Panton Valentin et du facteur EDIN isolés au cours du portage nasal chez des patients hospitalisés et chez des volontaires sains au Burkina Faso.....</b>	<b>112</b>
<b>IX. Conclusion/Perspectives.....</b>	<b>141</b>
<b>X. Références bibliographiques.....</b>	<b>143</b>
<b>Annexe : publications complémentaires.....</b>	<b>147</b>

## I. Résumé

La résistance aux antibiotiques demeure un problème majeur de santé publique particulièrement dans les pays en voie de développement (PVD) où les conditions d'hygiène sont encore précaires et où l'utilisation des antibiotiques est souvent abusive et très peu contrôlée. Cette thèse a pour objectif principal d'étudier la prévalence, la circulation et la caractérisation génétique des bactéries multirésistantes (BMR) dans un PVD, le Burkina Faso. Ce travail permet de mieux comprendre la propagation de ces BMR dans ce pays et de donner des informations indispensables pour les services de santé publique. Dans cette région, c'est la première étude du genre et cette thèse représente donc un travail original et informatif. A partir d'une revue de la littérature réalisée sur la problématique de l'émergence des BMR en Afrique de l'ouest, les objectifs spécifiques sont : i) d'étudier la prévalence et la caractérisation phénotypique et génotypique des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries isolées en portage et dans les processus infectieux ; ii) d'évaluer la sensibilité des entérobactéries aux carbapénèmes ; iii) de documenter la prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* (SAUR) résistant à la méticilline (SARM) ainsi que d'effectuer la caractérisation moléculaire les isolats de SAUR. Les isolats ont été prélevés par les services de santé publique au sein des 3 CHU du Burkina et ont été remis en culture au laboratoire de bactériologie du CHU de Montpellier [un total de 594 souches, 522 entérobactéries (214 en portage et 308 dans les processus infectieux) et 72 SAUR]. L'identification des espèces bactériennes repose sur la spectrométrie de masse MALDI-TOF. L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques s'appuie sur la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les BLSE et les carbapénémases chez les entérobactéries sont identifiées par méthodes moléculaires (PCR et séquençage) et la caractérisation génétique des isolats de SAUR par une technique de puce à ADN. Au Burkina Faso, les points importants sont : des taux très élevés en portage et dans les infections d'entérobactéries sécrétrices de BLSE en hospitalier et en communautaire; les antécédents de consommation d'antibiotiques ou d'hospitalisation sont des facteurs de risque de portage ; par les isolats BLSE, *Escherichia coli* est l'espèce prédominante ; la majorité des BLSE sont des CTX-M-15, suivi de CTX-M-14, 27 et SHV-12 ; l'étude des phylogroupes d'*E. coli* suggère une expansion des gènes CTX-M-15 d'origine plasmidique et non liée à une épidémie de clone ; des isolats d'*E. coli* producteurs de carbapénémase OXA-181 avec un support génétique plasmidique de type IncX3 sont identifiés. On observe un taux de portage nasal de SAUR classique avec une très faible prévalence de SARM ; on note dans une forte proportion des gènes de virulence

(Leucocidine de Panton Valentin et du facteur EDIN) parmi les SAUR en portage constituant des facteurs de risques de gravité lors des infections ; l'analyse génétique des isolats de SAUR montre une grande diversité de clones. Les études de prévalence et de génétiques apportent des informations fondamentales pour l'épidémiologie des BMR, base indispensable pour appréhender la lutte et le contrôle de ces organismes pathogènes résistants. En conclusion, ces premières études réalisées au Burkina permettent de définir les perspectives de recherche et les stratégies à développer pour le contrôle l'émergence et la diffusion de ces BMR.

**MOTS-CLES** : entérobactéries / *Staphylococcus aureus* / bactéries multirésistantes / prévalence et caractérisation génétique / BLSE / CTX-M-15 / carbapénèmase / OXA-181 / Leucocidine de Panton Valentin et du facteur EDIN / Burkina Faso

## II. Abstract

Antibiotic resistance is a major public health issue, particularly in developing countries where health conditions are still inadequate and antibiotic use is often unjustified and not properly regulated. The main objective of this thesis was to study the prevalence, spread and genetic features of multi-resistant bacteria (MRB) in Burkina Faso, a developing country. This work allows better understanding MRB spread in this country and gives essential information for the development of public health policies. This is the first study in this region and this thesis is therefore an original and informative work. Starting from a review of the literature data on the issue of MRB emergence in West Africa, the specific objectives are: i) to study the prevalence and to characterize phenotypically and genotypically the extended-spectrum beta lactamases (ESBL) in enterobacterial samples isolated from healthy carriers and during the clinical phase of infection; ii) to assess the sensitivity of such enterobacterial samples to carbapenem drugs; iii) to document the prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and to molecularly characterize all *S. aureus* isolates. Samples were collected by the public health services of three Burkina Faso University Hospital Centers (UHC) and were then cultured at the Laboratory of Bacteriology of Montpellier UHC [total n= 594 isolates of which 522 were *Enterobacteriaceae* isolates (214 from healthy carriers and 308 from patients with clinical infection) and 72 *S. aureus* isolates]. Bacterial species were identified by MALDI-TOF mass spectrometry. Antibiotic sensitivity was tested using the agar diffusion method. ESBL and carbapenemases in enterobacterial isolates were identified using molecular methods (PCR amplification and sequencing). *S. aureus* isolates were genetically characterized by using DNA arrays. This work shows that in Burkina Faso, ESBL-producing enterobacterial strains are frequent both in healthy carriers and hospitalized patients and that previous antibiotic use or hospitalizations are risk factors for colonization. Among the ESBL-producing enterobacterial strains, *Escherichia coli* was the predominant species and most ESBL-producing isolates were CTX-M-15, followed by CTX-M-14, 27 and SHV-12. The analysis of the *E. coli* phylogenetic groups suggests a plasmid-mediated spread of CTX-M-15 genes and not linked to an epidemic clone. Moreover, *E. coli* strains that produce the carbapenemase OXA-181 and with an IncX3-type plasmid have been identified. Concerning *S. aureus*, the rate of nasal carriage was classical with a low prevalence of MRSA. Among the *S. aureus* nasal samples, a high proportion of virulence genes (Panton Valentin leukocidin and EDIN) was detected. This constitutes an important risk of severe



disease during clinical infection. The genetic analysis of the *S. aureus* isolates showed great clone diversity. These data are essential for understanding MRB epidemiology in Burkina Faso and represent a base for fighting and controlling resistant pathogens. In conclusion, these first studies carried out in Burkina Faso allow defining the future research perspectives and strategies to be developed for controlling the emergence and spread of these MRB.

**KEY WORDS:** Enterobacteriaceae/ *Staphylococcus aureus*/ multi-resistant bacteria/ prevalence and genetic characterization/ ESBL/ CTX-M-15/ carbapenemase/ OXA-181/ Panton Valentin leucocidin and EDIN factor/ Burkina Faso

### III. Introduction et objectifs

Le développement et l'utilisation des antibiotiques depuis 70 ans ont permis un recul majeur en termes de mortalité et de morbidité associées aux maladies infectieuses bactériennes à travers le monde. Cependant bien que ces molécules aient sauvé des millions de patients, leur utilisation est à l'origine d'une forte antibiorésistance concernant de plus en plus d'espèces et un nombre d'antibiotiques croissant.

Dans les pays en développement (PED), la pauvreté, la malnutrition, les mauvaises conditions d'hygiène, l'accès insuffisant aux médicaments, l'absence de systèmes de soins efficaces, les crises gouvernementales, les guerres civiles et les déplacements fréquents de population ont considérablement contribué à l'émergence et à la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans ces régions du monde (9). Cette résistance aux antibiotiques n'a pas épargné ces pays défavorisés touchant particulièrement les agents pathogènes les plus fréquemment isolés (2).

La production de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) est le mécanisme de multirésistance le plus répandu chez les entérobactéries (4). Ces enzymes qui hydrolysent les pénicillines et les céphalosporines à large spectre dérivent initialement des pénicillinases à spectre étroit plasmidiques et étaient principalement retrouvés chez des souches hospitalières de *Klebsiella pneumoniae* (5). A partir de 1995, de «nouvelles» BLSE de type CTX-M ont émergé de façon explosive et ont complètement changé la situation épidémiologique au niveau mondial. Elles diffusent en effet chez toutes les espèces d'entérobactéries à l'hôpital comme dans la communauté grâce à une épidémie de plasmides et/ou d'autres éléments génétiques mobiles combinée à une expansion clonale (18). De plus, ces plasmides porteurs du gène de la BLSE hébergent également d'autres gènes de résistance conférant à la très grande majorité des entérobactéries BLSE des résistances aux autres familles d'antibiotiques, notamment au cotrimoxazole, aux fluoroquinolones et aux aminosides (3). Cette multirésistance des entérobactéries BLSE a entraîné la prescription en clinique des carbapénèmes. L'introduction des carbapénèmes a favorisé l'émergence de carbapénémases inactivant ces antibiotiques, dernières molécules de l'arsenal thérapeutique pour combattre les entérobactéries (13).

Chez les staphylocoques, la multirésistance concerne la résistance à la méticilline. Cette résistance à la méticilline est conférée par l'acquisition d'une cassette chromosomique SCC *mec* portant le gène *mecA*, qui code une protéine membranaire additionnelle (PLP2a) dont

l'affinité pour les bêta-lactamines est très faible, entraînant une résistance croisée à toutes les molécules de cette famille. Initialement, un petit nombre de clones de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), dénommées "Hospital-Acquired" SARM (HA-SARM), a diffusé très largement de manière épidémique dans les hôpitaux, à l'échelle nationale, continentale, voire mondiale (15). Ces clones nosocomiaux ne sont que rarement isolés hors de l'hôpital. Depuis la fin des années 90, de nouveaux clones de SARM, dits «Community-Acquired» (CA-SARM), ont émergé sans lien avec les clones HA-SARM, et ont diffusé dans la communauté. Un ou des clones de CA-SARM ont diffusé de manière indépendante et plus spécifique sur chaque continent (Europe, Amérique du Nord et Asie Océanie). On peut notamment citer le clone USA300 aux USA, ou le clone ST80 en Europe (15). Certains d'entre eux sont hautement épidémiques et portent des facteurs de virulence, notamment des gènes codant des toxines [toxine de Panton Valentine (PVL) ou toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1)] à l'origine d'infections pulmonaires et cutanées suppuratives et/ou nécrosantes sévères (12). La menace concernant toutes ces bactéries multirésistantes est particulièrement inquiétante dans les pays en développement où les infections bactériennes sont endémiques. Il est donc urgent de mettre place et d'adapter dans ces pays à ressources limitées, des stratégies qui ont déjà montré leur efficacité dans la lutte contre l'émergence et la diffusion des bactéries multirésistantes. Ces actions doivent proposer une approche globale intégrant en particulier: i) une meilleure maîtrise de la chaîne des médicaments, allant du contrôle de qualité des molécules antibiotiques (origine, stockage, contre façon...), en passant par des prescriptions rationalisées (formation des soignants indispensables); ii) une amélioration des outils diagnostiques dédiés aux maladies infectieuses bactériennes ainsi qu'une évaluation systématique de la sensibilité *in vitro* aux antibiotiques (antibiogrammes); iii) le développement d'une surveillance nationale des BMR avec une mise en réseau de structures sentinelles; (iv) la publication de recommandations nationales pour le bon usage des antibiotiques (22).

Le Burkina Faso est un pays à faibles ressources situé dans la partie ouest du continent africain, plus précisément dans la boucle du Niger, au nord du golfe de Guinée. C'est un pays enclavé d'une superficie de 274 000 km<sup>2</sup> avec une population d'environ 18 millions d'habitants. Bien qu'ayant augmenté ses effectifs de santé entre 2006 et 2010, le pays n'en dispose pas suffisamment pour répondre aux besoins croissants de sa population. On compte moins d'un (0,45) médecin pour 10 000 habitants, 3,57 infirmiers pour 10 000 habitants, et 2,39 sages-femmes pour 10 000 habitants. Ces conditions socio-économiques et sanitaires

faibles rendent difficile le contrôle des maladies, notamment les infections qui ont un coût énorme en terme de morbidité et de mortalité. Selon les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), les maladies infectieuses bactériennes sont la 3<sup>ème</sup> cause de décès dans le pays après le paludisme et la malnutrition (21). Outre le déficit de couverture sanitaire, la résistance des bactéries aux antibiotiques pourrait constituer un facteur aggravant dont les conséquences se mesurent en termes de difficultés thérapeutiques accrues dans certaines situations cliniques. Malheureusement, il n'existe pas dans le pays de réseau de surveillance de la résistance pour fournir des données statistiques sur la prévalence des souches bactériennes multirésistantes. Quelques études seulement rendent compte de la résistance aux antibiotiques responsables d'échecs cliniques (6, 8, 10, 16, 17).

L'acquisition des données sur la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue donc la pierre angulaire pour élaborer une stratégie de contrôle de la résistance antimicrobienne au Burkina Faso. Nos travaux se sont donc focalisés essentiellement sur l'étude de la prévalence, de la circulation et de la caractérisation génétique des bactéries multirésistantes au Burkina Faso. Sur la base de notre revue de la littérature, notre travail de thèse avait trois objectifs. Le premier était d'étudier la prévalence et la caractérisation phénotypique et génotypique des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries isolées en portage et dans les processus infectieux au Burkina Faso. Sur cette base, notre deuxième objectif était d'étudier la sensibilité des entérobactéries aux carbapénèmes. Notre troisième objectif était de documenter le portage nasal de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Dans ce dernier travail, nous avons étudié aussi les caractéristiques moléculaires des *S. aureus* isolés en portage nasal.

**CHAPITRE I :**

**EMERGENCE ET DIFFUSION DE LA RESISTANCE  
AUX ANTIBIOTIQUES EN AFRIQUE DE L'OUEST :  
FACTEURS FAVORISANTS ET EVALUATION DE LA  
MENACE**

## Préambule

L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique aussi bien dans les pays développés (PD) que dans les pays en développement (PED). A l'échelle mondiale, la principale cause d'émergence est une consommation non raisonnée des antibiotiques. Dans les PVD comme ceux de l'Afrique de l'ouest, d'autres facteurs, plus spécifiques, socio-économiques et comportementaux, contribuent à exacerber cette menace. Cette revue propose une mise à jour des facteurs communs et spécifiques des PED et particulièrement ceux d'Afrique de l'Ouest, impliqués dans l'amplification des phénomènes de résistance aux antibiotiques. Parmi ces éléments, on peut citer : i) certaines pratiques sociétales fréquentes comme l'automédication; ii) une filière médicale défaillante avec des prescripteurs insuffisamment formés et des outils diagnostiques peu performants; iii) ou encore, une filière du médicament non contrôlée avec des antibiotiques en vente libre, stockés inadéquatement, contrefaits et/ou périmés. La menace est particulièrement inquiétante concernant la sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries avec des prévalences variant de 10 à 100% et de 30 à 50% respectivement pour la colonisation et les processus infectieux. La même tendance est observée pour la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries avec des taux de 10 à 30%, ou encore pour la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* qui est supérieure à 30%. Au regard de ces résultats inquiétants, un plan de lutte efficace s'impose dans ces régions. Les stratégies d'intervention doivent être intégrées et cibler simultanément les décideurs, les prescripteurs et les utilisateurs.

Manuscript Number:

Title: Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : Facteurs favorisant et évaluation de la menace  
Emergence and spread of antibiotics resistance in western Africa: promoting factors and evaluation of the threat

Article Type: Revue generale

Section/Category: Microbiologie

Keywords: Résistance, émergence, facteurs favorisant, Afrique de l'Ouest, enterobacterie

Corresponding Author: Dr Abdoul-Salam Ouédraogo,

Corresponding Author's Institution: Centre Hospitalier Universitaire Sourou Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

First Author: Abdoul-Salam Ouédraogo

Order of Authors: Abdoul-Salam Ouédraogo; Jean-Pierre Jean-Pierre ; Anne-Laure Bañuls ; Rasmata Ouédraogo ; sylvain godreuil

Abstract: L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace majeure de santé publique aussi bien dans les pays développés (PD) que dans les pays en développement (PED). A l'échelle mondiale, la principale cause d'émergence est une consommation non raisonnée des antibiotiques. Dans les PVD comme ceux de l'Afrique de l'ouest, d'autres facteurs, plus spécifiques, socio-économiques et comportementaux, contribuent à exacerber cette menace. Cette revue propose une mise à jour des facteurs communs et spécifiques des PED et particulièrement ceux d'Afrique de l'Ouest, impliqués dans l'amplification des phénomènes de résistance aux antibiotiques. Parmi ces éléments, on peut citer : i) certaines pratiques sociétales fréquentes comme l'automédication ; ii) une filière médicale défaillante avec des prescripteurs insuffisamment formés et des outils diagnostiques peu performants ; iii) ou encore, une filière du médicament non contrôlée avec des antibiotiques en vente libre, stockés inadéquatement, contrefaits et/ou périmés. La menace est particulièrement inquiétante concernant la sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi chez les entérobactéries avec des prévalences variant de 10 à 100% et de 30 à 50% respectivement pour la colonisation et les processus infectieux. La même tendance est observée pour la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries avec des taux de 10 à 30%, ou encore pour la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* qui est supérieure à 30%. A regard de ces résultats inquiétants, un plan de lutte efficace s'impose dans ces régions. Les stratégies d'intervention doivent être intégrées et cibler simultanément les décideurs, les prescripteurs et les utilisateurs.

1           **Emergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l’Ouest :**

2                           **Facteurs favorisants et évaluation de la menace**

3                           **Emergence and spread of antibiotics resistance in western Africa:**

4                           **promoting factors and evaluation of the threat**

5

6

7   Ouédraogo Abdoul-Salam<sup>1,2,3,4</sup>, Jean-Pierre Hélène<sup>2</sup>, Bañuls Anne-Laure<sup>5</sup>, Ouédraogo

8   Rasmata<sup>1</sup>, Godreuil Sylvain<sup>2,3,4,5</sup>

9

10

11   <sup>1</sup>Service de bactériologie-virologie, Département des laboratoires ; Centre Hospitalier

12   Universitaire Souro Sanou, BP 676, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

13   <sup>2</sup>Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Montpellier, Département de Bactériologie-

14   Virologie, Montpellier, France

15   <sup>3</sup>Université Montpellier, Montpellier, France

16   <sup>4</sup>INSERM U 1058, Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from

17   pathogenesis to prevention, Montpellier, France

18   <sup>5</sup>MIVEGEC, UMR IRD 224-CNRS 5290-Université de Montpellier 1 et 2, Montpellier,

19   France

20

21   **Corresponding author:** Ouédraogo Abdoul-Salam, Service de bactériologie-virologie,

22   Département des laboratoires, Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, BP 676, Bobo

23   Dioulasso, Burkina Faso

24   **Phone: +33 662894717. Fax: +33 467 33 58 93. E-mail: abdousal2000@yahoo.fr**



25

26 **Mots clefs :** Résistance, émergence, facteurs favorisants, Afrique de l'Ouest

27 **Key words:** Resistance, spread, promoting factors, western Africa,

28 **Résumé: 250 mots**

29 **Texte: 4380 words**

30

31 **Résumé**

32 L'émergence et la diffusion de la résistance aux antibiotiques représentent une menace  
33 majeure de santé publique aussi bien dans les pays développés (PD) que dans les pays en  
34 développement (PED). A l'échelle mondiale, la principale cause d'émergence est une  
35 consommation non raisonnée des antibiotiques. Dans les PVD comme ceux de l'Afrique de  
36 l'ouest, d'autres facteurs, plus spécifiques, socio-économiques et comportementaux,  
37 contribuent à exacerber cette menace. Cette revue propose une mise à jour des facteurs  
38 communs et spécifiques des PED et particulièrement ceux d'Afrique de l'Ouest, impliqués  
39 dans l'amplification des phénomènes de résistance aux antibiotiques. Parmi ces éléments, on  
40 peut citer : i) certaines pratiques sociétales fréquentes comme l'automédication ; ii) une filière  
41 médicale défaillante avec des prescripteurs insuffisamment formés et des outils diagnostiques  
42 peu performants ; iii) ou encore, une filière du médicament non contrôlée avec des  
43 antibiotiques en vente libre, stockés inadéquatement, contrefaits et/ou périmés. La menace est  
44 particulièrement inquiétante concernant la sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi chez  
45 les entérobactéries avec des prévalences variant de 10 à 100% et de 30 à 50% respectivement  
46 pour la colonisation et les processus infectieux. La même tendance est observée pour la  
47 résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries avec des taux de 10 à 30%, ou encore  
48 pour la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus* qui est supérieure à 30%. A  
49 regard de ces résultats inquiétants, un plan de lutte efficace s'impose dans ces régions. Les

50 stratégies d'intervention doivent être intégrées et cibler simultanément les décideurs, les  
51 prescripteurs et les utilisateurs.

52

### 53 **Summary**

54 The emergence and spread of antibiotic resistance represent a major public health issue in  
55 both developed (DC) and less developed countries (LCD). Worldwide, the main cause of  
56 antibiotic resistance emergence is the uncontrolled and unjustified use of antibiotics. In  
57 countries with limited resources, such as West African nations, other features, more  
58 specifically socio-economic and behavioural factors, contribute to exacerbate this problem.  
59 The objective of this review article is to give an update on the common and specific factors  
60 involved in the amplification of antibiotic resistance phenomena in LCD, particularly in West  
61 African countries. Particularly, some frequent society behaviours (such as self-medication),  
62 inadequate healthcare infrastructure (prescribers who are not sufficiently trained and poorly  
63 performing diagnostic tools), and also badly regulated drug sector (antibiotics sold over-the-  
64 counter, badly stored, counterfeited and/or past the date) strongly promote the emergence of  
65 antibiotic resistance. This risk is particularly worrying concerning the appearance of  
66 enterobacteriaceae that produce large spectrum lactamases (10 to 100% of colonization and  
67 30 to 50% of infections). A similar trend has been observed for resistance to carbapenems in  
68 enterobacteriaceae with rates going from 10 to 30%, or for resistance to meticillin in  
69 *Staphylococcus aureus*, which is higher than 30%. Based on these worrying observations,  
70 effective health policies are required in these regions. These intervention strategies must be  
71 integrated and simultaneously target policy makers, prescribers and users.

72

73

74

## 1 1. Introduction

2 L'émergence et la diffusion des résistances aux antibiotiques représentent une réelle menace  
3 pour la santé publique mondiale. Les données récentes de la bibliographie abondent de  
4 descriptions de bactéries multirésistantes voire toto-résistantes aux antibiotiques dont le  
5 nombre ne cesse de croître aussi bien dans les pays industrialisés que dans les pays en  
6 développement (1). La situation est alarmante dans les pays à ressources limitées où les  
7 maladies infectieuses, la pauvreté et la malnutrition sont endémiques. L'émergence des  
8 résistances aux antibiotiques est un processus complexe impliquant souvent les facteurs de  
9 l'hôte, des facteurs environnementaux et du pathogène (2).

10 Dans les pays d'Afrique de l'Ouest, l'endémicité des infections respiratoires, des méningites  
11 bactériennes, des diarrhées et des autres maladies infectieuses ont augmenté la consommation  
12 d'antibiotiques tant dans le cadre des traitements symptomatiques que de la prophylaxie (3,  
13 4). De plus, les lacunes dans le domaine de la santé notamment en termes de ressources  
14 humaines et/ou de capacité diagnostique conjuguées à un accès non réglementé aux  
15 antibiotiques contribuent au développement de la résistance bactérienne(3-6) . Dans ce  
16 contexte d'escalade de la résistance aux antibiotiques, il ne faut pas oublier le problème  
17 qu'engendre également leur utilisation dans la filière animale(7, 8).

18 Malgré l'importance du problème et de ses conséquences sanitaires et économiques, rares sont  
19 les pays d'Afrique de l'ouest qui disposent de programme national de surveillance et de lutte  
20 contre la résistance comme le recommande l'organisation mondiale de la santé (OMS) (9).

21 Par ailleurs, le niveau de la recherche sur la résistance aux antibiotiques dans ces pays reste  
22 encore trop faible. De rares données évaluent l'impact de différents facteurs sur le niveau de  
23 résistance antimicrobienne observé à l'heure actuelle (3, 6, 10) dans les pays en  
24 développement (PED) et en particulier en Afrique de l'Ouest. L'objectif de cette revue est de  
25 mettre en exergue les facteurs majeurs impliqués dans l'émergence, l'amplification et la

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

diffusion de la résistance aux antibiotiques et aussi de décrire l'ampleur de la menace à travers une analyse de données récentes issues de différents pays à ressources limitées en particulier ceux d'Afrique de l'Ouest. Nous nous sommes focalisés sur quelques résistances majeures et émergentes qui représentent un défi quotidien, à savoir la résistance par sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE), la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries et la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus*.

## **2. Le sous-développement, un facteur d'émergence et de diffusion de la résistance**

Bien que l'apparition de la résistance à un antibiotique soit un phénomène biologique naturel, un bon nombre de facteurs liés au sous-développement contribuent non seulement à amplifier le processus mais aussi à la diffusion de cette résistance (10). Ces facteurs peuvent être liés à des déficiences dans le système médical (personnels, infrastructures), à l'usage inapproprié des antibiotiques, aux conditions socio-économiques, à l'antibiothérapie dans la filière animale. Nous verrons ci-dessous, quelques un de ces points.

### ***2.1. Les conditions socio-économiques défavorables***

Le facteur le plus important favorisant l'émergence de la résistance dans les pays en développement est la pauvreté (3-10). En effet, les conditions économiques défavorables associent la malnutrition, l'inaccessibilité à l'eau potable et aux bonnes conditions d'hygiène ; ce qui augmente chez ces populations le risque d'acquérir des infections et le risque de transmission des bactéries résistantes. En outre, le manque d'informations, l'inaccessibilité aux outils diagnostiques et aux soins de santé appropriés ne favorisent pas une bonne prise en charge de ces infections. Par ailleurs, la pauvreté ne permet pas à une majorité de cette population d'avoir accès à des traitements antibiotiques de qualité. Une étude Ougandaise a montré que la pauvreté était responsable des arrêts prématurés de traitements chez certains patients ou au partage d'une dose unique de traitement par une famille entière (10).

## 51 ***2.2. Le manque de ressources humaines qualifiées***

52 En Afrique de l’Ouest comme dans la plupart des pays à ressources limitées, les services de  
53 santé ne possèdent pas suffisamment de personnels formés dans le domaine de l’infectiologie,  
54 de la microbiologie ou de l’épidémiologie capables de poser un diagnostic et de proposer un  
55 traitement antibiotique adapté aux infections bactériennes (11). De ce fait, de nombreux  
56 patients sont traités avec des antibiothérapies inadéquates et parfois avec des doses sous  
57 optimales. Dans ce contexte, ces traitements empiriques ont bien trop souvent peu ou pas  
58 d’effet sur l’infection bactérienne mais peuvent contribuer à la sélection de mutants résistants  
59 aux antibiotiques utilisés (12).

## 60 ***2.3. Le manque d’infrastructure pour le diagnostic étiologique et l’évaluation de la*** 61 ***résistance aux antibiotiques***

62 La prescription des antibiotiques exige une bonne approche diagnostique incluant  
63 l’établissement d’un diagnostic étiologique soit par l’isolement et l’identification de l’agent  
64 infectieux, soit par des tests de sérologie permettant d’établir le contact avec le pathogène (13,  
65 14). Dans les pays à ressources faibles, ces options diagnostiques sont limitées car, en  
66 général, il existe très peu de structures de santé qui disposent de laboratoires appropriés.  
67 Quand ils existent, ils sont classiquement peu équipés et ne permettent que de faire des  
68 examens de base comme la microscopie. Dans ces conditions, la plupart des traitements sont  
69 présomptifs et basés sur les données de la littérature issues de pays développés qui ne  
70 partagent pas forcément la même écologie microbienne et peuvent donc être mal adaptés.

## 71 ***2.4. L’absence de réseaux nationaux et régionaux de surveillance de la résistance***

72 A cause du manque de ressources humaines qualifiées et de l’absence de capacité de  
73 diagnostic microbiologique de routine, il n’existe pas de système de surveillance de la  
74 résistance dans la plupart des pays à ressources limitées comme ceux d’Afrique de l’Ouest.  
75 Pourtant, cette surveillance pourrait contribuer à générer des données fondamentales et à

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

76 évaluer l'ampleur de la résistance. L'absence de ces données essentielles empêche la mise en  
77 place de stratégies adaptées et la révision régulière des protocoles thérapeutiques. Elle  
78 entraîne aussi la multiplication des prescriptions antibiotiques non adaptées par des  
79 prescripteurs très souvent peu qualifiés.

## 80 ***2.5. L'usage inapproprié et la filière non sécurisée des antibiotiques***

81 L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable  
82 de l'émergence de la résistance aux antibiotiques. Dans les PED, l'endémicité des maladies  
83 infectieuses, le nombre croissant de personnes présentant des déficits immunitaires plus  
84 marqués et l'utilisation accrue des procédures invasives augmentent la consommation des  
85 antibiotiques (15). Il est clair que dans ces pays, de nombreux facteurs concourent parfois à  
86 une utilisation non rationnelle de ces antibiotiques (16).

87 **L'absence de réglementation pour l'acquisition des antibiotiques :** L'absence de règles  
88 rigoureuses pour l'acquisition des antibiotiques dans les PED fait que tout le monde peut  
89 avoir accès à des antibiotiques même à large spectre en dehors de toute prescription médicale  
90 (17, 18). Dans tous les pays d'Afrique de l'Ouest, les antibiotiques sont vendus, tout comme  
91 beaucoup d'autres médicaments, dans les marchés populaires. Ces médicaments sont connus  
92 sous le terme « médicaments de la rue » (11). De nombreux patients, pour des raisons  
93 d'inaccessibilité aux services de santé ou de problèmes financiers se procurent les  
94 antibiotiques directement sur les marchés parallèles. Ils commencent le traitement et quand  
95 ils se sentent mieux, l'interrompent pour conserver les tablettes restant pour une autre fois ou  
96 encore pour les passer à une autre personne (11). L'automédication et l'ignorance favorisent  
97 ce partage d'antibiotiques entre individus basé sur des signes cliniques similaires.

98 **La variété des antibiotiques qui circulent :** Bien qu'il se pose parfois le problème de  
99 disponibilité de certains antibiotiques de dernière ligne dans les pays pauvres, les  
100 antibiotiques courants circulent de manière intensive et peuvent provenir de sources

101 d'approvisionnement très variées. Dans la plupart de ces pays, les médicaments sont importés  
102 de l'extérieur (19). Pour une même molécule, on peut retrouver plusieurs formes galéniques  
103 distribuées par des laboratoires différents. La promotion compétitive de ces firmes est parfois  
104 source de pression sur les prescripteurs avec souvent pour conséquence un abus dans les  
105 ordonnances délivrées aux malades. De plus, la variété des formes galéniques peut entraîner  
106 des confusions chez les prescripteurs et les patients dans l'utilisation appropriée de ces  
107 antibiotiques.

**108 La qualité des antibiotiques :** La qualité des antibiotiques tout comme beaucoup d'autres  
109 médicaments dans les PED est très souvent en dessous des standards requis. Cette mauvaise  
110 qualité des antibiotiques entraîne en plus du risque d'échec thérapeutique, l'augmentation de  
111 la sélection de mutants résistants. Les causes de cette mauvaise qualité des médicaments  
112 incluent principalement la recherche de profit par les firmes pharmaceutiques qui mettent sur  
113 le marché de ces pays, des médicaments parfois sous dosés en principe actif ou même  
114 contrefaits (20, 21). Malheureusement, très peu de pays disposent d'agence de régulation pour  
115 surveiller la qualité des médicaments. L'utilisation de ces antibiotiques inefficaces amplifie la  
116 résistance avec nécessité de recourir à des antibiotiques plus coûteux et plus toxiques (22). Un  
117 autre facteur non moins important qui contribue à réduire en partie ou en totalité la qualité des  
118 antibiotiques dans les pays chauds et humides en Afrique au sud du Sahara est la mauvaise  
119 conservation. En effet, beaucoup d'antibiotiques sont sensibles à la chaleur et l'humidité donc  
120 aptes à se détériorer sous certaines conditions climatiques (23-25). La conservation  
121 convenable des antibiotiques est chère et requiert aussi des personnels qualifiés dont les pays  
122 d'Afrique de l'Ouest ne disposent pas.

## 123 ***2.6. L'antibiothérapie dans la filière animale***

124 L'utilisation d'antibiotiques dans la filière animale à but thérapeutique, prophylactique ou  
125 comme additifs alimentaires contribue largement à l'émergence de la résistance aux

126 antibiotiques aussi bien chez les animaux que chez l'homme. Des études épidémiologiques ont  
127 montré que l'alimentation d'origine animale est la source de la majorité des infections par  
128 *Campylobacter*, *Yersinia*, *Escherichia coli* (26, 27), des salmonelles non-typhiques (26) et  
129 bien d'autres pathogènes. Ces études, tout comme d'autres, ont aussi prouvé que l'utilisation  
130 des antibiotiques dans la filière animale constituait une pression de sélection et favoriserait la  
131 transmission de mutants résistants à l'homme soit par contact direct, soit par l'alimentation  
132 (28, 29). Dans les PED l'utilisation des antibiotiques comme des promoteurs de croissance est  
133 limitée, par contre leur utilisation en prophylaxie et thérapeutique est très répandue (30).  
134 Cependant encore plus qu'en médecine humaine, les pays à ressources limitées ne disposent  
135 pas de cliniques vétérinaires permettant des diagnostics cliniques et biologiques pour  
136 superviser l'utilisation des antibiotiques chez les animaux.

137

### 138 **3. Ampleur du problème de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest**

139 L'Afrique de l'Ouest s'étend du Sénégal au Nigeria (Figure 1) et inclut des pays parmi les  
140 moins développés du monde tels que le Bénin, le Burkina Faso, la Côte d'Ivoire, la Gambie,  
141 le Ghana, la Guinée, la Guinée-Bissau, le Cap-Vert, le Liberia, le Mali, la Mauritanie, le  
142 Niger, la Sierra Leone et le Togo. La résistance aux antibiotiques dans cette région à l'image  
143 de ceux décrits à travers le monde concerne principalement les bactéries produisant des  
144 BLSE avec émergence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes ainsi que la  
145 résistance de *Staphylococcus aureus* à la méticilline (31).

#### 146 **3.1. Les entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à Spectre Elargi (BLSE)**

147 Les BLSE hydrolysent toutes les bêta-lactamines à l'exception des céphamycines et des  
148 carbapénèmes (32). La production de BLSE est le mécanisme de multirésistance le plus  
149 répandu chez les entérobactéries (33). Ces enzymes dérivent initialement des pénicillinases à  
150 spectre étroit plasmidiques (Temoneira (TEM) 1/2 et Sulfhydryl Variable (SHV)-1) par



151 modification de leur site actif. Elles ont été observées principalement chez des souches  
152 hospitalières de *Klebsiella pneumoniae* (34). L'apparition des Cefotaximases-Munich (CTX-  
153 M) au cours des dernières décennies a changé considérablement l'épidémiologie des BLSE à  
154 l'hôpital mais aussi dans la communauté. Pour les CTX-M, les mécanismes de diffusion sont  
155 devenus plus complexes avec la diffusion de plasmides (épidémies de plasmides) et/ou  
156 d'autres éléments génétiques mobiles combinée à l'expansion clonale classique (33-35). Il a  
157 été ainsi mis en évidence que *E. coli* CTX-M (notamment productrice de l'enzyme CTX-M-  
158 15) circule majoritairement de manière clonale et que les clones, ST131, ST95, ST69, ST393,  
159 ST405 et ST10 constituent actuellement les *E. coli* fécaux dominants chez l'homme (34). De  
160 plus, le portage digestif de souches productrices de BLSE est devenu non négligeable avec un  
161 réservoir animal de BLSE important (35). Cette diffusion des CTX-M chez *E. coli*, principale  
162 entérobactérie symbiotique de l'homme et excrétée chaque jour à hauteur de  $10^{20}$  unités  
163 formant colonies (UFC), constitue d'une part, un nouveau péril fécal et d'autre part, un  
164 réservoir important de BLSE pour les autres espèces d'entérobactéries qui colonisent ou  
165 transitent par le tube digestif humain (36).

166 Les BLSE constituent du fait de leur mode de diffusion, une menace importante pour les pays  
167 d'Afrique de l'Ouest où les conditions socio-économiques faibles ont pour conséquences des  
168 conditions d'hygiène défaillantes, favorisant la diffusion de la résistance. Quelques études  
169 dans la région illustrent l'ampleur du problème tant au niveau du portage sain que parmi les  
170 souches impliquées dans les processus infectieux (voir ci-dessous).

171 **Portage digestif d'entérobactéries productrices de BLSE :** La prévalence de la  
172 colonisation par des entérobactéries productrices de BLSE chez les sujets sains dans les pays  
173 d'Afrique de l'Ouest varie entre 10 et 100% (37, 38). Une étude réalisée sur 20 enfants vivant  
174 dans un village du Sénégal, montrait, sur la base des coprocultures, une prévalence de 10%  
175 d'*E. coli* BLSE (36). En Guinée Bissau, le portage de BLSE était de 32.6% chez des enfants

176 de moins de 5 ans (37). Au cours d'une étude similaire dans un orphelinat au Mali, les auteurs  
177 ont trouvé une prévalence qui variait de 63% chez les membres du personnel à 100% chez les  
178 enfants (39). Au sein de la population hospitalière, la prévalence du portage de BLSE était de  
179 10,3% au Nigeria (40), de 21.46% dans un hôpital au Mali (41) et de 31% chez les enfants  
180 hospitalisés pour malnutrition au Niger (42).

**Entérobactéries productrices de BLSE au cours des processus infectieux :** L'absence de  
surveillance de routine dans la plupart des pays et dans la région d'Afrique de l'Ouest ne  
permet pas d'estimer correctement les proportions de BLSE parmi les souches isolées au  
cours des processus infectieux. Toutefois, certaines études rendent compte de la réalité du  
problème. Au Ghana, la moitié des entérobactéries (49,4%) isolées des diverses infections  
diagnostiquées à l'hôpital Korle-Bu étaient productrices de BLSE (43). Même si au Nigéria,  
les prévalences rapportées sont relativement moins élevées (10-27%) (44, 45), la prévalence  
des entérobactéries productrices de BLSE dans les pays de la région reste, en général, très  
inquiétante. Au Bénin, on estime à 35% la proportion des souches d'*E. coli* responsables  
d'infections nosocomiales productrices de BLSE (46). Au Togo, 66% des souches de *E. coli*  
dans les infections urinaires avaient le phénotype BLSE (47).

**Les gènes de BLSE circulant en Afrique de l'Ouest :** Dans toutes les études citées, le CTX-  
M-15 est l'enzyme la plus retrouvée aussi bien dans les souches circulant dans  
l'environnement hospitalier qu'au sein de la communauté (48). L'émergence et la diffusion  
des BLSE dans les pays d'Afrique de l'Ouest sont donc liées à l'expansion mondiale du type  
CTX-M-15 (49). Parmi les autres BLSE de type CTX-M, on a retrouvé CTX-M-14 au Mali  
(41), CTX-M-3 au Nigéria (50) et au Sénégal (51). Les autres enzymes qui ont été décrites  
sont SHV-3 (52) et SHV-12, apparues ces dernières années et détectées dans divers isolats du  
Mali (52) et du Nigeria (53). Tous ces plasmides porteurs du gène de la BLSE hébergent  
également d'autres gènes de résistance conférant à la très grande majorité des entérobactéries

201 BLSE des résistances aux autres familles d'antibiotiques, notamment au cotrimoxazole, aux  
202 fluoroquinolones et aux aminosides (54). Cette multi-résistance des entérobactéries BLSE a  
203 entraîné la prescription en clinique des carbapénèmes. Au moment même où l'usage des  
204 carbapénèmes s'est fait plus massif, les bactéries productrices de carbapénémases ont émergé  
205 (55).

### 3.2. *Emergence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes*

207 Les carbapénèmes sont une classe d'antibiotiques appartenant à la famille des bêtalactamines  
208 et ayant un spectre d'activité plus large. Elles sont actives sur la plupart des bacilles à Gram  
209 négatif, notamment les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter*  
210 *baumannii*. Les carbapénèmes ont un usage exclusivement hospitalier et sont prescrits dans le  
211 traitement des infections à bactéries multirésistantes. La résistance aux carbapénèmes chez les  
212 entérobactéries s'explique soit par un défaut de perméabilité membranaire soit principalement  
213 par inactivation enzymatique de l'antibiotique suite à la production de carbapénémases (56).

214 L'émergence de ces enzymes est décrite de façon croissante dans le monde entier et constitue  
215 un réel problème de santé publique car les carbapénèmes sont très souvent les dernières  
216 molécules actives de l'arsenal thérapeutique disponible pour combattre les bactéries  
217 multirésistantes.

218 **Les différents types de carbapénémases :** Les carbapénémases sont des bêta-lactamases  
219 ayant une activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes. Elles appartiennent à trois classes  
220 principales (57). La classe A correspond principalement aux enzymes de type *K. pneumoniae*  
221 productrice de carbapénémase (KPC), imipénémase (IMI) et Guyana Extended Spectrum  
222 (GES). Elles ont la particularité de voir leur activité *in vitro* totalement ou partiellement  
223 inhibée par l'acide clavulanique et l'acide borique. Elles hydrolysent toutes les bêta-  
224 lactamines. La classe B correspond aux métallo-bêta-lactamases (MBLs) de type Verona  
225 Integron encoded Metallo- $\beta$ -lactamase (VIM), imipénémase (IMP) et New-Dehli métallo- $\beta$ -

226 lactamase (NDM). Ces enzymes hydrolysent très fortement toutes les  $\beta$ -lactamines à  
227 l'exception de l'aztréonam. Leur activité n'est pas affectée par les inhibiteurs suicides de  $\beta$ -  
228 lactamases. Ce sont des métallo-enzymes qui contiennent un ion zinc dans leur site actif  
229 expliquant leur inhibition par l'EDTA ou l'acide dipicolinique. La classe D correspond  
230 essentiellement aux enzymes de types oxacillinasés comprenant OXA-48, qui présentent 5  
231 variants (OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-204, OXA-232 (58, 59) et les enzymes  
232 récemment décrites OXA-244 et OXA-245 (60). Ces enzymes hydrolysent fortement les  
233 carbapénèmes mais pas ou peu les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (à l'exception d'OXA-  
234 163) (58). Elles sont résistantes aux inhibiteurs suicides de  $\beta$ -lactamases. Toutefois, leur  
235 présence est souvent couplée à la présence de BLSE, ce qui conduit à une multirésistance de  
236 ces souches sécrétrices.

237 **Epidémiologie des carbapénèmases en Afrique de l'Ouest :** L'épidémiologie des  
238 carbapénèmases est très peu connue dans les pays d'Afrique de l'Ouest. Du fait de la faible  
239 capacité des laboratoires, il y a peu de travaux sur un échantillon de souches consécutives  
240 permettant d'estimer les prévalences. Seulement trois études au Nigeria ont rapporté des  
241 prévalences variables selon le niveau des soins : ainsi dans les hôpitaux régionaux, la  
242 prévalence est d'environ 10% (61, 62) contre 36% dans les hôpitaux de référence (50). Des  
243 souches productrices de carbapénèmases ont été également notifiées en Sierra Léone (63) et  
244 au Sénégal (64, 65). Dans ces différentes études, il a été démontré que les différents types de  
245 carbapénèmases déjà décrits ailleurs dans le monde (66) circulent dans la région.

### 246 **3.3. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline**

247 *Staphylococcus aureus* est à la fois un germe commensal et un agent pathogène majeur de  
248 l'homme. On estime qu'environ un tiers de la population saine est porteur de *S. aureus* dans  
249 les narines (67). Comme agent pathogène, *S. aureus* est impliqué dans des infections  
250 communautaires et des infections acquises en milieu hospitalier. Il s'agit d'infections très

251 polymorphes, allant d'atteintes cutanées bénignes comme les furoncles ou les panaris à des  
1  
2 252 pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les endocardites, les  
3  
4 253 pneumopathies et les infections du système nerveux central (68). Par ailleurs *S. aureus* est  
5  
6  
7 254 responsable de syndromes liés à l'action de ses toxines comme l'intoxication alimentaire et le  
8  
9 255 syndrome du choc toxique (68). Les principaux facteurs de risque d'infection sont le portage  
10  
11 256 nasal et toute rupture de la barrière cutanéomuqueuse favorisant la pénétration du germe  
12  
13  
14 257 (69). Le traitement des infections à *S. aureus* se complique ces dernières années avec  
15  
16  
17 258 l'émergence mondiale des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) (70).  
18  
19 259 L'épidémiologie des *S. aureus* a montré que l'émergence et la diffusion mondiale de SARM  
20  
21 260 communautaires sont liées à une expansion de clones spécifiques à chaque continent : Le  
22  
23  
24 261 ST300 est retrouvé majoritairement aux USA, le ST59 en Asie, et le ST80 est considéré  
25  
26  
27 262 comme le clone Européen (71). En Afrique, la diversité culturelle et géographique a un  
28  
29 263 impact significatif sur l'épidémiologie de *S. aureus*. La distribution des clones est ainsi  
30  
31 264 hétérogène sur le continent (72). En Afrique de l'ouest circulent principalement le ST5 et le  
32  
33  
34 265 ST15 (72). En ce qui concerne la résistance à la méticilline, les fréquences varient d'un pays à  
35  
36 266 un autre mais reste en général élevé : 16% au Sénégal et au Niger (73), de 20 à 47% au  
37  
38  
39 267 Nigeria (74, 75) de 36% au Bénin (76) et de 35,7% au Togo (77). En Côte d'Ivoire une étude  
40  
41 268 dans trois hôpitaux de référence a rapporté un taux de 39% (73) témoignant de l'ampleur du  
42  
43  
44 269 problème des SARM dans la région Ouest Africaine.

45  
46 270

#### 47 48 271 **4. Quelles stratégies pour contenir l'émergence de la résistance aux antibiotiques ?**

49  
50  
51 272 L'émergence de la résistance aux antibiotiques engendre de graves conséquences sanitaires et  
52  
53 273 économiques (78). Elle est responsable d'une augmentation de la morbidité et de la mortalité,  
54  
55  
56 274 de la durée d'hospitalisation et conduit à utiliser des médicaments plus onéreux et souvent  
57  
58 275 plus toxiques. La conséquence sur le plan économique est une augmentation des coûts des  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

276 soins de santé. Une étude cas-témoins sur la résistance aux céphalosporines de troisième  
277 génération (C3G) chez des espèces d'*Enterobacter* au Canada a démontré que l'émergence de  
278 la résistance était associée à une augmentation de la mortalité (risque relatif : 5,02 ;  $p = 0,01$ ),  
279 à la durée d'hospitalisation (1,5 fois,  $p < 0,001$ ) et aux coûts hospitaliers (1,5 fois,  $p < 0,001$ ).  
280 En particulier, elle a été corrélée à une durée médiane d'hospitalisation de neuf jours et à des  
281 coûts hospitaliers moyens de 29.379 \$ (79). Par ailleurs, ces longues hospitalisations  
282 entraînent une diminution de la productivité. Un plan de lutte efficace contre la résistance aux  
283 antibiotiques s'impose s'appuyant sur des approches multidisciplinaires et complémentaires  
284 telles que développées ci-dessous.

#### 285 **4.1. La prévention des infections**

286 Dans les PED, la prévention des infections passe par l'amélioration des conditions d'hygiène  
287 individuelles, collectives et environnementales. Il s'agit du lavage des mains, de l'hygiène  
288 alimentaire, corporelle et vestimentaire qui permettent au niveau individuel de se protéger  
289 contre les infections. Au niveau collectif et environnemental, les points cruciaux sont  
290 l'approvisionnement en eau potable, l'évacuation des eaux usées et la lutte contre le péril  
291 fécal, cause majeure de nombreuses infections telles que le choléra, la fièvre typhoïde et les  
292 infections dues aux entérobactéries. Des études ont montré que dans les pays à ressources  
293 limitées, l'hygiène des mains et l'approvisionnement en eau potable permettraient de réduire  
294 de 47% les diarrhées tout en ayant des effets bénéfiques sur la prévention des infections  
295 respiratoires communautaires (80, 81). Au niveau hospitalier, c'est le respect, aussi bien par  
296 les soignants que par les patients, des règles de prévention des infections comme la limitation  
297 des « échanges de poignées de mains », le retrait rapide des cathéters et le renouvellement  
298 fréquent des sondes urinaires. Par ailleurs, les programmes de prévention spécifiques par la  
299 vaccination s'avèrent essentiels contre les maladies évitables par l'immunisation.

#### 300 **4.2. La consommation judicieuse des antibiotiques**

301 La mauvaise utilisation des antibiotiques, leur usage abusif voire inapproprié (traitements trop  
1  
2 302 courts, posologies insuffisantes) ou les niveaux d'activité trop faibles pour certains  
3  
4 303 antibiotiques de mauvaise qualité ou mal conservés augmentent considérablement la  
5  
6  
7 304 probabilité qu'une bactérie ou autres micro-organismes soient sélectionnés et deviennent  
8  
9 305 résistants aux antibiotiques. Pour prévenir la résistance, il faut donc un usage éclairé des  
10  
11 306 antibiotiques qui se définit par le choix de l'antibiotique optimal vis-à-vis du microorganisme  
12  
13 307 visé, de la dose, du rythme d'administration et de la durée du traitement ayant pour objectif  
14  
15  
16 308 final une évolution clinique satisfaisante en termes de thérapie ou de prévention. Les  
17  
18 309 molécules de faible toxicité et ayant un risque limité d'entraîner des résistances doivent bien  
19  
20 310 sûr être privilégiées (82). En Afrique de l'Ouest, cette utilisation avisée des antibiotiques  
21  
22 311 implique une double action : La formation des prescripteurs et la mise en place de techniques  
23  
24 312 de laboratoire permettant un diagnostic adéquat de l'infection avec identification rapide du  
25  
26 313 pathogène et évaluation de sa sensibilité aux antimicrobiens. Ce diagnostic guidera le  
27  
28 314 clinicien pour le choix du traitement car dans l'incertitude, la pression pour la prescription  
29  
30 315 d'un antibiotique à large spectre est forte ; ne pas le prescrire alors qu'il est réellement requis  
31  
32 316 aurait également des conséquences graves.

38  
39 317 De plus, la consommation rationnelle des antibiotiques dans les PED nécessite un  
40  
41 318 environnement de santé publique robuste pour la sécurisation des médicaments en général et  
42  
43 319 des antibiotiques en particulier. Dans la plupart des pays, il s'agira d'entreprendre des  
44  
45 320 réformes drastiques visant à contrôler rigoureusement la mise sur le marché des antibiotiques,  
46  
47 321 réglementer leur dispensation aux populations et procéder à la sanctuarisation des  
48  
49 322 antibiotiques à large spectre aux structures hospitalières

### 53 323 ***4.3. La prévention de la transmission de la résistance***

54  
55 324 Elle consiste grâce au dépistage des patients et du personnel colonisés ou infectés, de réduire  
56  
57 325 la transmission des micro-organismes résistants d'une personne à une autre par des mesures

326 d'isolement et/ou d'hygiène dont le lavage des mains, le port de gants, de masques et de  
1  
2 327 blouses. L'identification précoce permet de réduire la diffusion de la résistance à plus grande  
3  
4 328 échelle à travers la communication entre les établissements de soins lors du transfert de  
5  
6  
7 329 patient d'une structure à une autre et la mise en place rapide de stratégies thérapeutiques  
8  
9  
10 330 rapides.

#### 11 331 ***4. 4. La surveillance de la résistance***

12 332 Les deux déterminants de l'émergence et de la diffusion de la résistance bactérienne aux  
13  
14 333 antibiotiques sont : l'exposition de la population aux antibiotiques et la transmission inter  
15  
16  
17 334 individuelle et par l'environnement de souches résistantes. La surveillance est essentielle pour  
18  
19  
20 335 connaître l'ampleur du problème et surveiller l'impact des programmes de lutte contre la  
21  
22  
23 336 résistance. Pour être efficace, la surveillance est nécessaire au niveau local et national. Au  
24  
25  
26 337 niveau local, l'information disponible sur la résistance doit être utilisée dans les hôpitaux pour  
27  
28  
29 338 mettre à jour les traitements et pour guider le contrôle de la résistance. Au niveau national,  
30  
31  
32 339 l'information sur l'évolution de la résistance recueillie dans chacune des provinces et des  
33  
34 340 régions peut servir à mettre à jour les listes de médicaments essentiels et les directives  
35  
36 341 nationales de traitement, et à évaluer les effets des différentes stratégies de traitement mises  
37  
38  
39 342 en place. L'observatoire de la résistance des micro-organismes aux anti-infectieux en Côte  
40  
41 343 d'Ivoire (ORMI-CI) est un exemple de réseau national de surveillance dans la région qui a été  
42  
43  
44 344 créé en 2002 et qui a contribué efficacement à lutter contre la prévalence de la résistance aux  
45  
46 345 antibiotiques dans ce pays.

47  
48  
49 346

#### 50 51 347 **5. Conclusion**

52  
53 348 Les pays d'Afrique de l'Ouest font face comme le reste du monde à un grave problème  
54  
55  
56 349 d'émergence des résistances aux antibiotiques. Nombre de facteurs incluant l'état sanitaire et  
57  
58 350 le niveau d'éducation des populations, le niveau de formation des prescripteurs, les  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

351 infrastructures et la qualité des antibiotiques dispensés favorisent leur émergence et leur  
352 propagation. Les stratégies d'intervention doivent être intégrées et cibler simultanément les  
353 décideurs, les prescripteurs et les utilisateurs.

354  
355  
356  
357  
358  
359  
360  
361  
362  
363  
364  
365  
366  
367  
368  
369  
370

371 **Contribution des auteurs**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

372 AS. O a rédigé le manuscrit. H. J-P; AL. B ; R. O et S. G. ont effectué la relecture et les  
373 corrections du manuscrit.

374 **Déclaration**

375 Aucun conflit d'intérêt n'est à déclarer.

376

377

378

379

380

381

382

383

384

385

386

387

388

389

390

391

392 **Références**

- 1  
2  
3 393 1. Rossolini GM, Mantengoli E. Antimicrobial resistance in Europe and its potential  
4  
5 394 impact on empirical therapy. *Clin Microbiol Infect.* 2008 Dec;14 Suppl 6:2-8.  
6  
7  
8 395 2. Aminov RI. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the  
9  
10 396 future. *Front Microbiol.* 2010;1:134.  
11  
12  
13 397 3. Alsan M, Schoemaker L, Eggleston K, Kammili N, Kolli P, Bhattacharya J. Out-of-  
14  
15 398 pocket health expenditures and antimicrobial resistance in low-income and middle-income  
16  
17 399 countries: an economic analysis. *Lancet Infect Dis.* 2015 Oct;15(10):1203-10.  
18  
19  
20 400 4. Hounsa A DMP. [Knowledge and perceptions of staff working in private dispensaries  
21  
22 401 in Abidjan as regards bacterial resistance]. *Ann Pharm Fr* 2009;67(4):284-90.  
23  
24  
25 402 5. Group GARPG-KW. Situation Analysis and Recommendations: Antibiotic Use and  
26  
27 403 Resistance in Kenya. 2011; 2011. p. 21-71.  
28  
29  
30 404 6. Okeke IN, Aboderin OA, Byarugaba DK, Ojo KK, Opintan JA. Growing problem of  
31  
32 405 multidrug-resistant enteric pathogens in Africa. *Emerg Infect Dis.* 2007 Nov;13(11):1640-6.  
33  
34  
35 406 7. (EPN) EPN. An Exploratory Pilot Study on Knowledge, Attitudes and Perceptions  
36  
37 407 Concerning Antimicrobial Resistance and Antibiotic Use Practices among Hospital Staff in  
38  
39 408 Kenya.  
40  
41  
42 409 Nairobi.[http://www.cddep.org/publications/exploratory\\_pilot\\_study\\_knowledge\\_attitudes\\_an](http://www.cddep.org/publications/exploratory_pilot_study_knowledge_attitudes_and_perceptions_concerning_antimicrobial)  
43  
44 410 [d\\_perceptions\\_concerning\\_antimicrobial](http://www.cddep.org/publications/exploratory_pilot_study_knowledge_attitudes_and_perceptions_concerning_antimicrobial). 2010:1-24.  
45  
46  
47 411 8. Omulo S, Thumbi SM, Njenga MK, Call DR. A review of 40 years of enteric  
48  
49 412 antimicrobial resistance research in Eastern Africa: what can be done better? *Antimicrob*  
50  
51 413 *Resist Infect Control.* 2015;4:1.  
52  
53  
54 414 9. WHO. Surveillance Standards for Antimicrobial Resistance. 2002.  
55  
56 415 <http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/whocdscsrdrs20015>. pdf (23 March,  
57  
58 416 date last accessed). 2002; 2002.  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
- 417 10. Byarugaba DK. A view on antimicrobial resistance in developing countries and  
418 responsible risk factors. *Int J Antimicrob Agents*. 2004 Aug;24(2):105-10.
  - 419 11. Sirinavin S, Dowell SF. Antimicrobial resistance in countries with limited resources:  
420 unique challenges and limited alternatives. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2004 Apr;15(2):94-8.
  - 421 12. Laxminarayan R BZ, Duse A, et al. Drug resistance. New York: Oxford University  
422 Press; 2006.
  - 423 13. Okeke IN, Klugman KP, Bhutta ZA, Duse AG, Jenkins P, O'Brien TF, et al.  
424 Antimicrobial resistance in developing countries. Part II: strategies for containment. *Lancet*  
425 *Infect Dis*. 2005 Sep;5(9):568-80.
  - 426 14. Shapiro RL, Kumar L, Phillips-Howard P, Wells JG, Adcock P, Brooks J, et al.  
427 Antimicrobial-resistant bacterial diarrhea in rural western Kenya. *J Infect Dis*. 2001 Jun  
428 1;183(11):1701-4.
  - 429 15. Shears P. Antibiotic resistance in the tropics. *Epidemiology and surveillance of*  
430 *antimicrobial resistance in the tropics*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2001 Mar-Apr;95(2):127-  
431 30.
  - 432 16. Okeke IN, Lamikanra A, Edelman R. Socioeconomic and behavioral factors leading to  
433 acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerg Infect Dis*. 1999  
434 Jan-Feb;5(1):18-27.
  - 435 17. Nugent R, Okeke IN. When medicines fail: recommendations for curbing antibiotic  
436 resistance. *J Infect Dev Ctries*. 2010 Jun;4(6):355-6.
  - 437 18. Nugent R BE, Beith A. Center for Global Development's Drug Resistance Working  
438 Group. The race against drug resistance. [http://www.cgdev.org/publication/race-against-drug-](http://www.cgdev.org/publication/race-against-drug-resistance)  
439 [resistance](http://www.cgdev.org/publication/race-against-drug-resistance) (accessed Nov 1, 2013). 2010; 2010.

- 440 19. Folb P DM. Pharmaceutical policies in sub-Saharan Africa. What more can be done?  
1  
2 441 World Bank, Africa Technical Department, Population, Health and Nutrition Division. 1994;  
3  
4 442 1994.  
5  
6  
7 443 20. E W. . Counterfeit and substandard drugs in Myanmar and Vietnam. Geneva: WHO,  
8  
9 444 1999.; 1999; 1999.  
10  
11  
12 445 21. WHO. Counterfeit drugs: A report of a joint WHO/IFMPA workshop. Geneva: WHO,  
13  
14 446 1992.; 1992; 1992.  
15  
16  
17 447 22. Planta MB. The role of poverty in antimicrobial resistance. J Am Board Fam Med.  
18  
19 448 2007 Nov-Dec;20(6):533-9.  
20  
21  
22 449 23. Okeke IN, Lamikanra A. Quality and bioavailability of tetracycline capsules in a  
23  
24 450 Nigerian semi-urban community. Int J Antimicrob Agents. 1995 Jul;5(4):245-50.  
25  
26  
27 451 24. Shakoor O, Taylor RB, Behrens RH. Assessment of the incidence of substandard  
28  
29 452 drugs in developing countries. Trop Med Int Health. 1997 Sep;2(9):839-45.  
30  
31  
32 453 25. Taylor RB, Shakoor O, Behrens RH, Everard M, Low AS, Wangboonskul J, et al.  
33  
34 454 Pharmacopoeial quality of drugs supplied by Nigerian pharmacies. Lancet. 2001 Jun  
35  
36 455 16;357(9272):1933-6.  
37  
38  
39 456 26. Angulo FJ, Johnson KR, Tauxe RV, Cohen ML. Origins and consequences of  
40  
41 457 antimicrobial-resistant nontyphoidal Salmonella: implications for the use of fluoroquinolones  
42  
43 458 in food animals. Microb Drug Resist. 2000 Spring;6(1):77-83.  
44  
45  
46 459 27. Schroeder CM, Meng J, Zhao S, DebRoy C, Torcolini J, Zhao C, et al. Antimicrobial  
47  
48 460 resistance of Escherichia coli O26, O103, O111, O128, and O145 from animals and humans.  
49  
50  
51 461 Emerg Infect Dis. 2002 Dec;8(12):1409-14.  
52  
53  
54 462 28. Aarestrup FM. Association between the consumption of antimicrobial agents in animal  
55  
56 463 husbandry and the occurrence of resistant bacteria among food animals. Int J Antimicrob  
57  
58 464 Agents. 1999 Aug;12(4):279-85.  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
- 465 29. Aarestrup FM, Seyfarth AM, Emborg HD, Pedersen K, Hendriksen RS, Bager F.  
466 Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence  
467 of antimicrobial resistance in fecal enterococci from food animals in Denmark. *Antimicrob*  
468 *Agents Chemother.* 2001 Jul;45(7):2054-9.
- 469 30. Mitema ES, Kikuvi GM, Wegener HC, Stohr K. An assessment of antimicrobial  
470 consumption in food producing animals in Kenya. *J Vet Pharmacol Ther.* 2001  
471 Dec;24(6):385-90.
- 472 31. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing  
473 Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008  
474 Mar;8(3):159-66.
- 475 32. Colodner R, Raz R. Extended-spectrum beta-lactamases: the end of cephalosporins?  
476 *Isr Med Assoc J.* 2005 May;7(5):336-8.
- 477 33. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence  
478 and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe.  
479 *Clin Microbiol Infect.* 2008 Jan;14 Suppl 1:144-53.
- 480 34. Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin*  
481 *Microbiol Infect.* 2008 Jan;14 Suppl 1:11-32.
- 482 35. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-  
483 spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2008 Jan;14 Suppl 1:33-41.
- 484 36. M-H N-C. Les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi: où  
485 sont les dangers? *Réanimation.* 2012;21:260-7.
- 486 37. Isendahl J, Turlej-Rogacka A, Manjuba C, Rodrigues A, Giske CG, Naucler P. Fecal  
487 carriage of ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* in children in Guinea-Bissau: a  
488 hospital-based cross-sectional study. *PLoS One.* 2012;7(12):e51981.

- 489 38. Ruppe E, Woerther PL, Diop A, Sene AM, Da Costa A, Arlet G, et al. Carriage of  
1 CTX-M-15-producing *Escherichia coli* isolates among children living in a remote village in  
2 490 Senegal. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Jul;53(7):3135-7.  
3  
4 491  
5  
6  
7 492 39. Tande D, Jallot N, Bougoudogo F, Montagnon T, Gouriou S, Sizun J. Extended-  
8  
9 493 spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in a Malian orphanage. *Emerg Infect*  
10  
11 494 *Dis*. 2009 Mar;15(3):472-4.  
12  
13  
14 495 40. Olowe OA, Grobbel M, Buchter B, Lubke-Becker A, Fruth A, Wieler LH. Detection  
15  
16 496 of bla(CTX-M-15) extended-spectrum beta-lactamase genes in *Escherichia coli* from hospital  
17  
18 497 patients in Nigeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Feb;35(2):206-7.  
19  
20  
21 498 41. Duval V, Maiga I, Maiga A, Guillard T, Brasme L, Forte D, et al. High prevalence of  
22  
23 499 CTX-M-type beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bamako, Mali.  
24  
25 500 *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Nov;53(11):4957-8.  
26  
27  
28 501 42. Woerther PL, Angebault C, Jacquier H, Hugede HC, Janssens AC, Sayadi S, et al.  
29  
30 502 Massive increase, spread, and exchange of extended spectrum beta-lactamase-encoding genes  
31  
32 503 among intestinal *Enterobacteriaceae* in hospitalized children with severe acute malnutrition in  
33  
34 504 Niger. *Clin Infect Dis*. 2011 Oct;53(7):677-85.  
35  
36  
37  
38 505 43. Feglo P, Adu-Sarkodie Y, Ayisi L, Jain R, Spurbeck RR, Springman AC, et al.  
39  
40 506 Emergence of a novel extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL)-producing,  
41  
42 507 fluoroquinolone-resistant clone of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in Kumasi,  
43  
44 508 Ghana. *J Clin Microbiol*. 2013 Feb;51(2):728-30.  
45  
46  
47  
48 509 44. Afunwa RA, Odimegwu DC, Iroha RI, Esimone CO. Antimicrobial resistance status  
49  
50 510 and prevalence rates of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producers isolated from a  
51  
52 511 mixed human population. *Bosn J Basic Med Sci*. 2011 May;11(2):91-6.  
53  
54  
55 512 45. Suh Yah C. Plasmid-encoded multidrug resistance: A case study of *Salmonella* and  
56  
57 513 *Shigella* from enteric diarrhea sources among humans. *Biol Res*. 2010;43(2):141-8.  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 514 46. Anago E, Ayi-Fanou L, Akpovi CD, Hounkpe WB, Agassounon-Djikpo Tchiboza M,  
1  
2 515 Bankole HS, et al. Antibiotic resistance and genotype of beta-lactamase producing  
3  
4 516 *Escherichia coli* in nosocomial infections in Cotonou, Benin. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*  
5  
6  
7 517 2015;14:5.  
8
- 9 518 47. Togo Y, Kubo T, Taoka R, Hiyama Y, Uehara T, Hashimoto J, et al. Occurrence of  
10  
11 519 infection following prostate biopsy procedures in Japan: Japanese Research Group for Urinary  
12  
13 520 Tract Infection (JRGU) - a multi-center retrospective study. *J Infect Chemother.* 2014  
14  
15 521 Apr;20(4):232-7.  
16  
17 522 48. Storberg V. ESBL-producing Enterobacteriaceae in Africa - a non-systematic  
18  
19 523 literature review of research published 2008-2012. *Infect Ecol Epidemiol.* 2014;4.  
20  
21  
22 524 49. Hara T, Sato T, Horiyama T, Kanazawa S, Yamaguchi T, Maki H. Prevalence and  
23  
24 525 molecular characterization of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing  
25  
26 526 *Escherichia coli* from 2000 to 2010 in Japan. *Jpn J Antibiot.* 2015 Apr;68(2):75-84.  
27  
28  
29 527 50. Ogbolu DO, Daini OA, Ogunledun A, Alli AO, Webber MA. High levels of multidrug  
30  
31 528 resistance in clinical isolates of Gram-negative pathogens from Nigeria. *Int J Antimicrob*  
32  
33 529 *Agents.* 2011 Jan;37(1):62-6.  
34  
35  
36 530 51. Breurec S, Guessennd N, Timinouni M, Le TA, Cao V, Ngandjio A, et al. *Klebsiella*  
37  
38 531 *pneumoniae* resistant to third-generation cephalosporins in five African and two Vietnamese  
39  
40 532 major towns: multiclonal population structure with two major international clonal groups,  
41  
42 533 CG15 and CG258. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Apr;19(4):349-55.  
43  
44  
45 534 52. Tande D, Boisrame-Gastrin S, Munck MR, Hery-Arnaud G, Gouriou S, Jallot N, et al.  
46  
47 535 Intrafamilial transmission of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli*  
48  
49 536 and *Salmonella enterica* Babelsberg among the families of internationally adopted children. *J*  
50  
51 537 *Antimicrob Chemother.* 2010 May;65(5):859-65.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65



- 538 53. Kasap M, Fashae K, Torol S, Kolayli F, Budak F, Vahaboglu H. Characterization of  
1  
2 539 ESBL (SHV-12) producing clinical isolate of *Enterobacter aerogenes* from a tertiary care  
3  
4 540 hospital in Nigeria. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2010;9:1.  
5  
6  
7 541 54. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol.*  
8  
9 542 2006 Oct;9(5):466-75.  
10  
11  
12 543 55. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global spread of Carbapenemase-producing  
13  
14 544 *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* 2011 Oct;17(10):1791-8.  
15  
16  
17 545 56. Nordmann P. [Gram-negative bacteria with resistance to carbapenems]. *Med Sci*  
18  
19 546 (Paris). 2010 Nov;26(11):950-9.  
20  
21  
22 547 57. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers  
23  
24 548 among *Enterobacteriaceae* worldwide. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Sep;20(9):821-30.  
25  
26  
27 549 58. Poirel L, Castanheira M, Carrer A, Rodriguez CP, Jones RN, Smayevsky J, et al.  
28  
29 550 OXA-163, an OXA-48-related class D beta-lactamase with extended activity toward  
30  
31 551 expanded-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Jun;55(6):2546-51.  
32  
33  
34 552 59. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace.  
35  
36 553 *J Antimicrob Chemother.* 2012 Jul;67(7):1597-606.  
37  
38  
39 554 60. Oteo J, Hernandez JM, Espasa M, Fleites A, Saez D, Bautista V, et al. Emergence of  
40  
41 555 OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and  
42  
43 556 OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother.* 2013 Feb;68(2):317-21.  
44  
45  
46 557 61. Motayo BO, Akinduti PA, Adeyakinu FA, Okerentugba PO, Nwanze JC, Onoh CC, et  
47  
48 558 al. Antibigram and plasmid profiling of carbapenemase and extended spectrum Beta-  
49  
50 559 lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Abeokuta, South  
51  
52 560 western, Nigeria. *Afr Health Sci.* 2013 Dec;13(4):1091-7.  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 561 62. Yusuf I, Arzai AH, Haruna M, Sharif AA, Getso MI. Detection of multi drug resistant  
1  
2 562 bacteria in major hospitals in Kano, North-West, Nigeria. *Braz J Microbiol.* 2014;45(3):791-  
3  
4 563 8.  
5  
6  
7 564 63. Leski TA, Bangura U, Jimmy DH, Ansumana R, Lizewski SE, Li RW, et al.  
8  
9 565 Identification of blaOXA-(5)(1)-like, blaOXA-(5)(8), blaDIM-(1), and blaVIM  
10  
11 566 carbapenemase genes in hospital Enterobacteriaceae isolates from Sierra Leone. *J Clin*  
12  
13 567 *Microbiol.* 2013 Jul;51(7):2435-8.  
14  
15  
16 568 64. Diene SM, Fall B, Kempf M, Fenollar F, Sow K, Niang B, et al. Emergence of the  
17  
18 569 OXA-23 carbapenemase-encoding gene in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*  
19  
20 570 clinical isolates from the Principal Hospital of Dakar, Senegal. *Int J Infect Dis.* 2013  
21  
22 571 Mar;17(3):e209-10.  
23  
24  
25 572 65. Kempf M, Rolain JM, Diatta G, Azza S, Samb B, Mediannikov O, et al. Carbapenem  
26  
27 573 resistance and *Acinetobacter baumannii* in Senegal: the paradigm of a common phenomenon  
28  
29 574 in natural reservoirs. *PLoS One.* 2012;7(6):e39495.  
30  
31  
32 575 66. Manenzhe RI, Zar HJ, Nicol MP, Kaba M. The spread of carbapenemase-producing  
33  
34 576 bacteria in Africa: a systematic review. *J Antimicrob Chemother.* 2015 Jan;70(1):23-40.  
35  
36  
37 577 67. Kaspar U, Kriegeskorte A, Schubert T, Peters G, Rudack C, Pieper DH, et al. The  
38  
39 578 culturome of the human nose habitats reveals individual bacterial fingerprint patterns. *Environ*  
40  
41 579 *Microbiol.* 2015 Apr 28.  
42  
43  
44 580 68. Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, et al. Antibiotic  
45  
46 581 resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiol.*  
47  
48 582 2011;11:92.  
49  
50  
51 583 69. Wertheim HF, Vos MC, Ott A, van Belkum A, Voss A, Kluytmans JA, et al. Risk and  
52  
53 584 outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-  
54  
55 585 carriers. *Lancet.* 2004 Aug 21-27;364(9435):703-5.  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 586 70. Holden MT, Hsu LY, Kurt K, Weinert LA, Mather AE, Harris SR, et al. A genomic  
1  
2 587 portrait of the emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant  
3  
4 588 *Staphylococcus aureus* pandemic. *Genome Res.* 2013 Apr;23(4):653-64.  
5  
6  
7 589 71. Fluit AC, Carpaij N, Majoor EA, Weinstein RA, Aroutcheva A, Rice TW, et al.  
8  
9 590 Comparison of an ST80 MRSA strain from the USA with European ST80 strains. *J*  
10  
11 591 *Antimicrob Chemother.* 2015 Mar;70(3):664-9.  
12  
13  
14 592 72. Schaumburg F, Alabi AS, Peters G, Becker K. New epidemiology of *Staphylococcus*  
15  
16 593 *aureus* infection in Africa. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Jul;20(7):589-96.  
17  
18  
19 594 73. Breurec S, Zriouil SB, Fall C, Boisier P, Brisse S, Djibo S, et al. Epidemiology of  
20  
21 595 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* lineages in five major African towns: emergence  
22  
23 596 and spread of atypical clones. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Feb;17(2):160-5.  
24  
25  
26 597 74. Akerele JO, Obasuyi O, Onyeagwara N, Ottih I. Methicillin-Resistant *Staphylococcus*  
27  
28 598 *aureus* (MRSA):An Emerging Phenomenon among non-Hospitalized Otorhinolaryngological  
29  
30 599 Patients in Benin City, Nigeria. *West Afr J Med.* 2014 Oct-Dec;33(4):276-9.  
31  
32  
33  
34 600 75. Ghebremedhin B, Olugbosi MO, Raji AM, Layer F, Bakare RA, Konig B, et al.  
35  
36 601 Emergence of a community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain with  
37  
38 602 a unique resistance profile in Southwest Nigeria. *J Clin Microbiol.* 2009 Sep;47(9):2975-80.  
39  
40  
41 603 76. Ahoyo AT, Baba-Moussa L, Makoutode M, Gbohoun A, Bossou R, Dramane K, et al.  
42  
43 604 [Incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in neonatal care unit of departmental  
44  
45 605 hospital centre of Zou Collines in Benin]. *Arch Pediatr.* 2006 Nov;13(11):1391-6.  
46  
47  
48 606 77. Kombate K, Dagnra AY, Saka B, Mouhari-Toure A, Akakpo S, Tchangai-Walla K, et  
49  
50 607 al. [Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in community-acquired skin  
51  
52 608 infections in Lome, Togo]. *Med Trop (Mars).* 2011 Feb;71(1):68-70.  
53  
54  
55 609 78. Kollef MH. Gram-negative bacterial resistance: evolving patterns and treatment  
56  
57 610 paradigms. *Clin Infect Dis.* 2005 Feb 15;40 Suppl 2:S85-8.  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 611 79. Cosgrove SE, Kaye KS, Eliopoulous GM, Carmeli Y. Health and economic outcomes  
1 of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. Arch  
2 612 of the emergence of third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacter* species. Arch  
3  
4 613 Intern Med. 2002 Jan 28;162(2):185-90.  
5  
6  
7 614 80. Birmingham ME, Lee LA, Ntakibirora M, Bizimana F, Deming MS. A household  
8  
9 615 survey of dysentery in Burundi: implications for the current pandemic in sub-Saharan Africa.  
10  
11 616 Bull World Health Organ. 1997;75(1):45-53.  
12  
13  
14 617 81. Curtis V, Cairncross S. Effect of washing hands with soap on diarrhoea risk in the  
15  
16 618 community: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2003 May;3(5):275-81.  
17  
18  
19 619 82. Gerding DN, Larson TA, Hughes RA, Weiler M, Shanholtzer C, Peterson LR.  
20  
21 620 Aminoglycoside resistance and aminoglycoside usage: ten years of experience in one hospital.  
22  
23 621 Antimicrob Agents Chemother. 1991 Jul;35(7):1284-90.  
24  
25

26 622

27 623



Figure 1 : Carte de l'Afrique de l'Ouest

Figure 1 : West Africa Map

**CHAPITRE II :**

**PORTAGE FECAL D'ENTEROBACTERIES  
SECRETRICES DE BETALACTAMASES A SPECTRE  
ELARGI CHEZ DES PATIENTS HOSPITALISES ET  
DES VOLONTAIRES SAINS AU BURKINA FASO**

## Préambule

A notre connaissance, aucune donnée sur la prévalence du portage d'entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi (E-BLSE) n'est disponible en milieu hospitalier ou communautaire au Burkina Faso. Cette étude visait à déterminer la prévalence et analyser les facteurs de risque de colonisation par les E-BLSE chez des patients hospitalisés depuis plus de 48 heures et chez des individus sains apparemment en bonne santé dans la communauté de Bobo Dioulasso, capitale économique du pays.

Au total, 214 échantillons de selles provenant de 101 volontaires sains et 113 patients hospitalisés ont été analysés. La moyenne d'âge des patients était de  $21,9 \pm 7,1$  ans; 43% étaient des hommes. La durée moyenne du séjour à l'hôpital chez les patients hospitalisés était de  $10,3 \pm 11,2$  jours. Pendant la période de l'étude, la prévalence du portage était de 32% (69/214); 22% parmi les volontaires sains et 42% parmi les hospitalisés ( $p=0,002$ ). Toutes les BLSE sauf deux, étaient des CTX-M-15 et *Escherichia coli* l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée (78%). L'analyse des 60 souches de *E. coli* BLSE a montré que 26% appartenaient au phylogroupe D, 23,3% au phylogroupe A, 20% au phylogroupe B1 et 6,6% au phylogroupe B2 dont 2 étaient de séquence type (ST) 131. Il ressort de l'analyse des facteurs de risque, que l'hospitalisation dans l'année précédente et la consommation des antibiotiques au cours des 3 derniers mois sont associées chez les volontaires sains à un risque de colonisation par une E-BLSE.

Les résultats de ce travail ont montré une prévalence importante du portage fécal d'E-BLSE chez les patients hospitalisés et une prévalence non négligeable chez les volontaires sains dans la communauté de Bobo Dioulasso. La caractérisation des gènes montre une importante dissémination des CTX-M-15 sans expansion de clones.

Microbial Drug Resistance: <http://mc.manuscriptcentral.com/mdr>

**Faecal carriage of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases in hospitalized patients and healthy community volunteers in Burkina Faso**

Journal:	<i>Microbial Drug Resistance</i>
Manuscript ID	MDR-2015-0356
Manuscript Type:	Epidemiology
Date Submitted by the Author:	23-Dec-2015
Complete List of Authors:	<p>OUEDRAOGO, Abdoul-Salam; Centre Hospitalier Universitaire Sanou Souro; Centre Hospitalier Universitaire Sanou Souro, Laboratoire; Universite de Montpellier Faculte de Medecine; INSERM U1058 Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention</p> <p>SANOU, Soufiane; CHU Souro Sanou</p> <p>KISSOU, Aimée; CHU Souro Sanou</p> <p>PODA, Armel; CHU Souro Sanou</p> <p>ABERKANE, Salim; CHU Arnaud de Villeneuve , Bactériologie Virologie ; Universite de Montpellier Faculte de Medecine; INSERM U1058 Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention</p> <p>BOUZINBI, Nicolas; CHU Arnaud de Villeneuve , Bactériologie Virologie ; Universite de Montpellier Faculte de Medecine; INSERM U1058 Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention</p> <p>NACRO, Boubacar ; CHU Souro Sanou</p> <p>OUEDRAOGO, Rasmata; Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles De Gaules</p> <p>VAN DE PERRE, Philippe ; CHU Arnaud De Villeneuve, Bactériologie-virologie; Universite de Montpellier Faculte de Medecine; INSERM U1058 Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention</p> <p>CARRIERE, Christian ; CHU Arnaud De Villeneuve; Universite de Montpellier Faculte de Medecine; INSERM U1058 Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention</p> <p>Decre, Dominique; Universite Pierre et Marie Curie Paris 6, UFR de Médecine, Laboratoire de Bacteriologie</p> <p>JEAN PIERRE, Hélène; CHU Arnaud DE Villeneuve</p> <p>Godreuil, Sylvain ; INSERM U1058 , Department of Bacteriology-Virology</p>
Keyword:	Enterobacteriaceae, ESBL, Molecular Characterization, Antibiotics, Enzymes Genes
Abstract:	<p>Extended-spectrum <math>\beta</math>-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) have been described worldwide, but few reports focused on Burkina Faso. To assess the prevalence of digestive carriage of such bacteria in the community and in the hospital, 214 faecal samples, 101 from healthy</p>



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

	<p>volunteers and 113 from hospitalized patients without digestive pathology were collected in Bobo Dioulasso, Burkina Faso economic capital, during July and August 2014. Stool samples were screened using ESBL agar plates. Strains were identified by Mass Spectrometry using the BioTyper MALDI-TOF. ESBL production was confirmed with the double-disc synergy test. Susceptibility was tested using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar. The main ESBL genes were detected using multiplex PCR and bidirectional gene sequencing. Escherichia coli phylogenetic groups were identified using a PCR-based method. During the study period, prevalence of subjects with faecal ESBL-PE was 32% (69/214), 22% among healthy volunteers and 42% among inpatients. All ESBL but two were CTX-M-15 and ESBL-PE were mostly E. coli (78%). Among the 60 ESBL-producing E. coli strains, 26.% belonged to phylogenetic group D, 23.3% to group A, 20% to group B1, 6.6% to group B2, and 3.3% to the ST131 clone. Univariate analysis showed that history of hospitalization and previous antibiotic use were risk factors associated with ESBL-PE faecal carriage. In Burkina Faso, the prevalence of both healthy subjects from the community and hospitalized patients with faecal ESBL-PE is alarmingly high. This feature should be taken into consideration by both general practitioners and hospital doctors with regard to empirical treatments of infections, notably urinary tracts infections.</p>

SCHOLARONE™  
Manuscripts

Not for Distribution

1  
2  
3 1 **Faecal carriage of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases in**  
4  
5 2 **hospitalized patients and healthy community volunteers in Burkina Faso**  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22

4 Ouédraogo Abdoul-Salam<sup>1,2,3,4</sup>, Sanou Soufiane<sup>1</sup>, Kissou Aimée<sup>1</sup>, Poda Armel<sup>1</sup>, Aberkane  
5 Salim<sup>2,3,4</sup>, Bouzinbi Nicolas<sup>2,3,4</sup>, Nacro Boubacar<sup>1</sup>, Ouédraogo Rasmata<sup>1</sup>, Van De Perre  
6 Philippe<sup>2,3,4</sup>, Carriere Christian<sup>2,3,4</sup>, Decré Dominique<sup>5,6,7</sup>, Jean-Pierre Hélène<sup>2</sup> and Godreuil  
7 Sylvain<sup>2,3,4</sup>  
8

9 <sup>1</sup>Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

10 <sup>2</sup>Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Montpellier, Département de  
11 Bactériologie-Virologie, Montpellier, France

12 <sup>3</sup>Université Montpellier 1, Montpellier, France

13 <sup>4</sup>INSERM U 1058, Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from  
14 pathogenesis to prevention, Montpellier, France

15 <sup>5</sup>Sorbonne University, UPMC Université Paris 06 CR7, CIMI, team E13 (bacteriology), F-  
16 75013, Paris, France.

17 <sup>6</sup>INSERM U1135, CIMI, team E13, Paris, France.

18 <sup>7</sup>AP-HP, Microbiology, St-Antoine Hospital, Paris, France  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 26 **Corresponding author:** Ouédraogo Abdoul-Salam, INSERM U1058 "Infection by HIV and  
4  
5 27 by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" & Department of  
6  
7 28 Bacteriology-Virology CHU Arnaud de Villeneuve 371 avenue du doyen Gaston Giraud  
8  
9 29 34295 - Montpellier Cedex 5 France  
10  
11 30 Phone: +33 0662894717. Fax: +33 467 33 58 93. E-mail: abdousal2000@yahoo.fr  
12  
13  
14  
15  
16  
17

18 33 **Running Title:** Faecal carriage of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum  
19  
20 34 beta-lactamases in Burkina Faso  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28

29 38 **Keywords:** *Enterobacteriaceae*, ESBL, faecal carriage, inpatient and outpatient,  
30  
31 Burkina Faso.  
32  
33

34 40 **Figures:** 1  
35

36 41 **Table:** 5  
37

38 42 **Abstract:** 254 words  
39

40 43 **Text:** 2518 words  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

51 **Abstract**

52 Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-PE) have been  
53 described worldwide, but few reports focused on Burkina Faso. To assess the prevalence of  
54 digestive carriage of such bacteria in the community and in the hospital, 214 faecal samples,  
55 101 from healthy volunteers and 113 from hospitalized patients without digestive pathology  
56 were collected in Bobo Dioulasso, Burkina Faso economic capital, during July and August  
57 2014. Stool samples were screened using ESBL agar plates. Strains were identified by Mass  
58 Spectrometry using the BioTyper MALDI-TOF. ESBL production was confirmed with the  
59 double-disc synergy test. Susceptibility was tested using the disk diffusion method on Müller-  
60 Hinton agar. The main ESBL genes were detected using multiplex PCR and bidirectional  
61 gene sequencing. *Escherichia coli* phylogenetic groups were identified using a PCR-based  
62 method. During the study period, prevalence of subjects with faecal ESBL-PE was 32%  
63 (69/214), 22% among healthy volunteers and 42% among inpatients. All ESBL but two were  
64 CTX-M-15 and ESBL-PE were mostly *E. coli* (78%). Among the 60 ESBL-producing *E. coli*  
65 strains, 26.% belonged to phylogenetic group D, 23.3% to group A, 20% to group B1, 6.6% to  
66 group B2, and 3.3% to the ST131 clone. Univariate analysis showed that history of  
67 hospitalization and previous antibiotic use were risk factors associated with ESBL-PE faecal  
68 carriage. In Burkina Faso, the prevalence of both healthy subjects from the community and  
69 hospitalized patients with faecal ESBL-PE is alarmingly high. This feature should be taken  
70 into consideration by both general practitioners and hospital doctors with regard to empirical  
71 treatments of infections, notably urinary tracts infections.

## 76 Introduction

77 Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) hydrolyze a wide range of  $\beta$ -lactam antibiotics,  
78 including second- and third-generation cephalosporins <sup>1</sup>. Furthermore, ESBL-producing  
79 enterobacterial (ESBL-PE) isolates that produce new ESBL families (especially CTX-M  
80 enzymes) are associated with resistance to fluoroquinolones and aminoglycosides and have  
81 been detected worldwide. This might limit the available treatment options and increase the  
82 likelihood of empiric treatment failure <sup>2,3</sup>.

83 Digestive tract is the main reservoir of *Enterobacteriaceae* causing infections whatever their  
84 onset (community or hospital) <sup>4</sup>. Therefore, knowing the prevalence of subjects with digestive  
85 tract carriage of ESBL-PE in the community and among hospitalized patients is a manner to  
86 predict the involvement of such bacteria in infections and their level of transmission. From  
87 this point of view, the situation is particularly dramatic in Africa where subjects with ESBL-  
88 PE digestive tract carriage range from 10 to 50% and is higher than 60% in the case of ESBL-  
89 producing *Escherichia coli* <sup>5,6</sup>. In Burkina Faso, a low-income country of West Africa,  
90 nothing is known about the digestive tract carriage of ESBL-producing *Enterobacteriaceae*  
91 both among inpatients and healthy subjects. The objective of the present study was to assess  
92 prevalence of patients hospitalized at the Souro Sanou University Hospital and healthy  
93 volunteers living in the city Bobo Dioulasso with digestive tract carriage of ESBL-PE, and to  
94 characterize the ESBL produced as well as the genetic background of the *E. coli* producing  
95 these enzymes.

## 96 Materials and methods

### 97 Patients, specimen collection and ethical clearance

98 This study was conducted in Bobo Dioulasso, Burkina Faso economical capital with a  
99 population of about 1 million inhabitants. During July and August 2014, 214 faecal samples  
100 were collected from 101 healthy volunteers in the community and 113 patients who were

1  
2  
3 101 hospitalized at the Souro Sanou University Hospital for more than 48 hours (people with  
4  
5 102 digestive pathologies were excluded from the study). Souro Sanou University Hospital is the  
6  
7 103 major healthcare and referral centre for Burkina Faso southern and western regions. It has 521  
8  
9 104 beds distributed in different specialized (medicine, surgery, gynaecology obstetric and  
10  
11 105 paediatric) acute care units. Each participant was interviewed by health professionals using a  
12  
13 106 home-made standardized questionnaire to record the following data: age, gender, antibiotic  
14  
15 107 treatment during the past three months and any hospital stays in the previous year. The study  
16  
17 108 was approved by the Souro Sanou University Hospital board (authorization number:  
18  
19 109 MS/SG/CHUSS/DG/DL 2014-171, July 2, 2014). Informed written consent was obtained  
20  
21 110 from all subjects and at least one parent for each child before enrolment.  
22  
23  
24

25 **111 Detection of ESBL-PE isolates and antibiotic susceptibility testing.**

26  
27 112 Briefly, 0.5 g of each fresh stool sample was suspended in 5 mL of sterile saline and 100 µl  
28  
29 113 aliquots were plated on ESBL agar plates (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) and were  
30  
31 114 examined after 24 and 48 hours of incubation at 37°C. Each distinct morphotype of colonies  
32  
33 115 that grew on ESBL agar plates was studied. Species identification was performed by matrix-  
34  
35 116 assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (Bruker  
36  
37 117 Daltonics, Bremen, Germany). All *Enterobacteriaceae* isolates were screened for ESBL  
38  
39 118 production using the double-disc synergy test <sup>7</sup>. In all positive isolates, antimicrobial  
40  
41 119 susceptibility was tested by using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar for the  
42  
43 120 following antibiotics: amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, aztreonam, cefepime,  
44  
45 121 cefotaxime, cefpirome, cefpodoxime, cefoxitin, ceftazidime, cephalotin, moxalactam,  
46  
47 122 piperacillin, piperacillin-tazobactam, ticarcillin, ticarcillin-clavulanic acid, imipenem,  
48  
49 123 nalidixic acid, ciprofloxacin, levofloxacin, ofloxacin, amikacin, gentamicin, netilmicin,  
50  
51 124 tobramycin, fosfomycin, chloramphenicol, tetracyclin and trimethoprim-sulfamethoxazole.  
52  
53 125 Results were interpreted following the European Committee on Antimicrobial Susceptibility  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 126 Testing (EUCAST) clinical breakpoints (Version 5.0)  
4  
5 127 ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)).

6  
7 128 **Molecular identification of ESBL genes**

8  
9 129 DNA was extracted from single colonies in a final volume of 100  $\mu$ L of distilled water by  
10 130 incubation at 95°C for 10 min, followed by a centrifugation step. Multiplex PCR was used to  
11 131 identify strains harbouring *bla*<sub>CTX-M</sub> genes that encode different CTX-M variants (i.e., CTX-M  
12 132 group 1, 2, 8, 9 and 25) as well as the *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> and *bla*<sub>OXA-like</sub> genes, as previously  
13 133 described<sup>8</sup>. DNA samples from reference strains carrying *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> or *bla*<sub>OXA-</sub>  
14 134 *like* were used as positive controls. PCR products were separated by electrophoresis on 1.5%  
15 135 agarose gels containing ethidium bromide at 100 V for 80 minutes. A 100 bp DNA ladder  
16 136 (Promega, USA) was used for size estimation. All specific PCR products were purified using  
17 137 the ExoSap IT PCR Clean-up Kit (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA) and bidirectional  
18 138 sequencing was performed on a 3100 ABI Prism Genetic Analyzer (Applied Biosystems).  
19 139 Sequence alignment and analysis were performed using the BLAST program available at the  
20 140 National Center for Biotechnology Information ([http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

21 141 **Detection of *Escherichia coli* phylogenetic groups and Sequence Type 131 clone**

22 142 To determine the phylogenetic group of the ESBL-producing *E. coli* isolates, we used the  
23 143 PCR-based method described by Clermont and al.<sup>9</sup>. For strains assigned to the B2  
24 144 phylogenetic group, the presence of *E. coli* sequence type (ST) 131 was determined using an  
25 145 O25b-specific PCR method with *pabB* and *trpA* (control) allele-specific primers, as  
26 146 previously described<sup>10</sup>.

27 147 **Statistical analysis**

28 148 Data were analyzed with Epi Info version 3.5.3 (Centers for Disease Control and Prevention,  
29 149 Atlanta, GA, USA). Conditional logistic regression analysis was used for the univariate

1  
2  
3 150 analysis of risk factors and odds ratios (OR) with 95% confidence intervals (CI).  $p < 0.05$  was  
4  
5 151 considered to be statistically significant.

## 6 7 152 **RESULTS**

### 8 9 153 **Prevalence and risk factors of ESBL –PE faecal carriage**

10  
11 154 During the study period, 214 subjects (101 healthy volunteers and 113 hospitalized patients)  
12  
13 155 with a mean age of  $21.9 \pm 7.1$  years were enrolled (Table 1). Among the healthy volunteers,  
14  
15 156 six (6%) were hospitalized in the previous year and 22 (22%) received antibiotics within the  
16  
17 157 three months prior to inclusion in the study:  $\beta$ -lactams ( $n=9/22$ , 41%), fluoroquinolones  
18  
19 158 ( $n=7/22$ , 32%) or other unspecified antibiotics ( $n=6/22$ , 27%). Among the hospitalized  
20  
21 159 patients, 21 (18.5%) were also hospitalized in the previous year and 58 (51%) received  
22  
23 160 antibiotics within the three months before sampling:  $\beta$ -lactams ( $n=36/58$ , 62%),  
24  
25 161 fluoroquinolones ( $n=13/58$ , 22%) or other antibiotics ( $n=9/58$ , 16%) (Table 1). The previous  
26  
27 162 use of antibiotics and prior hospitalization were different for both populations ( $p < 0.005$ )  
28  
29 163 (Table 2). Among the 214 stool samples, 69 (32%) grew on selective ESBL agar; 47 of these  
30  
31 164 samples were from inpatients (42% of 113) and 22 from healthy volunteers (22% of 101) ( $p =$   
32  
33 165 0.002). ESBL production by these 69 samples was confirmed with the double-disk synergy  
34  
35 166 test and by PCR. When taking into account the unit where the enrolled patients were  
36  
37 167 hospitalized, we found that 65% (19/29) of patients enrolled from medicine wards were  
38  
39 168 ESBL-PE carriers, 47% (14/30) from surgery wards, 28% (8/29) from gynecology/obstetric  
40  
41 169 ward and 24% (6/25) from the pediatric department. Univariate analysis did not identify any  
42  
43 170 specific factor associated with ESBL-PE faecal carriage in the hospitalized population (Table  
44  
45 171 3). Conversely, in the healthy controls, previous use of antibiotics and anterior hospitalization  
46  
47 172 were risk factors for ESBL-PE carriage ( $p < 0.05$ ) (Table 3).  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



**175 Characterization of and associated resistance in ESBL-PE isolates**

176 From the 69 ESBL-positive samples, 77 different ESBL-PE isolates were identified by  
177 MALDI-TOF mass spectrometry: *E. coli* was the main enterobacterial species (60/77: 78%),  
178 followed by *Klebsiella pneumoniae* (16/77: 21%) and *Enterobacter cloacae* (1/77: 1%).  
179 Among the healthy volunteers, 21/101 had an ESBL-producing *E. coli* among whom three  
180 had also an ESBL-producing *K. pneumoniae* isolate, and one had an ESBL-producing *K.*  
181 *pneumoniae*. The three healthy volunteers who carried both ESBL-producing *E. coli* and *K.*  
182 *pneumoniae* isolates were hospitalized during the previous year. Among the hospitalized  
183 patients, 47/113 had ESBL-producing isolates: 34 an *E coli* isolate, 7 a *K. pneumoniae* isolate,  
184 one an *E. cloacae* isolate and five both an *E. coli* isolate and a *K. pneumoniae* isolate.

185 The susceptibility pattern of the ESBL-producing strains is summarized in Figure 1. ESBL-  
186 producing isolates from healthy volunteers were more frequently resistant to  
187 fluoroquinolones, while inpatients' isolates showed higher resistance rates to  
188 aminoglycosides. Most samples from both populations were also resistant to  
189 sulfamethoxazole-trimethoprim and tetracycline. All isolates were susceptible to imipenem.

**190  $\beta$ -lactamase production characterization**

191 ESBL-positive strains harboured genes encoding CTX-M group 1 enzymes [CTX-M-15:  
192 75/77 (98%)], CTX-M group 9 enzymes [CTX-M-14:1/77 (1%)] or SHV enzymes [SHV-12:  
193 1/77 (1%)]. The *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene was detected alone in 13 isolates (17%) or in association  
194 with other  $\beta$ -lactamase genes: *bla*<sub>OXA-1</sub> and *bla*<sub>TEM-1</sub> in eight isolates (11%), *bla*<sub>TEM-1</sub> and  
195 *bla*<sub>SHV-1</sub> in four (5%), *bla*<sub>OXA-1</sub> and *bla*<sub>SHV-1</sub> in eight (12%), *bla*<sub>TEM-1</sub> alone in 15 (20%),  
196 *bla*<sub>OXA-1</sub> alone in 23 (31%) and *bla*<sub>SHV-1</sub> alone in 1 (1%). The *bla*<sub>CTX-M-14</sub> gene was associated  
197 with the *bla*<sub>OXA-1</sub> gene. The *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene was found in 49 *E. coli* strains, 15 *K.*  
198 *pneumoniae* isolates and the single *E cloacae* strain. The *bla*<sub>CTX-M-14</sub> gene was detected in one

1  
2  
3 199 *E. coli* strain (healthy volunteer) and *bla*<sub>SHV-12</sub> in one *K pneumoniae* isolate (healthy  
4  
5 200 volunteer) (Table 4).

### 201 ***Escherichia coli* phylogenetic groups and Sequence Type 131 clone**

202 The phylogenetic group analysis indicated that the 60 ESBL-positive *E. coli* isolates were  
203 distributed in six phylogenetic groups: D (18/60), A (14/60), B1 (12/60), C (8/60), B2 (4/60),  
204 F (3/60) and one unknown.

205 Group B1 *E. coli* isolates were only detected from hospitalized patients, while group D  
206 isolates were mostly from healthy volunteers (12 out of 18). The ST131 clone was found  
207 only in healthy volunteers (Table 5).

### 208 **Discussion**

209 In this study, we investigated the prevalence of healthy community volunteers and  
210 hospitalized patients with intestinal carriage of ESBL-PE in Burkina Faso. Overall, we found  
211 a prevalence of faecal ESBL-PE carriage of 32%, which is much higher than what observed in  
212 the North countries and particularly in Europe where faecal carriage rates range from 0.6 to  
213 11.6%<sup>11-13</sup>. However, our results are consistent with data from various countries of sub-  
214 Saharan Africa: 16-55% in Cameroon<sup>6 14</sup> and 31% in Niger<sup>15</sup>. This geographical difference is  
215 underlined by studies reporting that the antibiotic resistance level in low-income countries is  
216 dramatically increasing, mainly as a consequence of hygiene policy failure, poor drug quality,  
217 antibiotic misuse and lack of surveillance programs<sup>11 16 17</sup>. In our study, the prevalence of  
218 faecal carriage was significantly higher in hospitalized patients compared with community  
219 volunteers (42% vs 22%,  $p = 0.02$ ), in agreement with previous work<sup>6 14</sup> showing that  
220 inpatients are more exposed to strong selective pressure of antibiotics or bacterial  
221 transmission. Nevertheless, the proportion of ESBL-PE faecal carriage in healthy volunteers  
222 was also high, suggesting that ESBL-producing isolates can spread in the community beyond

223 the hospital environment (nosocomial infections), thus potentially increasing the seriousness  
224 of community-acquired infections.

225 Our risk factor analysis showed that in the community, previous hospital stays during the last  
226 year and antibiotic use within the last three months are high risk factors of ESBL-PE faecal  
227 carriage, differently from what reported by Rodriguez-Bano and *al.* in Spain and Wu and *al.*  
228 in Hong Kong<sup>18 19</sup>. This discrepancy could be explained the different clinical practices in  
229 these three countries. Indeed in Burkina Faso, like in many less wealthy countries, the number  
230 of physicians, microbiologists and epidemiologists who can guide/supervise appropriate  
231 diagnostic testing, treatment and control of infectious diseases is insufficient. Moreover, in  
232 Burkina Faso, antibiotics can be purchased over the counter without medical prescription.  
233 Patients may buy only a few tablets of an antibiotic because of limited money availability.  
234 Moreover, patients may begin an antimicrobial regimen and stop it when they feel better,  
235 before the end of the treatment, to save the remaining tablets for another time. All these  
236 reasons can explain why prior hospitalization or previous antibiotic use can be serious risk  
237 factors of ESBL-PE faecal carriage in low- and middle-income countries, as previously  
238 highlighted by studies in Madagascar<sup>20</sup> and in rural Thai communities<sup>21</sup>. In the present  
239 study, ESBL-producers were mainly *E. coli* and *K. pneumoniae* strains in hospitalized  
240 patients. Lonchel and *al.* in Cameroon and Zhang and *al.* in China reported a more important  
241 diversity of ESBL-PE species (e.g., *Enterbacter spp* and *Citrobacter spp*)<sup>14 22</sup>. Nevertheless,  
242 in all reports, *E.coli* was the most frequently identified species during colonization by ESBL-  
243 PE<sup>14 22 23</sup>. Importantly, all these bacteria that transit in the human intestine can become  
244 resistant through horizontal gene exchanges<sup>24</sup>.

245 In our study, *bla*<sub>CTX-M-15</sub> was the most frequently detected ESBL-encoding gene (98% of  
246 isolates), as previously reported in Cameroon (96% of isolates), Indonesia (94.5%) and  
247 Tunisia (91%)<sup>6 25 26</sup>. *bla*<sub>SHV-12</sub>, which was previously reported in Cameroon<sup>14 27</sup>, was detected

1  
2  
3 248 in a single *K. pneumoniae* isolate. The SHV-12 enzyme has evolved from SHV-1 and has  
4  
5 249 been detected in different *Enterobacteriaceae* species in other African countries <sup>28 29</sup>.  
6  
7 250 Nevertheless CTX-M-type ESBL, especially CTX-M-15, remain dominant worldwide, except  
8  
9 251 in Asia where ESBL epidemiology shows specific characteristics, with the predominance of  
10  
11 252 CTX-M-9 and 14 <sup>22 30</sup>. ESBL-encoding genes are carried by plasmids, thus facilitating their  
12  
13 253 transfer between different bacterial species both in hospitals and in the community <sup>31 32</sup>. Most  
14  
15 254 of these plasmids typically carry resistance genes also to other drugs, such as aminoglycosides  
16  
17 255 and fluoroquinolones <sup>33</sup>. Accordingly, in our study, CTX-M-15 producers also showed high-  
18  
19 256 level resistance to non- $\beta$ -lactams, such as aminoglycosides in hospitalized patients and  
20  
21 257 fluoroquinolones in the community volunteers. Most ESBL-PE samples were also resistant to  
22  
23 258 sulfamethoxazole-trimethoprim and tetracycline.

24  
25  
26  
27 259 In Burkina Faso, like in many low-income countries, there are no restrictions on the use of  
28  
29 260 antibiotics. Many of our patients and healthy volunteers had a history of broad-spectrum  
30  
31 261 antibiotic consumption. Some antibiotics were prescribed by medical professionals, while  
32  
33 262 others were not. Based on this irrational antibiotic use, we hypothesize that the high  
34  
35 263 prevalence of faecal carriage of ESBL-PE that are resistant also to non- $\beta$ -lactam antibiotics is  
36  
37 264 caused by the strong drug selective pressure on bacterial populations that live in the human  
38  
39 265 intestine, generally in good intelligence with their host <sup>34</sup>, and not to an epidemic resistant  
40  
41 266 clone. The *E. coli* phylogenetic group assignment supports this hypothesis. Indeed, the 60  
42  
43 267 ESBL-producing *E. coli* isolates belonged to six of the eight different phylogenetic groups  
44  
45 268 recently described by Clermont and al. <sup>9</sup>. Moreover, most isolates were assigned to the  
46  
47 269 commensal groups A and B1. This finding contrasts with previous studies that associated the  
48  
49 270 dissemination of CTX-M-15-producing isolates with the spread of the epidemic ST131 *E. coli*  
50  
51 271 strain belonging to group B2 <sup>35-37</sup>. In the present study, only four isolates were assigned to  
52  
53 272 group B2 and only two belonged to the epidemic ST131 clone, indicating that this clone is  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 273 less represented in faecal ESBL-producing *E. coli*. Similar results were reported in Tunisia ,  
4  
5 274 Libya and Spain <sup>38-40</sup>. Besides group A, B1 and B2, some ESBL-producing *E. coli* isolates  
6  
7 275 belonged also to three other phylogenetic groups associated with CTX-M-15 dissemination:  
8  
9 276 the virulent extra-intestinal group D, previously found in a similar study in France <sup>41</sup>, and  
10  
11 277 groups C and E, usually described in urinary tract infections <sup>42</sup>. This important genetic  
12  
13 278 diversity among CTX-M producers in Burkina Faso suggests that horizontal plasmid transfer  
14  
15 279 has played a more important role than clonal expansion in the community and hospital  
16  
17 280 environments. Further investigations, including multilocus sequence typing and plasmid  
18  
19 281 characterization, are needed to complete this study.

22 282 In summary, this first study shows that ESBL-PE intestinal carriage by asymptomatic humans  
23  
24 283 in Burkina Faso is high. The characterization of beta-lactamase-encoding genes highlights an  
25  
26 284 important dissemination of the ESBL CTX-M-15 without clonal dissemination. History of  
27  
28 285 hospitalization and previous antibiotic use are risk factors in the community. Public health  
29  
30 286 efforts should focus on educating the population and healthcare professionals on the proper  
31  
32 287 use of antibiotics.

33  
34  
35 288  
36  
37 289  
38  
39 290  
40  
41 291  
42  
43 292  
44  
45 293  
46  
47 294  
48  
49 295  
50  
51 296  
52  
53 297  
54  
55 298  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 299 **Acknowledgements**  
4

5 300 Preliminary results were presented at the 35<sup>th</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie  
6

7 301 Anti-Infectieuse (RICAI) in 2015 (Communication No. 338). We thank Elisabetta  
8

9 302 Andermarcher for assistance in preparing and editing the manuscript  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

## REFEBRECES

1. Colodner R, Raz R. Extended-spectrum beta-lactamases: the end of cephalosporins? *Isr Med Assoc J* 2005;7(5):336-8.
2. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14 Suppl 1:33-41.
3. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev* 2013;26(4):744-58.
4. Donskey CJ. The role of the intestinal tract as a reservoir and source for transmission of nosocomial pathogens. *Clin Infect Dis* 2004;39(2):219-26.
5. Abdul Rahman EM, El-Sherif RH. High rates of intestinal colonization with extended-spectrum lactamase-producing Enterobacteriaceae among healthy individuals. *J Investig Med* 2011;59(8):1284-6.
6. Lonchel CM, Melin P, Gangoue-Pieboji J, Assoumou MC, Boreux R, De Mol P. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Cameroonian hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013;32(1):79-87.
7. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988;10(4):867-78.
8. Dallenne C, Da Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 2010;65(3):490-5.
9. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM. The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylogroups. *Environ Microbiol Rep* 2013;5(1):58-65.

- 1  
2  
3 10. Clermont O, Dhanji H, Upton M, Gibreel T, Fox A, Boyd D, et al. Rapid detection of the  
4  
5 O25b-ST131 clone of Escherichia coli encompassing the CTX-M-15-producing strains. *J*  
6  
7 *Antimicrob Chemother* 2009;64(2):274-7.  
8  
9  
10 11. Ebrahimi F, Mozes J, Meszaros J, Juhasz A, Kardos G. Carriage rates and characteristics  
11  
12 of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases in healthy  
13  
14 individuals: comparison of applicants for long-term care and individuals screened for  
15  
16 employment purposes. *Chemotherapy* 2015;60(4):239-49.  
17  
18  
19 12. Leflon-Guibout V, Blanco J, Amaqdouf K, Mora A, Guize L, Nicolas-Chanoine MH.  
20  
21 Absence of CTX-M enzymes but high prevalence of clones, including clone ST131, among  
22  
23 fecal Escherichia coli isolates from healthy subjects living in the area of Paris, France. *J*  
24  
25 *Clin Microbiol* 2008;46(12):3900-5.  
26  
27  
28 13. Nicolas-Chanoine MH, Gruson C, Bialek-Davenet S, Bertrand X, Thomas-Jean F, Bert F,  
29  
30 et al. 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum  
31  
32 beta-lactamase-producing Escherichia coli faecal carriage in a Parisian check-up centre. *J*  
33  
34 *Antimicrob Chemother* 2013;68(3):562-8.  
35  
36  
37 14. Lonchel CM, Meex C, Gangoue-Pieboji J, Boreux R, Assoumou MC, Melin P, et al.  
38  
39 Proportion of extended-spectrum ss-lactamase-producing Enterobacteriaceae in community  
40  
41 setting in Ngaoundere, Cameroon. *BMC Infect Dis* 2012;12:53.  
42  
43  
44 15. Woerther PL, Angebault C, Jacquier H, Hugede HC, Janssens AC, Sayadi S, et al.  
45  
46 Massive increase, spread, and exchange of extended spectrum beta-lactamase-encoding  
47  
48 genes among intestinal Enterobacteriaceae in hospitalized children with severe acute  
49  
50 malnutrition in Niger. *Clin Infect Dis* 2011;53(7):677-85.  
51  
52  
53 16. Sun Q, Tarnberg M, Zhao L, Stalsby Lundborg C, Song Y, Grape M, et al. Varying high  
54  
55 levels of faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase producing  
56  
57  
58  
59  
60



- 1  
2  
3 Enterobacteriaceae in rural villages in Shandong, China: implications for global health.  
4  
5 *PLoS One* 2014;9(11):e113121.  
6  
7  
8 17. Tande D, Jallot N, Bougoudogo F, Montagnon T, Gouriou S, Sizun J. Extended-spectrum  
9  
10 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a Malian orphanage. *Emerg Infect Dis*  
11  
12 2009;15(3):472-4.  
13  
14 18. Lo WU, Ho PL, Chow KH, Lai EL, Yeung F, Chiu SS. Fecal carriage of CTXM type  
15  
16 extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms by children and their household  
17  
18 contacts. *J Infect* 2010;60(4):286-92.  
19  
20 19. Rodriguez-Bano J, Lopez-Cerero L, Navarro MD, Diaz de Alba P, Pascual A. Faecal  
21  
22 carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: prevalence, risk  
23  
24 factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 2008;62(5):1142-9.  
25  
26 20. Chereau F, Herindrainy P, Garin B, Huynh BT, Randrianirina F, Padget M, et al.  
27  
28 Colonization of extended-spectrum-beta-lactamase- and NDM-1-producing  
29  
30 Enterobacteriaceae among pregnant women in the community in a low-income country: a  
31  
32 potential reservoir for transmission of multiresistant Enterobacteriaceae to neonates.  
33  
34 *Antimicrob Agents Chemother* 2015;59(6):3652-5.  
35  
36 21. Luvsansharav UO, Hirai I, Nakata A, Imura K, Yamauchi K, Niki M, et al. Prevalence of  
37  
38 and risk factors associated with faecal carriage of CTX-M beta-lactamase-producing  
39  
40 Enterobacteriaceae in rural Thai communities. *J Antimicrob Chemother* 2012;67(7):1769-  
41  
42 74.  
43  
44 22. Zhang H, Zhou Y, Guo S, Chang W. High prevalence and risk factors of fecal carriage of  
45  
46 CTX-M type extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae from  
47  
48 healthy rural residents of Taian, China. *Front Microbiol* 2015;6:239.  
49  
50 23. Lubbert C, Straube L, Stein C, Makarewicz O, Schubert S, Mossner J, et al. Colonization  
51  
52 with extended-spectrum beta-lactamase-producing and carbapenemase-producing  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3 Enterobacteriaceae in international travelers returning to Germany. *Int J Med Microbiol*  
4  
5 2015;305(1):148-56.  
6  
7 24. Carlet J. The gut is the epicentre of antibiotic resistance. *Antimicrob Resist Infect Control*  
8  
9 2012;1(1):39.  
10  
11  
12 25. Dahmen S, Bettaieb D, Mansour W, Boujaafar N, Bouallegue O, Arlet G.  
13  
14 Characterization and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in  
15  
16 clinical isolates of Enterobacteriaceae in a Tunisian University Hospital. *Microb Drug*  
17  
18 *Resist* 2010;16(2):163-70.  
19  
20  
21 26. Severin JA, Mertaniasih NM, Kuntaman K, Lestari ES, Purwanta M, Lemmens-Den  
22  
23 Toom N, et al. Molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamases in clinical  
24  
25 Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Surabaya, Indonesia. *J*  
26  
27 *Antimicrob Chemother* 2010;65(3):465-9.  
28  
29  
30 27. Gangoue-Pieboji J, Bedenic B, Koulla-Shiro S, Randegger C, Adiogo D, Ngassam P, et al.  
31  
32 Extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Yaounde, Cameroon.  
33  
34 *J Clin Microbiol* 2005;43(7):3273-7.  
35  
36  
37 28. Girlich D, Bouihat N, Poirel L, Benouda A, Nordmann P. High rate of faecal carriage of  
38  
39 extended-spectrum beta-lactamase and OXA-48 carbapenemase-producing  
40  
41 Enterobacteriaceae at a university hospital in Morocco. *Clin Microbiol Infect*  
42  
43 2014;20(4):350-4.  
44  
45  
46 29. Newire EA, Ahmed SF, House B, Valiente E, Pimentel G. Detection of new SHV-12,  
47  
48 SHV-5 and SHV-2a variants of extended spectrum beta-lactamase in Klebsiella  
49  
50 pneumoniae in Egypt. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2013;12:16.  
51  
52  
53 30. Hara T, Sato T, Horiyama T, Kanazawa S, Yamaguchi T, Maki H. Prevalence and  
54  
55 molecular characterization of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing  
56  
57 Escherichia coli from 2000 to 2010 in Japan. *Jpn J Antibiot* 2015;68(2):75-84.  
58  
59  
60

- 1  
2  
3 31. Bonnet R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes.  
4  
5 *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48(1):1-14.  
6  
7 32. Canton R, Coque TM. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol*  
8  
9 2006;9(5):466-75.  
10  
11 33. Yu HS, Lee JC, Kang HY, Jeong YS, Lee EY, Choi CH, et al. Prevalence of dfr genes  
12  
13 associated with integrons and dissemination of dfrA17 among urinary isolates of  
14  
15 Escherichia coli in Korea. *J Antimicrob Chemother* 2004;53(3):445-50.  
16  
17 34. Baquero F, Alvarez-Ortega C, Martinez JL. Ecology and evolution of antibiotic resistance.  
18  
19 *Environ Microbiol Rep* 2009;1(6):469-76.  
20  
21 35. Coque TM, Novais A, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, et al. Dissemination of  
22  
23 clonally related Escherichia coli strains expressing extended-spectrum beta-lactamase  
24  
25 CTX-M-15. *Emerg Infect Dis* 2008;14(2):195-200.  
26  
27 36. Moubareck C, Daoud Z, Hakime NI, Hamze M, Mangeney N, Matta H, et al.  
28  
29 Countrywide spread of community- and hospital-acquired extended-spectrum beta-  
30  
31 lactamase (CTX-M-15)-producing Enterobacteriaceae in Lebanon. *J Clin Microbiol*  
32  
33 2005;43(7):3309-13.  
34  
35 37. Rossi F, Baquero F, Hsueh PR, Paterson DL, Bochicchio GV, Snyder TA, et al. In vitro  
36  
37 susceptibilities of aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from  
38  
39 patients with intra-abdominal infections worldwide: 2004 results from SMART (Study for  
40  
41 Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother* 2006;58(1):205-  
42  
43 10.  
44  
45 38. Ahmed SF, Ali MM, Mohamed ZK, Moussa TA, Klena JD. Fecal carriage of extended-  
46  
47 spectrum beta-lactamases and AmpC-producing Escherichia coli in a Libyan community.  
48  
49 *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2014;13:22.  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3 39. Ben Sallem R, Ben Slama K, Estepa V, Jouini A, Gharsa H, Klibi N, et al. Prevalence and  
4  
5 characterisation of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli*  
6  
7 isolates in healthy volunteers in Tunisia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2012;31(7):1511-  
8  
9 6.  
10  
11 40. Cortes P, Blanc V, Mora A, Dahbi G, Blanco JE, Blanco M, et al. Isolation and  
12  
13 characterization of potentially pathogenic antimicrobial-resistant *Escherichia coli* strains  
14  
15 from chicken and pig farms in Spain. *Appl Environ Microbiol* 2010;76(9):2799-805.  
16  
17 41. Janvier F, Delacour H, Tesse S, Larreche S, Sanmartin N, Ollat D, et al. Faecal carriage of  
18  
19 extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria among soldiers at admission  
20  
21 in a French military hospital after aeromedical evacuation from overseas. *Eur J Clin*  
22  
23 *Microbiol Infect Dis* 2014;33(10):1719-23.  
24  
25 42. Iranpour D, Hassanpour M, Ansari H, Tajbakhsh S, Khamisipour G, Najafi A.  
26  
27 Phylogenetic groups of *Escherichia coli* strains from patients with urinary tract infection in  
28  
29 Iran based on the new Clermont phylotyping method. *Biomed Res Int* 2015;2015:846219.  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

Table 1: Demographic characteristics, prevalence of ESBL-PE faecal carriage in the study population

Variables	Healthy volunteers (n=101)	Inpatients (n=113)	Total (n=214)
Age (mean, SD), years	18.5 (12.5)	25.9 (18.8)	21.9 (7.1)
Males	47 (46%)	46 (40, 7%)	93 (43%)
ESBL-PE carriers	22 (22%)	47 (42%)	69 (32%)
Hospitalization duration (mean, SD), days	-	10.3(11.2)	-
<b>Previous hospitalization (in the last year)</b>			
Yes	6 (6%)	21(18.5%)	27 (12.6%)
No	95 (94%)	92 (81.5%)	187 (87.4%)
<b>Antibiotic treatment (in last 3 months)</b>			
Yes	22(22%)	58 (51%)	80 (37.4%)
No	45(44%)	37 (33%)	82 (38.3%)
Not known	34(34%)	18 (16%)	52 (24.3%)
<b>Used antibiotics</b>			
β-lactams	9 (41%)	36 (62%)	45 (21%)
Fluoroquinolones	7 (32%)	13 (22%)	20 (9.3%)
Other antibiotics*	6 (27%)	9 (16%)	15 (7%)

\* Tetracycline, doxycycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, erythromycin, clindamycin and gentamicin

Table 2: Univariate analysis of antibiotics use and previous hospitalization among outpatients and inpatients

Risk factors	Outpatients (n=101)	Inpatients (113)	Odds Ratio (95% CI)	P
<b>Previous use of antibiotics</b>				
Yes/No	22/45	58/37	0.31(0.16-0.60)	<0.001
<b>Previous hospitalization</b>				
Yes/No	6/95	21/92	0.27 (0.10-0.71)	0.005

Table 3: Analysis of risk factors for ESBL-PE faecal carriage in the study population

Covariate	Outpatients (n=101)				Inpatients (n=113)			
	ESBL-positive (n=22)	ESBL-negative (n=79)	Odds Ratio (95% CI)	P	ESBL-positive (n=47)	ESBL-negative (n=66)	Odds Ratio (95% CI)	P
Age (Mean, SD) years	21.6(14.5)	17.6(11.8)		0.24	25.8(15.4)	26(21.7)		0.95
Male gender	7	40	0.46 (0.16-1.24)	0.12	16	29	0.62 (0.29-1.34)	0.28
Hospitalization duration (Mean, SD) days					12, 1(14, 1)	8, 9(8, 35)		0.09
<b>Antibiotic use (last 3 months)</b>								
Yes/No	15/4	7/41	20.47 (5.5-95.23)	<0.001	23/15	35/22	0.96(0.41-2.23)	0.93
<b>Anterior hospitalization (In last year)</b>								
Yes/No	5/17	1/78	23 (2.51-209.17)	<0.001	9/38	12/54	1.01 (0.39-2.65)	0.89

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49

For Peer Review Only/Not for Distribution

**Table 4: Characterization of the ESBL-PE strains isolated from healthy volunteers and hospitalized patients**

	No. of ESBL producers	All detected genes	ESBL genes	Other $\beta$ -lactamase genes
<b>Healthy volunteers (n=22 ESBL-positive samples)</b>				
<i>E. coli</i>	21 (84%)	CTX-M, TEM, OXA-1-like (2)*	CTX-M-15 (2)*	TEM-1, OXA-1(2)*
		CTX-M, TEM (1)	CTX-M-15 (1)	TEM-1(1)
		CTX-M, OXA-1-like (11)	CTX-M-15(10) CTX-M-14 (1)	OXA-1(10) OXA-1(1)
		CTX-M (6)	CTX-M-15 (6)	
		CTX-M, SHV (1)	CTX-M-15(1)	SHV-1(1)
<i>K. pneumoniae</i>	4 (16%)	CTX-M, SHV, OXA-1-like (1)	CTX-M-15 (1)	SHV-1, OXA-1(1)
		CTX-M, TEM (1)	CTX-M-15 (1)	TEM-1(1)
		CTX-M (1)	CTX-M-15 (1)	
		SHV (1)	SHV-12 (1)	
<b>Hospitalized patients (n=47 ESBL-positive samples)</b>				
<i>E. coli</i>	39 (75%)	CTX-M, TEM, OXA-1-like (6)	CTX-M-15 (6)	TEM-1, OXA-1(6)
		CTX-M, TEM (12)	CTX-M-15 (12)	TEM-1(12)
		CTX-M, OXA-1-like (13)	CTX-M-15(13)	OXA-1(13)
		CTX-M, SHV, OXA-1-like (2)	CTX-M-15 (2)	SHV-11, OXA-1(2)
		CTX-M (6)	CTX-M-15 (6)	
<i>K. pneumoniae</i>	12 (23%)	CTX-M, SHV, OXA-1-like (5)	CTX-M-15 (5)	SHV-1, OXA-1(5)
		CTX-M, SHV, TEM (3)	CTX-M-15 (3)	TEM-1, SHV-1(3)
		CTX-M, SHV (1)	CTX-M-15 (1)	SHV-1(1)
		CTX-M, TEM (1)	CTX-M-15(1)	TEM-1(1)
		CTX-M (2)	CTX-M-15 (2)	
<i>E. cloacae</i>	1 (2%)	CTX-M, SHV, TEM (1)	CTX-M-15 (1)	SHV-1, TEM-1(1)

\* Number of samples.



**Table 5: Phylogenetic group assignment of the 60 ESBL-producer *E. coli* strains classified according to the  $\beta$ -lactamase production****Healthy volunteers (n= 21 *E. coli* isolates)**

Detected genes	A	B1	B2	C	D	F	Unknown	ST131
CTX-M, TEM, OXA-1-like (n= 2 samples)	2	-	-	-	-	-	-	-
CTX-M, TEM (n=1 sample)	-	-	1	-	-	-	-	1
CTX-M, OXA-1-like (n=11 samples)	2	-	2	-	7	-	-	-
CTX-M (n=6 samples)	-	-	1	-	5	-	-	1
CTX-M, SHV (n=1 sample)	1	-	-	-	-	-	-	-

**Hospitalized patients (n= 39 *E. coli* isolates)**

CTX-M, TEM (n=4 samples)	1	1	-	-	1	1	-	-
CTX-M (n=2 samples)	1	1	-	-	-	-	-	-
CTX-M, OXA-1-like (n=4 samples)	1	-	-	-	3	-	-	-
CTX-M, TEM, OXA-1-like (n=2 samples)	-	2	-	-	-	-	-	-
CTX-M, TEM (n=6 samples)	2	1	-	2	-	1	-	-
CTX-M (n=2 samples)	-	2	-	-	-	-	-	-
CTX-M, OXA-1-like (n=3 samples)	2	1	-	-	-	-	-	-
CTX-M, TEM, OXA-1-like (n=2 samples)	-	-	-	2	-	-	-	-
CTX-M, TEM (n=2 samples)	-	-	-	2	-	-	-	-
CTX-M (n=2 samples)	-	2	-	-	-	-	-	-
CTX-M, OXA-1-like (n=6 samples)	2	1	-	-	2	1	-	-
CTX-M, TEM, OXA-1-like (n=2 samples)	-	-	-	2	-	-	-	-

---

CTX-M, SHV, OXA-1-like (n=2 samples)	-	1	-	-	-	-	1	-
---	---	---	---	---	---	---	---	---

---

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

For Peer Review Only/Not for Distribution

Microbial Drug Resistance

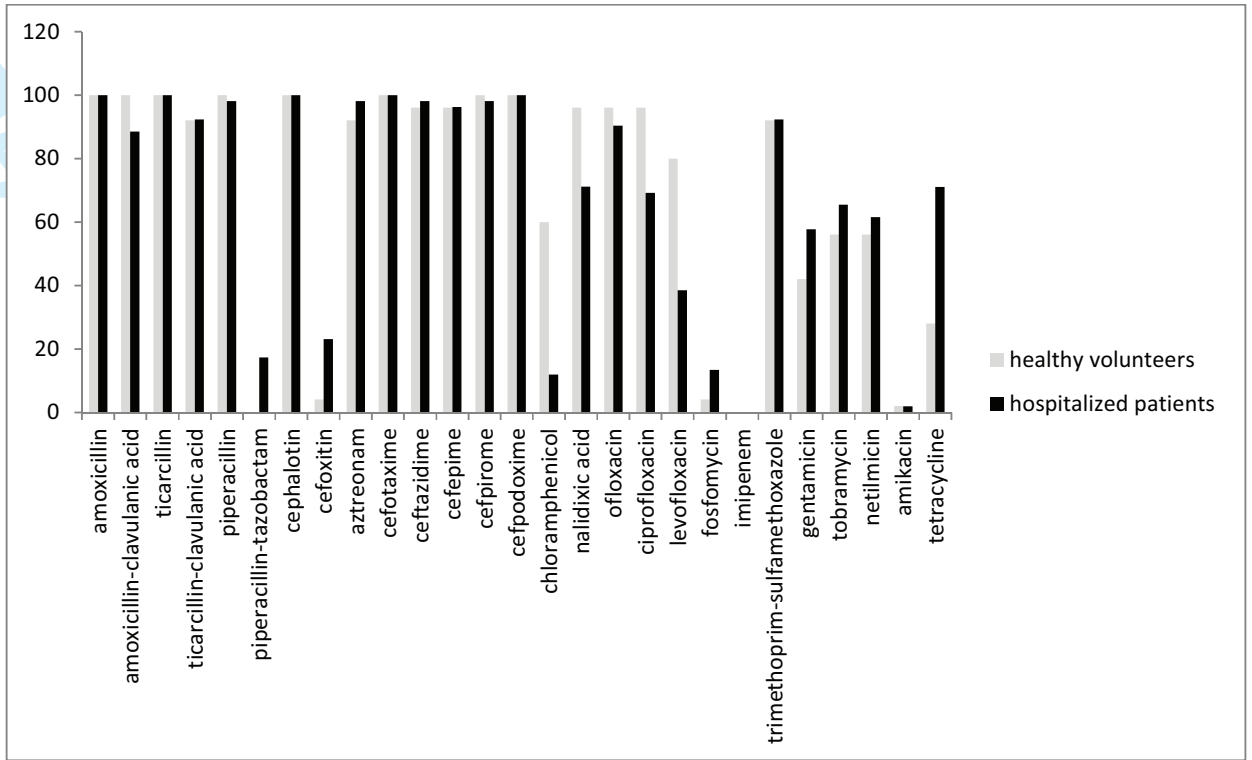


Figure 1: Percentage of antimicrobial resistance of the ESBL-PE samples from healthy volunteers (n=22) and hospitalized patients (n=47)

**CHAPITRE III :**

**PREVALENCE ELEVEE DES ENTEROBACTERIES  
PRODUCTRICES DE BETALACTAMASES A  
SPECTRE ELARGI PARMIS LES SOUCHES  
CLINIQUES ISOLEES DANS LES HOPITAUX DU  
BURKINA FASO**

## Préambule

La sécrétion de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) est le mécanisme le plus important de multirésistance chez les entérobactéries. Sa prévalence est alarmante dans les pays à ressources limitées. Au Burkina Faso, cependant il n'y a aucune donnée disponible. L'objectif de ce travail était d'étudier la prévalence des entérobactéries sécrétrices de BLSE parmi les souches isolées dans les différents échantillons biologiques traités dans les trois principaux hôpitaux du pays, de caractériser les BLSE et d'amorcer une étude de clonalité.

Durant deux mois (Juin – Juillet 2014), 1602 échantillons biologiques consécutifs reçus dans les laboratoires de bactériologie des trois principaux hôpitaux du pays ont été inclus. Sur les 584 cultures bactériologiques positives, 308 entérobactéries ont été identifiées provenant d'échantillons prélevés chez 158 patients hospitalisés et 150 patients consultant à titre externe. Durant la période de l'étude, on retrouvait une prévalence de BLSE de 58% avec une différence significative entre les externes (45%) et les hospitalisés (70%) ; ( $p < 0.001$ ). Chez les patients hospitalisés, aucune association entre l'infection par une entérobactérie BLSE et une variable démographique n'a été retrouvée ; par contre chez les patients externes les infections à BLSE étaient significativement plus fréquentes chez les patients de plus de 65 ans et de sexe masculin. Les entérobactéries BLSE étaient majoritairement isolées des urines. La grande majorité des BLSE (94%) était des CTX-M-15 et *Escherichia coli*, l'espèce la plus identifiée. L'analyse des isolats d'*E. coli* BLSE et non BLSE a montré que les 202 isolats appartenaient à huit phylogroupes différents : (A=49, B1=15, B2=43, C=22, Clade I=7, D=37, F=13 et 16 non classés). Seize (16) *E. coli* BLSE et 6 non BLSE étaient de séquence type (ST) 131. Cette première étude montre que la fréquence d'entérobactéries BLSE est élevée parmi les souches isolées au cours des infections au Burkina. La caractérisation des gènes montre une dissémination importante de CTX-M-15 sans expansion clonale, suggérant une pression de sélection forte à l'origine de la multirésistance. Les efforts de santé publique devraient mettre l'accent sur la sensibilisation de la population quant à l'usage excessif des antibiotiques et la formation des prescripteurs.

## BMC Infectious Diseases

# High prevalence of extended-spectrum $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae among clinical isolates in Burkina Faso.

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	INFD-D-16-00048
<b>Full Title:</b>	High prevalence of extended-spectrum $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae among clinical isolates in Burkina Faso.
<b>Article Type:</b>	Research article
<b>Section/Category:</b>	Bacterial and fungal diseases
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p>Background: Nothing is known about the epidemiology and resistance mechanisms of extended-spectrum <math>\beta</math>-lactamase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) in Burkina Faso. The objective of this study was to determine ESBL-PE prevalence and to characterize ESBL genes in Burkina Faso.</p> <p>Methods: During two months (June-July 2014), 1602 clinical samples were sent for bacteriologic investigations to the microbiology laboratories of the tree main hospitals of Burkina Faso. Isolates were identified by mass spectrometry using a matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) BioTyper. Antibiotic susceptibility was tested using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar. The different ESBL genes in potential ESBL-producing isolates were detected by PCR and double stranded DNA sequencing. Escherichia coli phylogenetic groups were determined using a PCR-based method.</p> <p>Results: ESBL-PE frequency was 58% (179 strains among the 308 Enterobacteriaceae isolates identified in the collected samples; 45% in outpatients and 70% in hospitalized patients). The CTX-M-1 group was dominant (94%, CTX-M-15 enzyme), followed by the CTX-M-9 group (4%). ESBL producers were more often found in E. coli (67.5 %) and Klebsiella pneumoniae (26%) isolates. E. coli isolates (n=202; 60% of all Enterobacteriaceae samples) were distributed in eight phylogenetic groups (A=49, B1=15, B2=43, C=22, Clade I=7, D=37, F=13 and 16 unknown); 22 strains belonged to the sequence type ST131. No association between a specific strain and ESBL production was detected.</p> <p>Conclusions: This report shows the alarming spread of ESBL genes in Burkina Faso. Public health efforts should focus on education (population and healthcare professionals), surveillance and promotion of correct and restricted antibiotic use to limit their dissemination.</p>
<b>Corresponding Author:</b>	Abdoul-Salam OUEDRAOGO  BURKINA FASO
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Abdoul-Salam OUEDRAOGO
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Abdoul-Salam OUEDRAOGO
	Mahamoudou SANOU
	Aimée KISSOU
	Soufiane SANOU
	Hermann SOMLARE
	Firmin KABORE

	Armel PODA
	Salim ABERKANE
	Nicolas BOUZINBI
	Idrissa SANOU
	Boubacar NACRO
	Lassana SANGARE
	Christian CARRIERE
	Dominique DECRE
	Rasmata OUEDRAOGO
	Hélène JEAN-PIERRE
	Sylvain GODREUIL
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Opposed Reviewers:</b>	

[Click here to view linked References](#)

1 **High prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae***  
2 **among clinical isolates in Burkina Faso**

3  
4  
5 4 Ouédraogo Abdoul-Salam<sup>1,4,5,6</sup>, Sanou Mahamoudou<sup>2</sup>, Kissou Aimée<sup>1</sup>, Sanou Soufiane<sup>1</sup>,  
6 Somlaré Hermann<sup>3</sup>, Kaboré Firmin<sup>1</sup>, Poda Armel<sup>1</sup>, Aberkane Salim<sup>4,5,6</sup>, Bouzinbi Nicolas<sup>4,5,6</sup>,  
7 Sanou Idrissa<sup>3</sup>, Nacro Boubacar<sup>1</sup>, Sangaré Lassana<sup>3</sup>, Christian Carrière<sup>4,5,6</sup>, Decré  
8 Dominique<sup>7,8,9</sup>, Ouédraogo Rasmata<sup>2</sup>, Jean Pierre Hélène<sup>4</sup>, Sylvain Godreuil<sup>4,5,6</sup>

9  
10  
11 <sup>1</sup>Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, BP 676, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

12 <sup>2</sup>Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique Charles de Gaulle, Ouagadougou, Burkina Faso

13 <sup>3</sup>Centre Hospiatlier Universitaire Yalgado Ouédraogo, Ouagadougou, Burkina Faso

14 <sup>4</sup>Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Montpellier, Département de  
15 Bactériologie-Virologie, Montpellier, France

16 <sup>5</sup>Université Montpellier 1, Montpellier, France

17 <sup>6</sup>INSERM U 1058, Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from  
18 pathogenesis to prevention, Montpellier, France

19 <sup>7</sup>Sorbonne University, UPMC Université Paris 06 CR7, CIMI, team E13 (bacteriology), F-  
20 75013, Paris, France.

21 <sup>8</sup>INSERM U1135, CIMI, team E13, Paris, France.

22 <sup>9</sup>AP-HP, Microbiology, St-Antoine Hospital, Paris, France

23  
24 **Corresponding author:** Ouédraogo Abdoul-Salam, INSERM U1058 "Infection by HIV and  
25 by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" & Department of  
26 Bacteriology-Virology CHU Arnaud de Villeneuve 371 avenue du doyen Gaston Giraud  
27 34295 - Montpellier Cedex 5 France

28 Phone: +33 0662894717, Fax: +33 467 33 58 93. E-mail: [abdousal2000@yahoo.fr](mailto:abdousal2000@yahoo.fr)



29	<b>Running Title: ESBL-producing <i>Enterobacteriaceae</i> in Burkina Faso</b>
1	
2	30
3	
4	31
5	<b>Keywords: <i>Enterobacteriaceae</i>, ESBL, clinical samples, inpatient and outpatient,</b>
6	
7	<b>Burkina Faso.</b>
8	
9	33
10	<b>Figures: 1</b>
11	
12	34
13	<b>Table: 4</b>
14	
15	35
16	<b>Abstract: 254 words</b>
17	
18	36
19	<b>Text: 2547 words</b>
20	
21	37
22	
23	38
24	
25	39
26	
27	40
28	
29	41
30	
31	42
32	
33	43
34	
35	44
36	
37	45
38	
39	46
40	
41	47
42	
43	48
44	
45	49
46	
47	50
48	
49	51
50	
51	52
52	
53	53
54	
55	54
56	
57	55
58	
59	56
60	
61	57
62	
63	58
64	
65	59

60 **Abstract**

61 **Background:** Nothing is known about the epidemiology and resistance mechanisms of  
62 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-PE) in Burkina Faso.  
63 The objective of this study was to determine ESBL-PE prevalence and to characterize ESBL  
64 genes in Burkina Faso.

65 **Methods:** During two months (June-July 2014), 1602 clinical samples were sent for  
66 bacteriologic investigations to the microbiology laboratories of the three main hospitals of  
67 Burkina Faso. Isolates were identified by mass spectrometry using a matrix-assisted laser  
68 desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) BioTyper. Antibiotic susceptibility was  
69 tested using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar. The different ESBL genes in  
70 potential ESBL-producing isolates were detected by PCR and double stranded DNA  
71 sequencing. *Escherichia coli* phylogenetic groups were determined using a PCR-based  
72 method.

73 **Results:** ESBL-PE frequency was 58% (179 strains among the 308 *Enterobacteriaceae*  
74 isolates identified in the collected samples; 45% in outpatients and 70% in hospitalized  
75 patients). The CTX-M-1 group was dominant (94%, CTX-M-15 enzyme), followed by the  
76 CTX-M-9 group (4%). ESBL producers were more often found in *E. coli* (67.5 %) and  
77 *Klebsiella pneumoniae* (26%) isolates. *E. coli* isolates (n=202; 60% of all *Enterobacteriaceae*  
78 samples) were distributed in eight phylogenetic groups (A=49, B1=15, B2=43, C=22, Clade  
79 I=7, D=37, F=13 and 16 unknown); 22 strains belonged to the sequence type ST131. No  
80 association between a specific strain and ESBL production was detected.

81 **Conclusions:** This report shows the alarming spread of ESBL genes in Burkina Faso. Public  
82 health efforts should focus on education (population and healthcare professionals),  
83 surveillance and promotion of correct and restricted antibiotic use to limit their dissemination.

84

85

86 **Background:**

1  
2 87 The emergence and spread of Multidrug Resistant (MDR) bacteria are major public health  
3  
4 88 threats. Particularly, bacteria that produce extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) are of  
5  
6 89 great concern because their resistance to penicillins and narrow- and extended-spectrum  
7  
8  
9 90 cephalosporins reduces considerably the treatment options [1]. ESBL genes originally  
10  
11 91 evolved from the  $\beta$ -lactamase *TEM-1*, *TEM-2* and *SHV-1* genes through mutations of the  
12  
13  
14 92 amino acids surrounding the active site and were mainly detected in nosocomial pathogens  
15  
16 93 [2]. However, during the past decade, the rapid and massive spread of CTX-M-type ESBLs  
17  
18  
19 94 has been described worldwide. This has considerably changed their epidemiology because  
20  
21 95 they combine the expansion of mobile genetic elements with specific clonal dissemination [3].  
22  
23 96 Furthermore, such plasmids typically carry resistance genes also to other drugs, such as  
24  
25  
26 97 aminoglycosides and fluoroquinolones [2]. Recent studies suggest that CTX-M-type ESBL-  
27  
28 98 producing *Enterobacteriaceae* (ESBL-PE) are endemic in most countries of Europe, Asia and  
29  
30  
31 99 South America, with high rates of CTX-M-type ESBL-producers particularly among  
32  
33 100 *Escherichia coli* (30 to 90%) and *Klebsiella pneumoniae* (10 to 60%) [4, 5]. Despite these  
34  
35  
36 101 public health concerns, little is known about ESBL diffusion in Africa. ESBL-PE rates  
37  
38 102 between 8.8 and 13.1% were reported in South Africa [6] and an alarmingly high proportion  
39  
40  
41 103 of ESBL-PE (49.3%) was found among clinical isolates from Ghana [7]. Conversely, no  
42  
43 104 information is available on the epidemiology of ESBL-producing pathogens in hospital or  
44  
45 105 community settings in Burkina Faso, a low-income country close to Ghana. Therefore, the  
46  
47  
48 106 aim of the present study was to estimate ESBL occurrence in clinical samples from  
49  
50 107 hospitalized and non-hospitalized patients and to characterize the ESBL genes as well as the  
51  
52  
53 108 genetic background of the identified *E. coli* strains.

54  
55 109

56  
57  
58 110

59  
60 111

61  
62  
63  
64  
65

112 **Methods**

113 **Study setting**

114 During two months (June – July 2014), all consecutive clinical samples sent to the  
115 microbiology laboratories of the three main hospitals of Burkina were investigated.

116 Specifically:

117 1. Yalgado Ouedraogo Teaching Hospital (CHU-YO) is the largest medical institution located  
118 in Ouagadougou, the capital city with a population of about 2 million inhabitants. This  
119 hospital has 716 beds and intensive care units that are used for surgical, medical and trauma  
120 emergencies. Annually, more than 20,000 inpatients (children and adults) are admitted among  
121 126,000 consultations.

122 2. Souro Sanou Teaching Hospital (CHU-SS) is the major healthcare and referral centre for  
123 the southern and western regions of Burkina Faso. It has 521 beds distributed in different  
124 specialized (medicine, surgery, gynaecology obstetric and paediatric) acute care units. The  
125 annual number of hospitalizations ranges from 15,000 to 20,000 patients among 108,000  
126 consultations.

127 3. Charles de Gaulle Paediatric Teaching Hospital (CHUP-CDG) is the referral paediatric  
128 hospital in Ouagadougou with 120 beds. About 6000 children are seen each year and 5000 are  
129 hospitalized. The microbiology laboratory also receives samples from adult outpatients.

130 **Specimen collection, identification and antimicrobial susceptibility testing**

131 In June and July 2014 (CHU-SS and CHUP-CDG) and July 2014 (CHU-YO), 1,602 clinical  
132 samples were sent to the three microbiology laboratories for bacteriologic investigations  
133 (CHU-YO: n= 521, CHU-SS: n=528 and CHUP-CDG: n=553). Bacterial cultures could be  
134 obtained only from 584 of these samples and they included 308 *Enterobacteriaceae* isolates.  
135 *Enterobacteriaceae* isolates were recovered from urine (n=185), pus (n=56), aspirates from  
136 various anatomic sites (n=38), stool (n=16), blood (n=8), vaginal swabs (n=3) and

137 cerebrospinal fluid samples (n=2). Species identification was performed by matrix-assisted  
138 laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (Bruker  
139 Daltonics, Bremen, Germany). Antimicrobial susceptibility was tested with the disk diffusion  
140 method on Müller-Hinton agar. The following antibiotics were tested: amoxicillin,  
141 amoxicillin-clavulanic acid, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, cefpodoxime,  
142 cefoxitin, cefotaxime, cephalotin, moxalactam, piperacillin, piperacillin-tazobactam,  
143 ticarcillin, ticarcillin-clavulanic acid, imipenem, nalidixic acid, ciprofloxacin, levofloxacin,  
144 ofloxacin, amikacin, gentamicin, netilmicin, tobramycin, fosfomycin, chloramphenicol,  
145 tetracycline and trimethoprim-sulfamethoxazole. Results were interpreted according to the  
146 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) clinical breakpoints  
147 (Version 5.0) ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)). ESBL production was detected  
148 by using the combined double-disk synergy method [8]. In case of high-level  
149 cephalosporinase production, the combined double-disk synergy test was performed using  
150 cloxacillin-supplemented medium.

### 151 **Molecular identification of ESBL genes**

152 DNA was extracted from one single colony for each isolate in a final volume of 100 µL of  
153 distilled water by incubation at 95°C for 10 min followed by a centrifugation step. The  
154 presence of *bla*<sub>CTX-M</sub> (CTX-M group 1, 2, 8, 9 and 25), *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> and *bla*<sub>OXA-like</sub> genes  
155 was assessed by multiplex PCR according to a previously published method [9]. DNA from  
156 reference *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> and *bla*<sub>OXA-like</sub>-positive strains was used as positive control.  
157 PCR products were visualized after electrophoresis on 1.5% agarose gels containing ethidium  
158 bromide at 100 V for 80 minutes. A 100 bp DNA ladder (Promega, USA) was used as a  
159 marker size. PCR products were purified using the ExoSAP-IT purification kit (GE  
160 Healthcare, Piscataway, NJ, USA) and sequenced bidirectionally on a 3100 ABI Prism  
161 Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Nucleotide sequence alignment and analyses were

1 performed online using the BLAST program available at the National Center for  
2 Biotechnology Information web page [http:// www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov).

### 3 4 5 **PCR detection of *Escherichia coli* phylogroups and ST131**

6  
7 165 *E. coli* phylogenetic grouping was performed using the PCR-based method described by  
8  
9 166 Clermont and al. [10]. For strains assigned to the B2 phylogenetic group, the sequence type  
10  
11 167 (ST) 131 was determined using a PCR method specific for the O25-b serotype with primers  
12  
13 168 that target the *pabB* and *trpA* genes, as previously described [11].

### 14 15 16 17 **Statistical analysis**

18  
19 170 Statistical analysis was performed with Epi Info, version 3.5.3 [Centers for Disease Control  
20  
21 and Prevention (CDC), Atlanta, GA, USA]. Associations between demographic variables  
22 171 (sex, site of infection and age) and infection by ESBL-PEs were analysed by using odds ratio  
23  
24 172 and a multinomial logistic regression model, when appropriate. A value of  $p < 0.05$  was  
25  
26 173 considered to be statistically significant.

### 27 28 29 30 31 **Results**

#### 32 33 34 **Occurrence of ESBL-producing *Enterobacteriaceae***

35  
36 177 During the study period, 308 different enterobacterial isolates were recovered from 158  
37  
38 hospitalized and 150 non-hospitalized patients (Table 1). The mean age of these patients was  
39 178  $29.7 \pm 24.6$  years and the sex ratio 1.4; 118 patients (38%) were younger than 15. Among  
40  
41 179 these 308 isolates, 179 (58%) were identified as potential ESBL-PEs by antimicrobial  
42  
43 180 susceptibility testing. PCR analysis confirmed that they all carried ESBL genes (Table 1).  
44  
45 181 Considering the isolate origin, ESBL-PE prevalence was of 65% (42/65) at CHU-YO, 59%  
46  
47 182 (84/142) at CHU-SS and 52% (53/101) at CHUP-CDG. Moreover, ESBL-PEs were found in  
48  
49 183 45% of outpatients and 70% of hospitalized patients ( $p < 0.001$ ). In hospitalized patients, no  
50  
51 184 demographic factor was significantly associated with ESBL-PE occurrence ( $p > 0.05$ ) (Table  
52  
53 185 1). Conversely in outpatients, the ESBL-PE prevalence was significantly higher among  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

187 patients older than 65 years of age (Odd Ratio [OR] = 6.4, 95% CI= 0.47-86.34; p = 0.001).

188 ESBL-PE rate was also significantly higher in male than female outpatients (OR=4.59) and in

189 urinary samples (59 of 119; 50%) (Table 1). Species identification showed that the 179

190 ESBL-PEs included 121 (67.5%) *E. coli*, 46 (26%) *K. pneumoniae*, 7 (4%) *Enterobacter*

191 *cloacae*, 2 (1%) *Providencia stuartii*, 1 (0.5%) *Enterobacter aerogenes*, 1 (0.5%) *Citrobacter*

192 *freundii* and 1 (0.5%) *Morganella morganii* species (Table 2). The highest proportion of

193 ESBL-PEs was found in blood samples (6/8, 75%). Moreover, within each species, the

194 fraction of ESBL producers was highest among *Morganella morganii* isolates (100%),

195 followed by *K. pneumoniae* (66%) and *E. coli* (60%) (Table 2).

#### 196 **Antibiotic susceptibility patterns.**

197 The susceptibility pattern of ESBL producing (n=179) and non-producing (n=129)

198 *Enterobacteriaceae* isolates is shown in Figure 1. ESBL-PE isolates were more resistant to

199 the other tested antibiotics than non-producers: cotrimoxazole (45% vs 5%), gentamicin

200 (89% vs 27.5%), tobramycin (86% vs 9%), netilmicin (88% vs 12%), ciprofloxacin (80% vs

201 12%), ofloxacin (70% vs 7%) and levofloxacin (82% vs 27%) (p < 0.05). None of the

202 collected *Enterobacteriaceae* isolates was resistant to imipenem.

#### 203 **Molecular characterization of ESBL and other $\beta$ -lactamase genes**

204 Most ESBL-PE isolates (94%) were identified as CTX-M group 1 producers because all of

205 them carried the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene. CTX-M group 9 producers represented only 4% of all

206 ESBL-PEs (*bla*<sub>CTX-M-14</sub> was detected in three isolates and *bla*<sub>CTX-M-27</sub> in five samples (Table

207 3). The *bla*<sub>SHV-12</sub> gene was detected in two isolates. The ESBL genes were detected alone or in

208 association with one to three other  $\beta$ -lactamase genes: *bla*<sub>OXA-1</sub>, *bla*<sub>SHV-1</sub> and *bla*<sub>TEM-1</sub>. While

209 *bla*<sub>CTX-M-15</sub> was found in all the different enterobacterial species, *bla*<sub>CTX-M-14</sub> was detected only

210 in *E. coli* samples (n=3), *bla*<sub>CTX-M-27</sub> in *E. coli* (n=2), *K. pneumoniae* (n=1) and *E. cloacae*

211 (n=1) isolates, and *bla*<sub>SHV-12</sub> in one *E. coli* and one *K. pneumoniae* sample (Table 3).

## 212 *Escherichia coli* phylogenetic groups and Sequence Type 131

1  
2 213 The phylogenetic group analysis revealed diversity in both ESBL-producing and non-  
3  
4  
5 214 producing *E. coli* isolates (n = 202). Specifically, *E. coli* isolates belonged to eight different  
6  
7 215 phylogenetic groups (A=49, B1=15, B2=43, C=22, Clade I=7, D=37 F=13) and 16 could not  
8  
9 216 be classified. Phylogenetic group A was more represented among ESBL-producers (31 of  
10  
11 217 121; 26%), followed by group D and B2 (for both: 26 of 121; 21.5%). Non-ESBL producers  
12  
13 218 belonged mainly to the phylogenetic groups A and B2 (18 and 17 of 81, respectively; 21%).  
14  
15  
16 219 Moreover, the ST131 sequence type was detected in 16 ESBL-producers and in six non-  
17  
18  
19 220 producers (Table 4).

## 221 **Discussion**

22  
23  
24 222 In this study, we investigated the frequency of ESBL production by *Enterobacteriaceae*  
25  
26 223 isolates from clinical samples sent to the three main hospitals of Burkina Faso in June and  
27  
28  
29 224 July 2014. Overall, 58% of these isolates were ESBL-PEs. This is much higher than the rates  
30  
31 225 reported in Europe [12, 13] and in other African countries: Algeria (17.7 - 31.4%) , Egypt  
32  
33 226 (42.9%) [14] and Ghana (49.4%) [7]. Lack of antibiotic surveillance may have contributed to  
34  
35  
36 227 increasing the ESBL-PE problem that certainly has been present in Burkina Faso for a long  
37  
38  
39 228 time. Indeed, it has been shown that in countries with limited resources where hygiene is poor  
40  
41 229 and antibiotics are misused, the absence of anti-microbial surveillance programmes increases  
42  
43 230 the risk of multi-resistance development by bacteria in hospitals and in the community [15-  
44  
45  
46 231 17]. We found that blood cultures had the highest proportion of ESBL-PE isolates. This  
47  
48  
49 232 differs from the results of a recent literature review on ESBL-PE prevalence in Africa [18]  
50  
51 233 showing a significantly lower proportion of ESBL-PE in blood cultures than in other  
52  
53 234 specimens. This discrepancy is certainly explained by the small number of enterobacterial  
54  
55  
56 235 strains (eight of which six were ESBL-PEs) recovered from blood samples. Indeed, 107  
57  
58 236 ESBL-PEs were identified in urine samples (107/185, 58%), a prevalence similar to what  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65



237 reported in previous studies [7, 19-21].ESBL producers were more often found in *E. coli*  
238 (67%) and *K. pneumoniae* (26%) isolates, in agreement with previous works showing that  
239 these two species are the predominant ESBL-producers worldwide . ESBL-producing *E. coli*  
240 is considered to be responsible for hospital- and community-acquired infections, while ESBL-  
241 producing *K. pneumoniae* is considered mainly a nosocomial pathogen [2, 22]. In agreement,  
242 we identified ESBL-producing *K. pneumoniae* most frequently in samples from hospitalized  
243 patients. ESBL-PE prevalence differed considerably between outpatients and inpatients (45%  
244 vs. 70%:  $p < 0.001$ ). More than two thirds of enterobacterial infections in hospitalized patients  
245 were thus caused by an ESBL-PE. In Burkina Faso, patients are usually hospitalized only in  
246 the case of very severe symptoms and after a long and empiric antibiotic therapy. These  
247 factors could explain this alarmingly high resistance level in hospitalized patients and also in  
248 outpatients (45% compared with 7.5% of community-acquired infections in Morocco [23] and  
249 11.7% in Nigeria) [24].In outpatients, ESBL-PE frequency was significantly higher in isolates  
250 from older patients (more than 65 years of age, [OR] = 6.4, 95% CI= 0.47-86.34). These  
251 results are in agreement with the study by Colodner and al. [3] showing that elderly patients  
252 present a higher antibiotic pressure and more underlying diseases, two significant risk factors  
253 for infection by ESBL producers [25]. In addition, ESBL-PE rate was significantly higher in  
254 male outpatients (OR=4.59, 95% CI = 2.14-9.84) and the urinary tract was the most frequent  
255 source (59 of 119, 50%). The possible explanation may be that complicated urinary tract  
256 infections are more frequent in elderly men than elderly women [26].

257 In this study most ESBL-PEs were resistant to multiple drugs, especially to fluoroquinolones,  
258 aminoglycosides, cotrimoxazole and tetracycline, as described in previous studies [27-29].  
259 This level of multi-resistance could lead to potential therapeutic impasses. Indeed, more than  
260 three quarters of ESBL-PE isolates were resistant to fluoroquinolones and aminoglycosides  
261 (but for amikacin), thus compromising the choice of antibiotic treatment, especially for

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

262 outpatients with urinary tract infections. Moreover alternative antimicrobial agents, such as  
263 amikacin, fosfomycin and imipenem, are very expensive and difficult to obtain in Burkina  
264 Faso. These alarming results should act as an impetus for the establishment of antibiotic  
265 control policies. Indeed, currently, there is no restriction in the use of antibiotics in Burkina  
266 Faso. Antibiotics can be purchased over the counter without medical prescription. Patients  
267 may buy only a few tablets of an antibiotic because of limited money availability. Moreover,  
268 patients may begin an antimicrobial regimen and stop it when they feel better, before the end  
269 of the treatment, to save the remaining tablets for another time.

270 Finally, we found that 94% of ESBL-PEs carried the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene. In the last decade,  
271 CTX-M enzymes, particularly CTX-M-15, have emerged worldwide and are the most  
272 prevalent in Europe, America and Asia [30-36]. Moreover, eight strains were CTX-M group 9  
273 producers (*bla*<sub>CTX-M-27</sub> in five and *bla*<sub>CTX-M-14</sub> in three). These genes have been previously  
274 detected in *E. coli* isolates in Kenya [37] and in Egypt [38]. Nevertheless, the *bla*<sub>CTX-M-15</sub> gene  
275 remains dominant in the African continent: 59% of ESBL-PE in South Africa [34], 83% in  
276 Mali [39], 91% in Tunisia [40] and 96% in Cameroon [41]. The *bla*<sub>SHV-12</sub> gene (detected in  
277 one *E. coli* and one *K. pneumoniae* sample) has emerged in recent years and has been also  
278 detected in different *Enterobacteriaceae* isolates in the previously quoted studies in African  
279 countries [34, 38-41].

280 The phylogenetic group assignment of the 202 *E. coli* isolated showed a high diversity in both  
281 populations (out-patients and in-patients) without any association between a specific strain  
282 and ESBL production. This indicates that the high frequency of ESBL carriage is not caused  
283 by the epidemic spread of a single resistant clone. This contrasts with previous studies in  
284 which the dissemination of CTX-M-15-producing isolates was associated with the spread of  
285 the ST131 *E. coli* strain belonging to phylogenetic group B2 [42-44]. Indeed, in the present  
286 study, most isolates were assigned to the commensal groups A (49/202, 24%) and B2 (43/202,

287 21%). Only 13 % (16/121) of ESBL-producers and 7% (6/81) of non ESBL-producers  
288 belonged to the ST131 clone. Moreover, some ESBL-producing *E. coli* isolated from urine,  
289 pus and blood samples belonged to three phylogenetic groups associated with CTX-M-15  
290 dissemination: the virulent extra-intestinal group D (26/121) [45] and groups C (11/121) and  
291 F (10/121), usually detected in urinary tract infections [46]. This important genetic diversity  
292 among isolates suggests that the high rate of ESBL production and associated resistance are  
293 more likely caused by the diffusion of plasmids carrying antibiotic resistance genes than to  
294 cross-transmission between patients. The maintenance of these plasmids was probably  
295 favoured by antibiotic pressure. Further investigations, including multilocus sequence typing  
296 and plasmid characterization, are needed to complete this study.

297 In summary, this first survey shows an alarmingly high frequency of multi-resistant ESBL-  
298 PEs among clinical isolates in Burkina Faso. The analysis of the resistance genes highlighted  
299 an important dissemination of *bla*<sub>CTX-M-15</sub> without clonal dissemination, suggesting a strong  
300 antibiotic selection pressure in hospital and community settings. Public health efforts should  
301 focus on educating the population and healthcare professionals about the proper use of  
302 antibiotics to halt/limit the spread of multi-resistant bacteria.

303

304

305

306

307

308

309

310

311

312

313

314

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

315 **List of abbreviations**

316 Charles de Gaulle Paediatric Teaching Hospital (CHUP-CDG)

317 CHU-SS : Souro Sanou Teaching Hospital

318 CHU-YO: Yalgado Ouedraogo Teaching Hospital

319 ESBL: extended-spectrum  $\beta$ -lactamases

320 ESBL-PE: extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*

321 MALDI-TOF: matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight

322 MDR: Multidrug Resistant

323 OR: Odd Ratio

324 **Ethical clearance**

325 Arbitrary numbers were assigned to the isolates recovered from patient specimens. The study  
326 was approved by the ethics authorities of each hospital: MS/SG/CHUSS/DG/DL 2014- 171  
327 July 2, 2014. This allowed us to conduct our study. Informed written consent was obtained  
328 from subjects and at least one parent of each child before enrollment.

329 **Consent for publication**

330 Not applicable

331 **Competing interests**

332 The authors declare that they have no competing interests

333 **Funding**

334 None

335 **Authors' contributions**

336 Conceived and designed the experiments: Ouédraogo Abdoul-Salam, Carrière Christian, Jean  
337 Pierre Hélène, Godreuil Sylvain, Sanou Idrissa, Nacro Boubacar, Sangaré Lassana and  
338 Ouédraogo Rasmata. Performed the experiments: Ouédraogo Abdoul-Salam , Kaboré Firmin  
339 and Poda Armel, Aberkane Salim, Bouzinbi Nicolas. Contributed reagents/materials/analysis  
340 tools: Ouédraogo Abdoul-Salam , Kaboré Firmin and Poda Armel, Aberkane Salim, Bouzinbi

341 Nicolas. Contributed to the writing of the manuscript: Ouédraogo Abdoul-Salam, Carrière  
1  
2 342 Christian, Jean Pierre Hélène, Godreuil Sylvain, Dominique Decré.

3  
4 343

5 344 **Acknowledgements**

6  
7 345 We would like to thank INSERM, IRD, CHU. We thank Elisabetta Andermarcher for  
8  
9 346 assistance in preparing and editing the manuscript.

10  
11 347

12  
13 348

14  
15 349

16  
17 350

18  
19 351

20  
21 352

22  
23 353

24  
25 354

26  
27 355

28  
29 356

30  
31 357

32  
33 358

34  
35 359

36  
37 360

38  
39 361

40  
41 362

42  
43 363

44  
45 364

46  
47 365

48  
49 366

50  
51 367

52  
53 368

54  
55 369

56  
57 370

58  
59 371

60  
61 372

62

63

64

65

373 **References**

- 1  
2 374 1. Rahal JJ: Extended-spectrum beta-lactamases: how big is the problem? *Clin Microbiol*  
3  
4  
5 375 *Infect* 2000, 6 Suppl 2:2-6.  
6  
7 376 2. Newire EA, Ahmed SF, House B, Valiente E, Pimentel G: Detection of new SHV-12,  
8  
9 377 SHV-5 and SHV-2a variants of extended spectrum beta-lactamase in *Klebsiella*  
10  
11 pneumoniae in Egypt. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2013, 12:16.  
12 378  
13  
14 379 3. Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, Raz R: Risk factors for  
15  
16 the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in  
17 380  
18 nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004, 23(3):163-167.  
19 381  
20  
21 382 4. Canton R, Coque TM: The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol*  
22  
23 2006, 9(5):466-475.  
24 383  
25  
26 384 5. Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C: The spread of CTX-M-type extended-  
27  
28 spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008, 14 Suppl 1:33-41.  
29 385  
30  
31 386 6. Paterson DL, Bonomo RA: Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin*  
32  
33 *Microbiol Rev* 2005, 18(4):657-686.  
34 387  
35  
36 388 7. Obeng-Nkrumah N, Twum-Danso K, Krogfelt KA, Newman MJ: High levels of  
37  
38 extended-spectrum beta-lactamases in a major teaching hospital in Ghana: the need for  
39 389  
40 regular monitoring and evaluation of antibiotic resistance. *Am J Trop Med Hyg* 2013,  
41 390  
42 89(5):960-964.  
43 391  
44  
45 392 8. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A: Extended broad-spectrum beta-  
46  
47 lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in  
48 393  
49 Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*  
50  
51 394  
52 1988, 10(4):867-878.  
53 395  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 396 9. Dallenne C, Da Costa A, Decre D, Favier C, Arlet G: Development of a set of  
1  
2 397 multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases  
3  
4 398 in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* 2010, 65(3):490-495.  
5  
6  
7 399 10. Clermont O, Christenson JK, Denamur E, Gordon DM: The Clermont Escherichia coli  
8  
9 400 phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new  
10  
11 401 phylo-groups. *Environ Microbiol Rep* 2013, 5(1):58-65.  
12  
13  
14 402 11. Clermont O, Dhanji H, Upton M, Gibreel T, Fox A, Boyd D, Mulvey MR, Nordmann  
15  
16 403 P, Ruppe E, Sarthou JL *et al*: Rapid detection of the O25b-ST131 clone of Escherichia  
17  
18 404 coli encompassing the CTX-M-15-producing strains. *J Antimicrob Chemother* 2009,  
19  
20 405 64(2):274-277.  
21  
22  
23  
24 406 12. Canton R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM:  
25  
26 407 Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing  
27  
28 408 Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008, 14 Suppl 1:144-153.  
29  
30  
31 409 13. Coque TM, Baquero F, Canton R: Increasing prevalence of ESBL-producing  
32  
33 410 Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill* 2008, 13(47).  
34  
35  
36 411 14. Storberg V: ESBL-producing Enterobacteriaceae in Africa - a non-systematic  
37  
38 412 literature review of research published 2008-2012. *Infect Ecol Epidemiol* 2014, 4.  
39  
40  
41 413 15. Jaggi N, Sissodia P, Sharma L: Control of multidrug resistant bacteria in a tertiary care  
42  
43 414 hospital in India. *Antimicrob Resist Infect Control* 2012, 1(1):23.  
44  
45  
46 415 16. Kanafani ZA, Mehio-Sibai A, Araj GF, Kanaan M, Kanj SS: Epidemiology and risk  
47  
48 416 factors for extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms: a case control  
49  
50 417 study at a tertiary care center in Lebanon. *Am J Infect Control* 2005, 33(6):326-332.  
51  
52  
53 418 17. Marcel JP, Alfa M, Baquero F, Etienne J, Goossens H, Harbarth S, Hryniewicz W,  
54  
55 419 Jarvis W, Kaku M, Leclercq R *et al*: Healthcare-associated infections: think globally,  
56  
57 420 act locally. *Clin Microbiol Infect* 2008, 14(10):895-907.  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
- 421 18. Sangare SA, Maiga AI, Guindo I, Maiga A, Camara N, Savadogo S, Diallo S,  
422 Bougoudogo F, Armand-Lefevre L, Andremont A *et al*: Prevalence of extended-  
423 spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from blood cultures in  
424 Africa. *Med Mal Infect* 2015, 45(9):374-382.
- 425 19. Cardwell SM, Crandon JL, Nicolau DP, McClure MH, Nailor MD: Epidemiology and  
426 Economics of Adult Patients Hospitalized with Urinary Tract Infections. *Hosp Pract*  
427 (1995) 2015.
- 428 20. Kumar M, Dutta R, Saxena S, Singhal S: Risk Factor Analysis in Clinical Isolates of  
429 ESBL and MBL (Including NDM-1) Producing Escherichia coli and Klebsiella  
430 Species in a Tertiary Care Hospital. *J Clin Diagn Res* 2015, 9(11):DC08-13.
- 431 21. Oh MM, Chae JY, Kim JW, Kim JW, Yoon CY, Park MG, Moon du G: Positive  
432 culture for extended-spectrum beta-lactamase during acute prostatitis after prostate  
433 biopsy is a risk factor for progression to chronic prostatitis. *Urology* 2013, 81(6):1209-  
434 1212.
- 435 22. Nakayama T, Ueda S, Huong BT, Tuyen le D, Komalamisra C, Kusolsuk T, Hirai I,  
436 Yamamoto Y: Wide dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing  
437 Escherichia coli in community residents in the Indochinese peninsula. *Infect Drug*  
438 *Resist* 2015, 8:1-5.
- 439 23. Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Reguig A, Jamali L, Zerouali K, Timinouni M:  
440 Prevalence and genotypic analysis of plasmid-mediated beta-lactamases among  
441 urinary Klebsiella pneumoniae isolates in Moroccan community. *J Antibiot (Tokyo)*  
442 2013, 66(1):11-16.
- 443 24. Afunwa RA, Odimegwu DC, Iroha RI, Esimone CO: Antimicrobial resistance status  
444 and prevalence rates of extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producers isolated  
445 from a mixed human population. *Bosn J Basic Med Sci* 2011, 11(2):91-96.



- 1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65
- 446 25. Rodriguez-Bano J, Navarro MD: Extended-spectrum beta-lactamases in ambulatory  
447 care: a clinical perspective. *Clin Microbiol Infect* 2008, 14 Suppl 1:104-110.
- 448 26. Raz R, Okev N, Kennes Y, Gilboa A, Lavi I, Bisharat N: Demographic characteristics  
449 of patients with community-acquired bacteriuria and susceptibility of urinary  
450 pathogens to antimicrobials in northern Israel. *Isr Med Assoc J* 2000, 2(6):426-429.
- 451 27. Andriatahina T, Randrianirina F, Hariniana ER, Talarmin A, Raobijaona H, Buisson  
452 Y, Richard V: High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-  
453 producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in  
454 Madagascar. *BMC Infect Dis* 2010, 10:204.
- 455 28. Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, Chmelnitsky I,  
456 Leavitt A, Carmeli Y: Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing  
457 enterobacteriaceae into the hospital. *Clin Infect Dis* 2006, 42(7):925-934.
- 458 29. Gangoue-Pieboji J, Koulla-Shiro S, Ngassam P, Adioogo D, Ndumbe P: Antimicrobial  
459 activity against gram negative bacilli from Yaounde Central Hospital, Cameroon. *Afr*  
460 *Health Sci* 2006, 6(4):232-235.
- 461 30. Drieux L, Brossier F, Duquesnoy O, Aubry A, Robert J, Sougakoff W, Lecso-Bornet  
462 M, Jarlier V: Increase in hospital-acquired bloodstream infections caused by extended  
463 spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a large French teaching  
464 hospital. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009, 28(5):491-498.
- 465 31. Hara T, Sato T, Horiyama T, Kanazawa S, Yamaguchi T, Maki H: Prevalence and  
466 molecular characterization of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing  
467 *Escherichia coli* from 2000 to 2010 in Japan. *Jpn J Antibiot* 2015, 68(2):75-84.
- 468 32. Ho PL, Poon WW, Loke SL, Leung MS, Chow KH, Wong RC, Yip KS, Lai EL,  
469 Tsang KW: Community emergence of CTX-M type extended-spectrum beta-

- 470 lactamases among urinary *Escherichia coli* from women. *J Antimicrob Chemother*  
1  
2 471 2007, 60(1):140-144.  
3  
4  
5 472 33. Machado E, Coque TM, Canton R, Novais A, Sousa JC, Baquero F, Peixe L: High  
6  
7 473 diversity of extended-spectrum beta-lactamases among clinical isolates of  
8  
9 474 Enterobacteriaceae from Portugal. *J Antimicrob Chemother* 2007, 60(6):1370-1374.  
10  
11  
12 475 34. Peirano G, van Greune CH, Pitout JD: Characteristics of infections caused by  
13  
14 476 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from community  
15  
16 477 hospitals in South Africa. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011, 69(4):449-453.  
17  
18  
19 478 35. Silva J, Aguilar C, Becerra Z, Lopez-Antunano F, Garcia R: Extended-spectrum beta-  
20  
21 479 lactamases in clinical isolates of enterobacteria in Mexico. *Microb Drug Resist* 1999,  
22  
23 480 5(3):189-193.  
24  
25  
26 481 36. Zhang H, Zhou Y, Guo S, Chang W: High prevalence and risk factors of fecal carriage  
27  
28 482 of CTX-M type extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae from  
29  
30 483 healthy rural residents of Taian, China. *Front Microbiol* 2015, 6:239.  
31  
32  
33  
34 484 37. Kiiru J, Kariuki S, Goddeeris BM, Butaye P: Analysis of beta-lactamase phenotypes  
35  
36 485 and carriage of selected beta-lactamase genes among *Escherichia coli* strains obtained  
37  
38 486 from Kenyan patients during an 18-year period. *BMC Microbiol* 2012, 12:155.  
39  
40  
41 487 38. Mohamed Al-Agamy MH, El-Din Ashour MS, Wiegand I: First description of CTX-  
42  
43 488 M beta-lactamase-producing clinical *Escherichia coli* isolates from Egypt. *Int J*  
44  
45 489 *Antimicrob Agents* 2006, 27(6):545-548.  
46  
47  
48  
49 490 39. Duval V, Maiga I, Maiga A, Guillard T, Brasme L, Forte D, Madoux J, Vernet-  
50  
51 491 Garnier V, De Champs C: High prevalence of CTX-M-type beta-lactamases among  
52  
53 492 clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bamako, Mali. *Antimicrob Agents Chemother*  
54  
55 493 2009, 53(11):4957-4958.  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

- 494 40. Dahmen S, Bettaieb D, Mansour W, Boujaafar N, Bouallegue O, Arlet G:  
1  
2 495 Characterization and molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases  
3  
4 496 in clinical isolates of Enterobacteriaceae in a Tunisian University Hospital. *Microb*  
5  
6  
7 497 *Drug Resist* 2010, 16(2):163-170.  
8
- 9 498 41. Lonchel CM, Melin P, Gangoue-Pieboji J, Assoumou MC, Boreux R, De Mol P:  
10  
11 499 Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Cameroonian  
12  
13 500 hospitals. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013, 32(1):79-87.  
14  
15
- 16 501 42. Coque TM, Novais A, Carattoli A, Poirel L, Pitout J, Peixe L, Baquero F, Canton R,  
17  
18 502 Nordmann P: Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing  
19  
20 503 extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15. *Emerg Infect Dis* 2008, 14(2):195-200.  
21  
22  
23 504 43. Moubareck C, Daoud Z, Hakime NI, Hamze M, Mangeney N, Matta H, Mokhbat JE,  
24  
25 505 Rohban R, Sarkis DK, Doucet-Populaire F: Countrywide spread of community- and  
26  
27 506 hospital-acquired extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-15)-producing  
28  
29 507 Enterobacteriaceae in Lebanon. *J Clin Microbiol* 2005, 43(7):3309-3313.  
30  
31  
32  
33 508 44. Rossi F, Baquero F, Hsueh PR, Paterson DL, Bochicchio GV, Snyder TA,  
34  
35 509 Satishchandran V, McCarroll K, DiNubile MJ, Chow JW: In vitro susceptibilities of  
36  
37 510 aerobic and facultatively anaerobic Gram-negative bacilli isolated from patients with  
38  
39 511 intra-abdominal infections worldwide: 2004 results from SMART (Study for  
40  
41 512 Monitoring Antimicrobial Resistance Trends). *J Antimicrob Chemother* 2006,  
42  
43 513 58(1):205-210.  
44  
45  
46  
47 514 45. Janvier F, Delacour H, Tesse S, Larreche S, Sanmartin N, Ollat D, Rapp C, Merens A:  
48  
49 515 Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteria among  
50  
51 516 soldiers at admission in a French military hospital after aeromedical evacuation from  
52  
53  
54  
55 517 overseas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014, 33(10):1719-1723.  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

518 46. Iranpour D, Hassanpour M, Ansari H, Tajbakhsh S, Khamisipour G, Najafi A:  
1  
2 519 Phylogenetic groups of Escherichia coli strains from patients with urinary tract  
3  
4 520 infection in Iran based on the new Clermont phylotyping method. *Biomed Res Int*  
5  
6  
7 521 2015, 2015:846219.

8  
9 522  
10 523  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 **Table 1: Demographic characteristics and source of the bacterial isolates.**

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

Variable	Outpatients (n=150)				Inpatients (n=158)			
	ESBL-positive (n= 68)	ESBL-negative (n= 82)	Odds Ratio (95% CI)	P-value	ESBL-positive (n=111)	ESBL-negative (n=47)	Odds Ratio (95% CI)	P-value
<b>Sex</b>				<b>&lt; 0.001</b>				<b>0.724</b>
F (n=129)	16	48	1		47	18	1	
M (n=179)	52	34	4.59 (2.14-9.84)		64	29	0.85 (0.42-1.70)	
<b>Source of isolates</b>				<b>0.019</b>				<b>0.139</b>
Urine sample (n=185)	59	60	1		48	18	1	
Pus (n=56)	06	07	0.87 (0.28-2.75)		32	11	1.09 (0.46-2.61)	
Aspirate (n=38)	02	03	0.68 (0.11-4.20)		24	09	1.00 (0.39-2.56)	
Other* (n=29)	01	12	0.08 (0.01-0.67)		07	09	0.29 (0.09-0.90)	
<b>Age</b>				<b>&lt;0.001</b>				<b>0.607</b>
≤28 days	01	02	1		09	04	1	
>28 days-1 year	01	08	0.20 (0.01-4.72)		07	04	0.78 (0.14-4.27)	
>1-5 years	02	15	0.31 (0.02-5.19)		06	06	0.44 (0.09-2.28)	
>5-15 years	04	07	1.14 (0.08-16.95)		30	12	1.11 (0.29-4.31)	
>15-65 years	44	45	1.96 (0.17-22.35)		49	19	1.15 (0.32-4.17)	
>65 years	16	05	6.40 (0.47-86.34)		10	02	2.22 (0.33-15.18)	

21 **CI = confidence interval, ESBL = extended-spectrum beta-lactamase; F= females; M=males; n=number; \*other: stool, cerebrospinal fluid, blood samples and high**  
 22 **vaginal swabs**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32

**Table 2: Prevalence of ESBL-producing isolates among the different Enterobacteriaceae species identified in our samples**

Species	Distribution of ESBL-producing isolates in samples (%)								
	Within species	Total (%)	Urine (n=185)	Stool (n=16)	Blood (n=8)	Pus (n=56)	Aspirates (n=38)	HVS (n=3)	CSF (n=2)
<i>Escherichia coli</i>	121/202 (60%)	67.5%	67/114	0/15	0	29/39	23/31	2/2	0/1
<i>Klebsiella pneumonia</i>	46/70 (66%)	26%	32/51	0	5/6	6/8	3/4	0/1	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	7/13 (54%)	4%	6/10	0	0	1/3	0	0	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1/3 (33%)	0.5%	1/2	0	0	0	0/1	0	0
<i>Citrobacter koseri</i>	0/1		0	0	0	0	0/1	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1/3 (33%)	0.5%	1/2	0	0	0/1	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5		0/4	0	0	0/1	0	0	0
<i>Providencia stuartii</i>	2/6 (33%)	1%	0/1	0	1/1	1/3	0/1	0	0
<i>Salmonella spp</i>	0/3		0	0/1	0/1	0	0	0	0/1
<i>Morganella morgannii</i>	1/1 (100%)	0.5%	0	0	0	1/1	0	0	0
<i>Leclercia adecarboxylata</i>	0/1		0/1	0	0	0	0	0	0
Total (%)	179/308 (58%)	100%	107/185	0/16	6/8	38/56	26/38	2/3	0/2

**CSF: cerebrospinal fluid; ESBL = extended-spectrum beta-lactamase; HVS: high vaginal swab; n=number**

1 **Table 3: Characterization of genes encoding beta lactamases in the 179 ESBL-producer isolates.**

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

Isolates (n)	Outpatients (n=68)			Inpatients (n=111)			
	Hospital (n)	ESBL Type	Other β-lactamases	ESBL Types	Other β-lactamases		
<i>Escherichia coli</i> (121)	CHU-YO (37)	CTX-M-15 (1)	OXA-1(1)	CTX-M-14 (1)	SHV-1, TEM -1 (1)		
		CTX -M-15 (2)	SHV-1 (2)	CTX-M-14 (1)	TEM-1 (1)		
		CTX-M-15 (1)	TEM-1 (1)	CTX-M-15 (3)	TEM-1, OXA-1 (3)		
		CTX-M-15 (1)		CTX-M-15 (7)	TEM-1(7)		
				CTX-M-15 (3)	SHV-1 (3)		
				CTX-M-15 (12)	OXA-1 (12)		
				CTX-M-15 (3)			
				CTX-M-27 (2)	TEM-1 (2)		
<i>Klebsiella pneumonia</i> (46)	CHUSS (52)	CTX-M-15 (3)	SHV-1, OXA -1 (3)	CTX-M-15 (1)	SHV-1, OXA -1 (1)		
		CTX-M-15 (1)	TEM-1, OXA-1 (1)	CTX-M-15 (1)	TEM-1, OXA-1 (1)		
		CTX-M-15 (2)	TEM-1 (2)	CTX-M-15 (1)	TEM-1 (1)		
		CTX-M-15 (27)	OXA-1 (27)	CTX-M-15 (15)	OXA-1 (15)		
		SHV-12 (1)					
		CHUP-CDG (32)	CTX-M-15 (1)	OXA-1 (1)	CTX-M-14 (2)	TEM-1, OXA-1 (2)	
			CTX-M-15 (4)	TEM-1(4)	CTX-M-15 (8)	TEM-1, OXA-1 (8)	
			CTX-M-27 (1)	OXA-1, TEM-1(1)	CTX-M-15 (10)	TEM-1(10)	
					CTX-M-15 (6)	OXA-1 (6)	
		<i>Klebsiella pneumonia</i> (46)	CHU-YO (5)	CTX-M-15(1)	TEM-1, OXA-1(1)	CTX-M-15 (1)	SHV-1, OXA-1, TEM-1 (1)
				SHV-12 (1)		CTX-M-15 (2)	OXA-1 (2)
CHUSS (24)	CTX-M-15(1)			SHV-1, OXA-1, TEM-1(1)	CTX-M-15(3)	SHV-1, OXA-1, TEM-1(3)	
	CTX- M-15 (2)			SHV-1, OXA-1, (2)	CTX-M-15(2)	SHV-1, OXA-1 (2)	
	CTX-M-15(3)			SHV-1, TEM-1 (3)	CTX-M-15(2)	OXA-1, TEM-1 (2)	
	CTX-M-15(5)			OXA-1 (5)	CTX-M15 (2)	OXA-1 (2)	
	CTX-M-15(1)			TEM-1(1)	CTX-M-15(1)		
	CTX-M-15(2)			SHV-1 (2)			
CHUP-CDG (17)	CTX-M-15 (2)			OXA-1 (2)	CTX-M-15 (3)	OXA-1(3)	
					CTX-M-15 (5)	EM-1, OXA-1 (5)	
					CTX-M-15(4)	SHV-1, TEM-1(4)	
					CTX-M-15(2)	SHV-11	
					CTX-M-27(1)	SHV-1(1)	
Other strains (12)		CTX-M-15(2)	OXA-1, TEM-1 (2)	CTX-M-15 (5)	OXA-1, TEM-1		
		CTX-M-15 (2)	TEM-1, SHV-1 (2)	CTX-M-15 (1)	SHV-11(1)		
		CTX-M-27 (1)	OXA-1 (1)	CTXM-15 (1)			





1 **Table 4: Phylogenetic group assignment of the 202 *E. coli* strains subdivided based on the detection or not of ESBL genes**

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

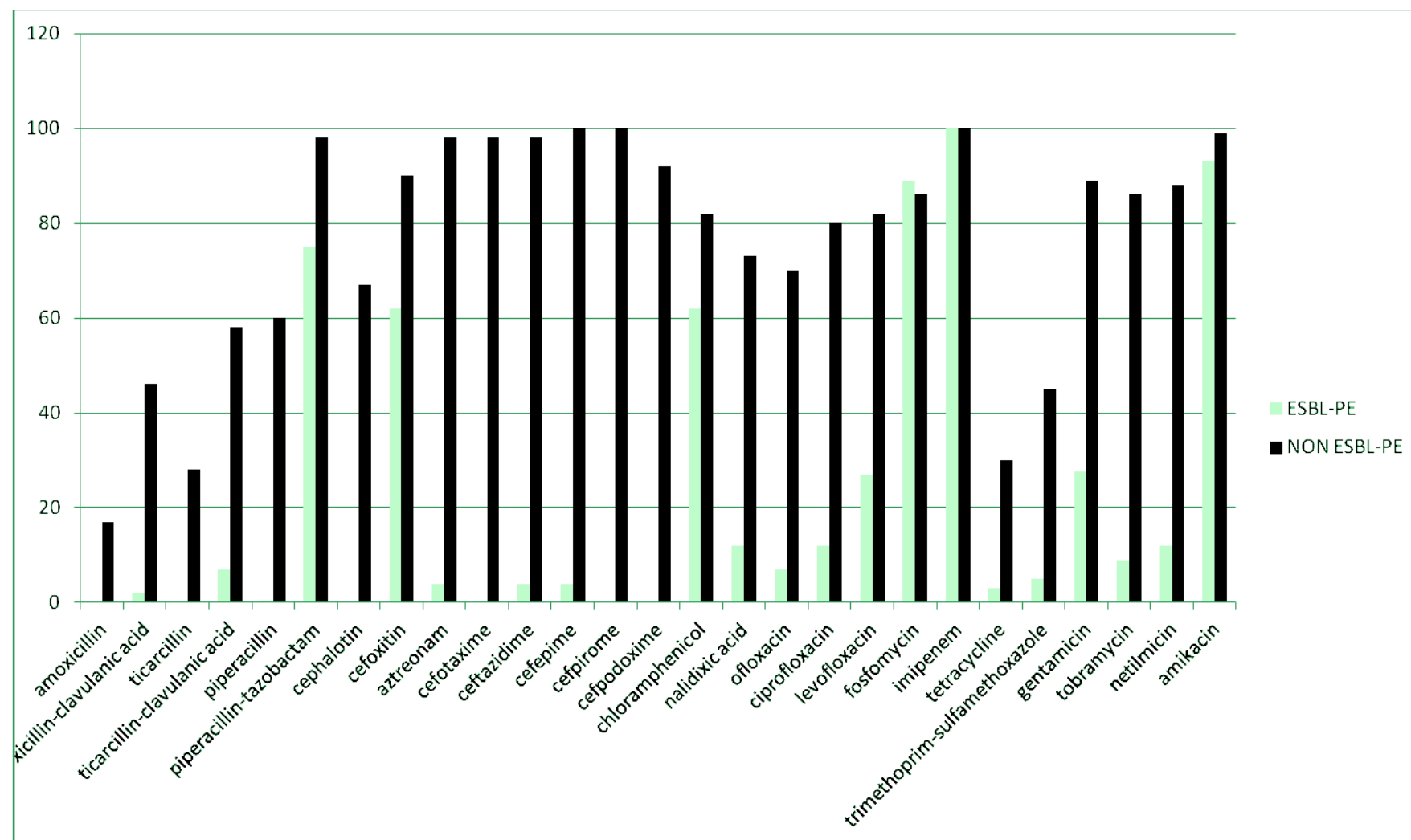
17

18

19

20

		ESBL-Positive (n=121)									ESBL-Negative (n=81)									
		A	B1	B2	C	Clade I	D	F	Unknown	ST131	A	B1	B2	C	Clade I	D	F	Unknown	ST131	
Hospital (number of samples)																				
CHU-YO (55)																				
	Outpatients (16)	0	0	3	0	0	2	0	0	1	0	0	1	6	0	0	0	4	0	
	Inpatients (39)	9	2	4	6	0	5	6	0	3	0	0	3	0	0	2	0	2	1	
CHU-SS (90)																				
	Outpatients (59)	6	1	11	4	2	8	1	0	8	7	2	7	4	1	3	2	0	4	
	Inpatients (31)	7	1	5	1	0	3	1	1	4	2	2	1	1	1	0	1	3	0	
CHUP-CDG (57)																				
	Outpatients (20)	0	1	0	0	0	2	2	1	0	7	2	3	0	0	1	0	1	1	
	Inpatients (37)	9	2	3	0	3	6	0	3	0	2	2	2	0	0	5	0	1	0	



1

2 Fig 1: Results of the antibiotic susceptibility test for the 179 ESBL-producing (ESBL-PE) and the 129 non-ESBL-producing (NON ESBL-PE) *Enterobacteriaceae*

3 isolates

**CHAPITRE IV :**

**PREMIERE DESCRIPTION DE PLASMIDES INCX3  
PORTANT LE GENE *BLA*<sub>OXA-181</sub> DANS DES ISOLATS  
CLINIQUES DE *ESCHERICHIA COLI* AU BURKINA  
FASO**

## Préambule

Depuis leur première description dans les hôpitaux Indiens en 2011, la carbapénémase dérivée d'OXA-48, OXA -181, a émergé partout dans le monde. En Afrique, la présence d'OXA-48 est bien décrite dans le Maghreb. Cependant les enzymes dérivées ont rarement été décrites dans le continent. Nous rapportons dans cette étude, les premiers cas de souches cliniques de *Escherichia coli* portant le gène *bla*<sub>OXA-181</sub> au Burkina Faso.

Quatre isolats d'*E. coli* producteurs de bêtalactamases à spectre élargi isolés de patients différents dans deux hôpitaux du pays avaient une réduction de la sensibilité aux carbapénèmes. Une PCR multiplex réalisée sur les souches à la recherche des gènes codant pour les carbapénémases les plus courants a révélé la présence d'OXA-181 dans ces quatre souches. Un typage des souches a montré que toutes les quatre souches appartenaient à une nouvelle séquence type (ST) 692. La caractérisation de l'environnement génétique du gène de résistance a montré qu'il était porté par un plasmide de type IncX3 de 54kb récemment décrit en Chine. En dépit des données cliniques et épidémiologiques notamment l'hospitalisation dans des services différents et l'inexistence de liens familiaux entre les patients, les résultats de typage des isolats n'excluent pas l'infection de ces quatre patients par la même souche multirésistante.

Depuis la description en Chine du plasmide IncX3, la circulation en Afrique de l'ouest de ces plasmides est une menace majeure de santé publique quand on sait que ces plasmides portent des gènes de carbapénémases. Il s'avère urgent de mettre en place des systèmes de surveillance pour empêcher la diffusion de ces plasmides et des souches porteuses

1 **First description of IncX3 plasmids carrying *bla*<sub>OXA-181</sub> in *Escherichia coli* clinical**  
2 **isolates in Burkina Faso**

3 Abdoul-Salam Ouédraogo<sup>2,3\*</sup>, Fabrice Compain<sup>8</sup>, Mahamoudou Sanou<sup>9</sup>, Salim Aberkane<sup>1,2,3</sup>,  
4 Nicolas Bouzinbi<sup>1,2,3</sup>, Mallorie Hide<sup>12</sup>, Lassana Sangaré<sup>9</sup>, Rasmata Ouédraogo-Traoré<sup>9</sup>,  
5 Hélène Jean-Pierre<sup>1,7</sup>, Julie Vendrell<sup>2,10,11</sup>, Jérôme Solassol<sup>2,10,11</sup>, Dominique Decré<sup>4,5,6</sup>,  
6 Sylvain Godreuil<sup>1,2,3</sup>

7

8 <sup>1</sup>Département de bactériologie-virologie, Centre hospitalier régional universitaire (CHRU) de  
9 Montpellier, Montpellier, France.

10 <sup>2</sup>Université de Montpellier, France

11 <sup>3</sup>Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Infection by HIV and by agents  
12 with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention), Montpellier, France

13 <sup>4</sup> Sorbonne University, UPMC Univ Paris 06 CR7, CIMI, team E13, Paris, France.

14 <sup>5</sup> INSERM U1135, CIMI, team E13, Paris, France.

15 <sup>6</sup> AP-HP, Microbiology, St-Antoine Hospital, Paris, France

16 <sup>7</sup>UMR 5119 ECOSYM, Equipe Pathogènes et Environnements, Laboratoire de Bactériologie,  
17 U.F.R. des Sciences pharmaceutiques et biologiques, Montpellier, France

18 <sup>8</sup> Microbiology, AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

19 <sup>9</sup>Unité de Formation et de Recherche des Sciences de la Santé, Université de Ouagadougou,  
20 Burkina Faso

21 <sup>10</sup>Department of Biopathology, CHRU Montpellier, France

22 <sup>11</sup>Department of Clinical Oncoproteomic, Montpellier Cancer Institute, Montpellier, France

23 <sup>12</sup>MIVEGEC UMR IRD 224-CNRS 5290- University of Montpellier, Centre IRD,

24 Montpellier France

25

26 **Running title:** OXA-181 in Burkina Faso

27

28 **Keywords:** plasmid, OXA-181, carbapenemase, IncX3, Burkina Faso,

29

30 **\*Corresponding author:**

31 Ouédraogo Abdoul-Salam

32 Department of Bacteriology-Virology, CHU Arnaud de Villeneuve, 371 Avenue du doyen

33 Gaston Giraud, 34295 - Montpellier Cedex 5, France

34 Phone: +33 6 62 89 47 17; Fax: +33 4 67 33 58 93 ; E-mail: [abdousal2000@yahoo.fr](mailto:abdousal2000@yahoo.fr)

35 Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) have been increasingly reported  
36 worldwide. The few studies available on CPE epidemiology in West and East Africa highlight  
37 the identification of carbapenemases in Cameroon (NDM-4), Kenya (NDM-1), Sierra-Leone  
38 (VIM and DIM-1), Senegal (OXA-48) and Tanzania (KPC, IMP, OXA-48, VIM and NDM)  
39 (1). Although *bla*<sub>OXA-48</sub> genes are widely spread in North Africa, *bla*<sub>OXA-48</sub> derivatives have  
40 been rarely reported in Africa. Indeed, *bla*<sub>OXA-163</sub> was detected in Egypt twice and *bla*<sub>OXA-181</sub> (a  
41 point mutant analogue of OXA-48) only once in South Africa (1). Here, we describe the first  
42 four cases of *Escherichia coli* carrying the *bla*<sub>OXA-181</sub> gene in Burkina Faso.

43 Four *E. coli* strains (Table 1) were isolated from four patients in two hospitals in  
44 Ouagadougou, Burkina Faso. Carbapenem minimal inhibitory concentrations (MIC),  
45 determined using the Etest (bioMerieux), were 1-1.5 mg/L, 0.125-0.75 mg/L and 0.25-0.5  
46 mg/L for ertapenem, doripenem and imipenem, respectively (Table 1). Three patients  
47 received antibiotics before strain isolation (Table 1). None of the patients did recently travel  
48 outside Burkina Faso. Multiplex PCR and DNA sequencing targeting the most prevalent  
49 extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) and carbapenemase-encoding genes (2, 3) revealed  
50 the presence of *bla*<sub>CTX-M-15</sub> and of *bla*<sub>OXA-181</sub> in the four isolates. No other carbapenemase-  
51 encoding gene (NDM, VIM, IMP and KPC) was detected. Multilocus sequence typing  
52 (MLST) (<http://bigsd.b.pasteur.fr/>) showed that the four strains belonged to the new  
53 sequence type (ST) 692 which is described here for the first time. Enterobacterial repetitive  
54 intergenic consensus sequence PCR (ERIC-PCR) (4) patterns (Supplemental Figure S1) and  
55 variable-number of tandem repeats (VNTR)(5) profile based on the analysis of 7  
56 polymorphic loci (6-1-5-8-3-5-1, see Table 1) confirmed the genetic link among the four *E.*  
57 *coli* strains. However, the review of medical records indicated that the four patients were  
58 hospitalized in different structures (hospitals and wards). Furthermore, there was no

59 relationship or shared housing between patients. These data do not exclude an infection by the  
60 same multidrug-resistant clone circulating in these hospitals.

61 Plasmid DNA was extracted by alkaline lysis and subsequently analyzed by gel  
62 electrophoresis as previously described (6). Comparative analysis was carried out using  
63 reference plasmids RP4 (54 kb), pCFF04 (85 kb), and pIP173 (126.8 kb) and showed two  
64 different plasmids of ca. 120 kb and ca. 54 kb, respectively, in each strain.

65 Plasmid DNA was extracted using the QIAprep Spin Miniprep Kit (QIAGEN) and transferred  
66 by electroporation into *E. coli* DH10B (Invitrogen, Cergy-Pontoise, France). The *bla*<sub>OXA-181</sub>-  
67 carrying transformants showed MICs of 0.38-0.5 mg/L and 0.5-0.75 mg/L for ertapenem and  
68 imipenem, respectively. Analysis by plasmid relaxase gene typing (7) and PCR-based  
69 replicon typing (8) identified IncX3-type relaxase and ColE-type replication initiation genes,  
70 respectively, in the transformants. Alkaline lysis of transformants and subsequent  
71 electrophoresis showed that these genes were carried by the ca. 54 kb plasmid. As a *bla*<sub>OXA-  
72 181</sub>-carrying IncX3 plasmid was recently identified in *E. coli* in China (9), PCR-mapping was  
73 carried out in the four strains and their respective transformants with primers designed using  
74 the plasmid pOXA181\_EC14828 as template (Genbank accession number KP400525). All  
75 primers used for PCR-mapping are reported in Supplementary Table S1. PCR-mapping gave  
76 similar results in all four *E. coli* strains. DNA regions surrounding the *bla*<sub>OXA-181</sub> gene are  
77 detailed in Figure 1 and showed that *bla*<sub>OXA-181</sub> was part of the Tn2013 transposon, as  
78 previously described (10). The same genetic context was recovered in all six *bla*<sub>OXA-181</sub>-  
79 surrounding sequences available in the Genbank database (Genbank accession numbers:  
80 KP400525, AB972272, JN205800, NZ\_JRKW01000020, JQ996150 and KT005457) (10, 11).  
81 The *repA1* gene (encoding a ColE-type replication initiation protein) was downstream of  
82 Tn2013. This replicase gene was also found on plasmids pKP3-A (JN205800) and pMR3-  
83 OXA181 (NZ\_JRKW01000020) that belong to the colE and IncN incompatibility groups,



84 respectively. This suggests that *bla*<sub>OXA-181</sub> might come from a ColE-type scaffold. The  
85 fluoroquinolone resistance gene *qnrS1* was also detected downstream of *bla*<sub>OXA-181</sub> (Figure 1).  
86 IncX3-specific backbone was recovered at the 5' extremity of *bla*<sub>OXA-181</sub> surrounding regions  
87 and included, in addition to the *repB* replicase gene, the *parA* partition gene (12) and the  
88 *umuD* gene involved in SOS mutagenesis (13). Large-scale PCR-mapping targeting various  
89 plasmid regions including transfer, replication and partition systems was also performed and  
90 covered a total of 29,569 bp, which amounts to ca. 55% coverage when compared to the  
91 estimated size of the plasmid (Figure 2 and Supplementary Table S1). All PCR products  
92 displayed 100% identity when compared to the respective regions of plasmid  
93 pOXA181\_EC14828 (Figure 2).

94 Since the first description in Indian hospitals in 2011, OXA-181-positive Enterobacteriaceae  
95 have been reported worldwide (1, 10). Their emergence in West Africa in IncX3 plasmids is  
96 of particular concern because these plasmids mediate the spread of carbapenemases in  
97 Enterobacteriaceae (14, 15). Moreover, a recent study found an IncX3 plasmid harboring  
98 *bla*<sub>OXA-181</sub> in a *Klebsiella variicola* isolate in fresh vegetables imported to Switzerland from  
99 Asia (11). This plasmid, named pKS22 (KT005457), is highly similar to pOXA181\_EC14828  
100 (100% coverage and 99% identity) and therefore to the four IncX3 plasmids described in our  
101 study. The presence of highly similar IncX3 plasmids in Asia, Africa and Europe might  
102 suggest the epidemic potential of this plasmid lineage and their role in worldwide  
103 dissemination of OXA-181.

104 The emergence of carbapenemase genes and their molecular support have to be closely  
105 monitored in West Africa and large-scale surveillance systems will have to be implemented to  
106 prevent the widespread dissemination of multidrug-resistant bacteria.

107

108 **Acknowledgements**

109 We thank the team of curators of the Institut Pasteur MLST and whole genome MLST  
110 databases for data curation and making them publicly available at  
111 <http://bigsdb.web.pasteur.fr/>. We thank Elisabetta Andermarcher for assistance in preparing  
112 and editing the manuscript.

113

114 **References**

- 115 1. **Manenzhe RI, Zar HJ, Nicol MP, Kaba M.** 2015. The spread of carbapenemase-  
116 producing bacteria in Africa: a systematic review. *J Antimicrob Chemother* **70**:23–40.
- 117 2. **Dallenne C, Da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G.** 2010. Development of a set of  
118 multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in  
119 Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* **65**:490–495.
- 120 3. **Hornsey M, Phee L, Wareham DW.** 2011. A Novel Variant, NDM-5, of the New Delhi  
121 Metallo- $\beta$ -Lactamase in a Multidrug-Resistant *Escherichia coli* ST648 Isolate Recovered  
122 from a Patient in the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother* **55**:5952–5954.
- 123 4. **Versalovic J, Koeuth T, Lupski JR.** 1991. Distribution of repetitive DNA sequences in  
124 eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res*  
125 **19**:6823–6831.
- 126 5. **Lindstedt B-A, Brandal LT, Aas L, Vardund T, Kapperud G.** 2007. Study of  
127 polymorphic variable-number of tandem repeats loci in the ECOR collection and in a set  
128 of pathogenic *Escherichia coli* and *Shigella* isolates for use in a genotyping assay. *J*  
129 *Microbiol Methods* **69**:197–205.
- 130 6. **Kado CI, Liu ST.** 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small  
131 plasmids. *J Bacteriol* **145**(3):1365–73.
- 132 7. **Compain F, Poisson A, Le Hello S, Branger C, Weill F-X, Arlet G, Decré D.** 2014.  
133 Targeting relaxase genes for classification of the predominant plasmids in  
134 Enterobacteriaceae. *Int J Med Microbiol IJMM* **304**:236–242.

- 135 8. **Carattoli A, Bertini A, Villa L, Falbo V, Hopkins KL, Threlfall EJ.** 2005.  
136 Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods* **63**:219–  
137 228.
- 138 9. **Liu Y, Feng Y, Wu W, Xie Y, Wang X, Zhang X, Chen X, Zong Z.** 2015. First Report  
139 of OXA-181-Producing *Escherichia coli* in China and Characterization of the Isolate  
140 Using Whole-Genome Sequencing. *Antimicrob Agents Chemother* **59**:5022–5025.
- 141 10. **Poirel L, Potron A, Nordmann P.** 2012. OXA-48-like carbapenemases: the phantom  
142 menace. *J Antimicrob Chemother* **67**:1597–1606.
- 143 11. **Zurfluh K, Poirel L, Nordmann P, Klumpp J, Stephan R.** 2015. First detection of  
144 *Klebsiella variicola* producing OXA-181 carbapenemase in fresh vegetable imported from  
145 Asia to Switzerland. *Antimicrob Resist Infect Control* **4**:38.
- 146 12. **Bousquet A, Henquet S, Compain F, Genel N, Arlet G, Decré D.** 2015. Partition locus-  
147 based classification of selected plasmids in *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* and  
148 *Salmonella enterica* spp.: an additional tool. *J Microbiol Methods* **110**:85–91.
- 149 13. **Smith CM, Eisenstadt E.** 1989. Identification of a *umuDC* locus in *Salmonella*  
150 *typhimurium* LT2. *J Bacteriol* **171**(7):3860–5.
- 151 14. **Yang Q, Fang L, Fu Y, Du X, Shen Y, Yu Y.** 2015. Dissemination of NDM-1-  
152 Producing Enterobacteriaceae Mediated by the IncX3-Type Plasmid. *PloS One*  
153 **10**:e0129454.
- 154 15. **Espedido BA, Dimitrijovski B, van Hal SJ, Jensen SO.** 2015. The use of whole-  
155 genome sequencing for molecular epidemiology and antimicrobial surveillance:

156 identifying the role of IncX3 plasmids and the spread of bla<sub>NDM-4</sub>-like genes in the  
157 Enterobacteriaceae. *J Clin Pathol*.  
158

159 **Table 1.** Clinical and microbiological characteristics of the four *bla*<sub>OXA-181</sub>-producing *E. coli*  
160 isolates and their respective transformants

161 F, female; M, male; ND, not determined; AMX, amoxicillin; AMC, co-amoxiclav; CFM,  
162 cefixime; CIP, ciprofloxacin; CRO, ceftriaxone; GE, gentamicin; SXT, sulfamethoxazole +  
163 trimethoprim; TE, tetracycline.

164 <sup>a</sup>VNTR (CNV1, CNV2, CNV3, CNV4, CNV7, CNV14, CNV15)

165

166 **Figure 1.** Genetic organization of the regions surrounding *bla*<sub>OXA-181</sub>

167 The same molecular structure was recovered in all 4 *bla*<sub>OXA-181</sub>-positive *E. coli* strains. This  
168 structure was similar to pOXA181\_EC14828 (Genbank accession No. KP400525). Dark grey  
169 arrows represent regions specific to IncX3 backbone. Black arrows represent the Tn2013  
170 transposon. Thin black lines represent different primer combinations used to explore this  
171 region. (A) Partial sequence of pOXA181\_EC14828 used as a template for PCR-mapping (B)  
172 Schematic representation of the regions amplified and sequenced in this study.

173

174 **Figure 2.** Genetic map of the four plasmids harboring *bla*<sub>OXA-181</sub> described in this study

175 Purple arrows represent the replicase genes. Light grey arrows represent genes encoding  
176 hypothetical proteins. Yellow arrows represent genes encoding partition systems. Dark grey  
177 arrows represent accessory genes. Green arrows represent transposase-encoding genes and  
178 insertion sequences. Red arrows represent antimicrobial resistance genes. Blue arrows  
179 represent genes implicated in plasmid transfer. (A) Plasmid pOXA181\_EC14828 (Genbank  
180 accession No. KP400525) used as a model to map the four *bla*<sub>OXA-181</sub>-carrying plasmids

181 described in this study. (B) Representation of the 25 oligonucleotide pairs used for PCR-  
182 mapping in all four plasmids. All amplicons were fully sequenced and displayed 100%  
183 identity when compared to plasmid pOXA181\_EC14828.

184

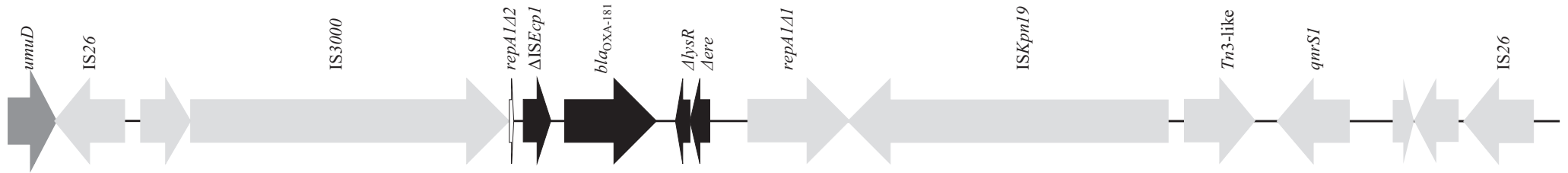
185

	EC187	EC187 (T)	EC292	EC292 (T)	EC309	EC309 (T)	EC327	EC327 (T)	<i>E. coli</i> J53
Patient	F, 12 yr		M, 2 yr		F, 65 yr		F, 21 yr		
Origin	Urine		Suppuration		Suppuration		Urine		
Clinical symptoms or diagnosis	Dysuria		Abdominal pain		Peritonitis		Unknown		
Use of antibiotics in the last three months	None reported		CFM, CRO, GE		AMC, GE		CRO, GE		
MLST	ST692		ST692		ST692		ST692		
VNTR <sup>a</sup>	6-1-5-8-3-5-1		6-1-5-8-3-5-1		6-1-5-8-3-5-1		6-1-5-8-3-5-1		
MIC (mg/L)									
Ertapenem	1	0.5	1.5	0.5	1.5	0.5	1.5	0.38	0.06
Doripenem	0.125	ND	0.25	ND	0.25	ND	0.75	ND	ND
Imipenem	0.25	0.5	0.5	0.75	0.38	0.5	0.38	0.5	0.25
Associated resistance									
ESBL	CTX-M-15	Absence	CTX-M-15	Absence	CTX-M-15	Absence	CTX-M-15	Absence	
Non-β-lactam resistance	CIP, GE, SXT, TE	ND	CIP, GE, SXT, TE	ND	CIP, GE, SXT, TE	ND	CIP, GE, SXT, TE	ND	

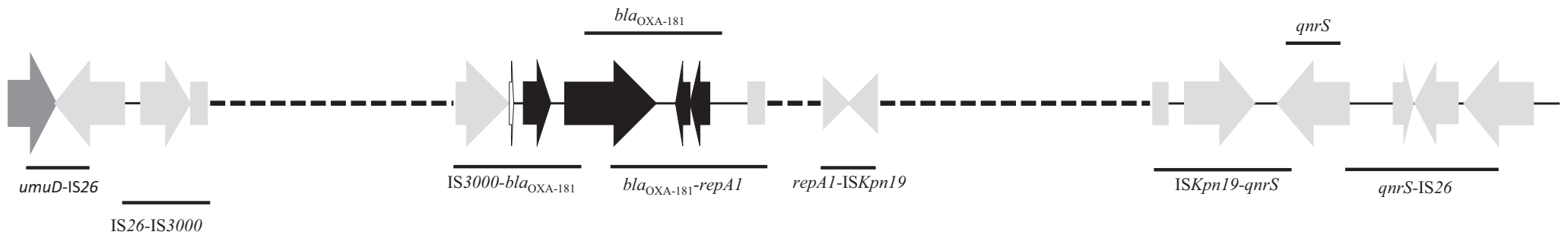
<sup>a</sup>VNTR (CNV1, CNV2, CNV3, CNV4, CNV7, CNV14, CNV15)



(A) pOXA181\_EC14828, partial sequence (KP400525)



(B) IncX3 plasmids isolated in this study



1 kb

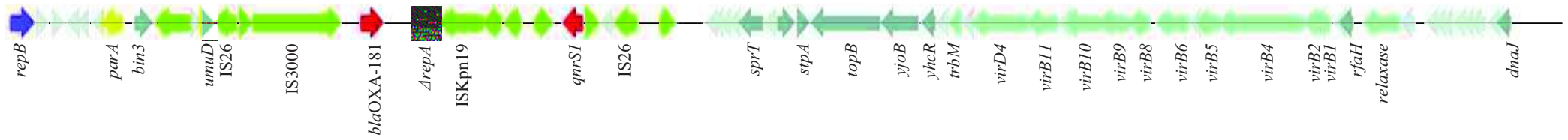
----- Regions not explored

————— Regions amplified and sequenced

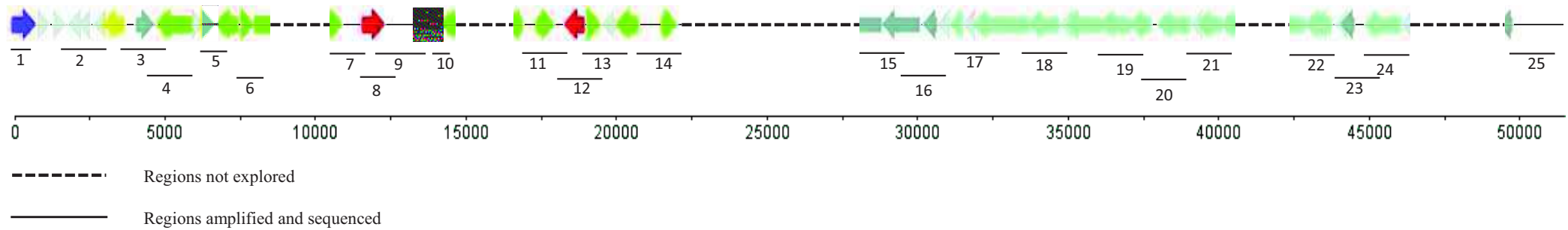
**Figure 1. Genetic organization of the regions surrounding *bla*<sub>OXA-181</sub>**

The same molecular structure was recovered in all 4 *bla*<sub>OXA-181</sub>-positive *E. coli* strains. This structure was similar to pOXA181\_EC14828 (Genbank accession No. KP400525). Dark grey arrows represent regions specific to IncX3 backbone. Black arrows represent the *Tn2013* transposon. Thin black lines represent different primer combinations used to explore this region. (A) Partial sequence of pOXA181\_EC14828 used as a template for PCR-mapping (B) Schematic representation of the regions amplified and sequenced in this study.

(A) pOXA181\_EC14828, *Escherichia coli*, China, 51,479 bp, KP400525



(B) pEC187, pEC292, pEC309 and pEC327 plasmids, *Escherichia coli*, Burkina Faso, ca. 54,000 bp (highly similar to pOXA181\_EC14828)



**Figure 2. Genetic map of the four plasmids harboring *bla*<sub>OXA-181</sub> described in this study.**

Purple arrows represent the replicase genes. Light grey arrows represent genes encoding hypothetical proteins. Yellow arrows represent genes encoding partition systems. Dark grey arrows represent accessory genes. Green arrows represent transposase-encoding genes and insertion sequences. Red arrows represent antimicrobial resistance genes. Blue arrows represent genes implicated in plasmid transfer. (A) Plasmid pOXA181\_EC14828 (Genbank accession No. KP400525) used as a model to map the four *bla*<sub>OXA-181</sub>-carrying plasmids described in this study. (B) Representation of the 25 oligonucleotide pairs used for PCR-mapping in all four plasmids. All amplicons were fully sequenced and displayed 100% identity when compared to plasmid pOXA181\_EC14828.

**CHAPITRE V :**

**PROPORTION ELEVEE DE *STAPHYLOCOCCUS*  
*AUREUS* PORTEURS DE GENES DE LA  
LEUCOCIDINE DE PANTON VALENTIN ET DU  
FACTEUR EDIN ISOLEES AU COURS DU PORTAGE  
NASAL CHEZ DES PATIENTS HOSPITALISES ET  
CHEZ DES VOLONTAIRES SAINS AU BURKINA  
FASO**

## Préambule

Au Burkina Faso, peu d'études ont concerné *Staphylococcus aureus* et aucune information n'est disponible concernant les clones circulant, la prévalence de la résistance et les facteurs de virulence. Dans le présent travail, l'objectif était d'étudier la fréquence du portage nasal et les caractéristiques génétiques et de résistance de *S. aureus*.

Au total, 219 écouvillonnages nasaux provenant de 116 volontaires sains et 103 patients hospitalisés ont été analysés. La moyenne d'âge des patients était de  $24,1 \pm 14,6$  ans; 69.4% étaient des hommes. Durant la période de l'étude, la fréquence du portage nasal de *S. aureus* était de 32.9% (72/219), 29% parmi les volontaires sains et 37% parmi les hospitalisés ( $p=0,23$ ). Concernant la résistance à la méticilline, le taux était très faible de 0% et de 3,9% pour les volontaires sains et les patients hospitalisés respectivement, représentant une prévalence totale de 1,82%. Une grande diversité des clones a toutefois été retrouvée avec les isolats de *S. aureus* avec les complexes clonaux (CC) CC152-MSSA (n=15) et CC1-MSSA (n=8) comme principaux clones. Deux clones étaient significativement associés aux souches communautaires: CC1-MSSA ( $p= 0.01$ ) et CC45-MSSA ( $p= 0.02$ ). Au sein des 5 souches résistantes à la méticilline 2 appartenait à la séquence type (ST) ST88-MRSA-IV 2 au CC8-MRSA-V (n=2) et un était de CC inconnu. Cette fréquence faible de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM), sans diffusion clonale peut s'expliquer par un impact plus faible de l'utilisation des antibiotiques dans la sélection des souches de SARM dont la résistance n'est pas plasmidique et aussi par l'âge jeune de la population. Par ailleurs une proportion importante de souches isolées aussi bien chez les patients hospitalisés que chez les individus sains étaient toxigènes, avec des gènes codant pour la Leucocidine de Panton Valentin et du facteur EDIN.

Cette première étude sur la résistance et la diversité génétique de *S. aureus* au Burkina montre une très faible prévalence de la résistance à la méticilline, une grande diversité des clones circulant et une fréquence élevée des souches toxigènes.



**High nasal carriage rate of *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine leukocidin- and EDIN-encoding genes in community and hospital settings in Burkina Faso**

Journal:	<i>Clinical Microbiology and Infection</i>
Manuscript ID	CLM-16-9808
Article Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	03-Feb-2016
Complete List of Authors:	<p>OUEDRAOGO, Abdoul-Salam; INSERM U1058 "Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" &amp; Department of Bacteriology-Virology, CHU Arnaud de Villeneuve, Bactériologie-virologie;</p> <p>Dunyach-Remy, Catherine; INSERM U1047, Université de Montpellier, Nîmes, France, Service de Microbiologie, CHU Caremeau, Nîmes, France</p> <p>Kissou , Aimée; Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso, Pédiatrie</p> <p>Sanou, Soufiane; Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso, Bactériologie-virologie</p> <p>Poda, Armel; Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso, Maladies Infectieuses et tropicales</p> <p>Kyelem, Carole ; Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso, Médecine</p> <p>Solassol, Jérôme; Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Montpellier, Department of Clinical Oncoproteomics</p> <p>Bañuls, Anne Laure; Université de Montpellier, UMR MIVEGEC (IRD 224 - CNRS 5290 - Université de Montpellier)</p> <p>Van De Perre, Philippe; Université Montpellier 1, EA 4205 « Transmission, Pathogenèse et Prévention de l'Infection par le VIH »; and CHU Montpellier, Laboratoire de Bactériologie-Virologie Arnaud de Villeneuve,</p> <p>Ouédraogo, Rasmata; Centre Hospitalier Pédiatrique Charle De Gaules, Bactériologie virologie</p> <p>Jean-Pierre, Hélène; CHU Arnaud de Villeneuve, Laboratoire de bactériologie</p> <p>LAVIGNE, Jean Philippe; Caremeau University Hospital, Microbiology; INSERM, U1047</p> <p>godreuil, sylvain; Université Montpellier 1, EA 4205 « Transmission, Pathogenèse et Prévention de l'Infection par le VIH »; and CHU Montpellier, Laboratoire de Bactériologie-Virologie Arnaud de Villeneuve</p>
Key Words:	<i>Staphylococcus aureus</i> , carriage, EDIN, oligonucleotide array, PVL
Abstract:	The objectives of the present study were to investigate the rate of <i>S. aureus</i> nasal carriage and molecular characteristics in hospital and community settings in Bobo Dioulasso, Burkina Faso. Nasal samples (n=219) were collected from 116 healthy volunteers and 103 hospitalized

1  
2  
3  
4 patients in July and August 2014. Samples were first screened using  
5 CHROMagar Staph aureus chromogenic agar plates, and *S. aureus* strains  
6 were identified by mass spectrometry. Antibiotic susceptibility was tested  
7 using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar. All *S. aureus*  
8 isolates were genotyped using DNA microarray. Overall, the rate of *S.*  
9 *aureus* nasal carriage was 32.9% (72/219) and was not significantly  
10 different between healthy volunteers (29%) and hospital patients (37%).  
11 Among the *S. aureus* isolates, only four methicillin-resistant *S. aureus*  
12 (MRSA) strains were identified and all in hospital patients (3.9%). The 72  
13 *S. aureus* isolates from nasal samples belonged to 16 different clonal  
14 complexes, particularly to CC 152-MSSA (22 clones) and CC1-MSSA (nine  
15 clones). Two clones were significantly associated with community settings:  
16 CC1-MSSA and CC45-MSSA. The MRSA strains belonged to the ST88-  
17 MRSA-IV or the CC8-MRSA-V complex. A very high prevalence of  
18 toxinogenic strains, containing Panton-Valentine leucocidin- and EDIN-  
19 encoding genes, was identified among the *S. aureus* isolates in community  
20 and hospital settings. This study provides the first characterization of *S.*  
21 *aureus* clones and their genetic characteristics in Burkina Faso. Altogether,  
22 it highlights the low prevalence of antimicrobial resistance, high diversity of  
23 methicillin-sensitive *S. aureus* clones and high frequency of toxinogenic *S.*  
24 *aureus* strains

25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 **1 High nasal carriage rate of *Staphylococcus aureus* containing Panton-Valentine**  
4  
5 **2 leukocidin- and EDIN-encoding genes in community and hospital settings in Burkina**  
6  
7 **3 Faso**  
8  
9  
10 **4**

11  
12 5 Abdoul-Salam Ouedraogo<sup>1,2,3,4</sup>, Catherine Dunyach-Remy<sup>5,6</sup>, Aimée Kissou<sup>1</sup>, Soufiane  
13  
14 6 Sanou<sup>1</sup>, Armel Poda<sup>1</sup>, Carole G Kyelem<sup>1</sup>, Jérôme Solassol<sup>8,9</sup>, Anne-Laure Bañuls<sup>7</sup>, Philippe  
15  
16 7 Van De Perre<sup>2,3,4</sup>, Rasmata Ouédraogo<sup>1</sup>, Hélène Jean-Pierre<sup>2</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>5,6,\*</sup> and  
17  
18 8 Sylvain Godreuil<sup>2,3,4\*</sup>  
19  
20  
21  
22  
23  
24

25 10 <sup>1</sup>Centre Hospitalier Universitaire Souro Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso  
26  
27

28 11 <sup>2</sup>Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Montpellier, Département de Bactériologie-  
29  
30 12 Virologie, Montpellier, France  
31

32 13 <sup>3</sup>Université de Montpellier, Montpellier, France  
33  
34

35 14 <sup>4</sup>INSERM U1058, Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from  
36  
37 15 pathogenesis to prevention, Montpellier, France  
38  
39

40 16 <sup>5</sup>INSERM U1047, Université de Montpellier, Nîmes, France  
41  
42

43 17 <sup>6</sup>Service de Microbiologie, CHU Caremeau, Nîmes, France  
44  
45

46 18 <sup>7</sup>UMR MIVEGEC (IRD 224 - CNRS 5290 - Université de Montpellier), Montpellier, France  
47  
48

49 19 <sup>8</sup>Department of Biopathology, CHU Montpellier, France  
50  
51

52 20 <sup>9</sup>Department of Clinical Oncoproteomics, Montpellier Cancer Institute, Montpellier, France  
53  
54

55 21 \*Co-last authors  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

22 Corresponding author: Ouédraogo Abdoul-Salam, INSERM U1058 "Infection by HIV and by  
23 agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" & Department of  
24 Bacteriology-Virology, CHU Arnaud de Villeneuve, 371 avenue du doyen Gaston Giraud  
25 34295 - Montpellier Cedex 5 France  
26 Phone: +33 662894717. Fax: +33 467 33 58 93. E-mail: abdousal2000@yahoo.fr

For Peer Review



30 **ABSTRACT**

31 The objectives of the present study were to investigate the rate of *S. aureus* nasal carriage and  
32 molecular characteristics in hospital and community settings in Bobo Dioulasso, Burkina  
33 Faso. Nasal samples (n=219) were collected from 116 healthy volunteers and 103 hospitalized  
34 patients in July and August 2014. Samples were first screened using CHROMagar Staph  
35 aureus chromogenic agar plates, and *S. aureus* strains were identified by mass spectrometry.  
36 Antibiotic susceptibility was tested using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar.  
37 All *S. aureus* isolates were genotyped using DNA microarray. Overall, the rate of *S. aureus*  
38 nasal carriage was 32.9% (72/219) and was not significantly different between healthy  
39 volunteers (29%) and hospital patients (37%). Among the *S. aureus* isolates, only four  
40 methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains were identified and all in hospital patients  
41 (3.9%). The 72 *S. aureus* isolates from nasal samples belonged to 16 different clonal  
42 complexes, particularly to CC 152-MSSA (22 clones) and CC1-MSSA (nine clones). Two  
43 clones were significantly associated with community settings: CC1-MSSA and CC45-MSSA.  
44 The MRSA strains belonged to the ST88-MRSA-IV or the CC8-MRSA-V complex. A very  
45 high prevalence of toxinogenic strains, containing Panton-Valentine leucocidin- and EDIN-  
46 encoding genes, was identified among the *S. aureus* isolates in community and hospital  
47 settings. This study provides the first characterization of *S. aureus* clones and their genetic  
48 characteristics in Burkina Faso. Altogether, it highlights the low prevalence of antimicrobial  
49 resistance, high diversity of methicillin-sensitive *S. aureus* clones and high frequency of  
50 toxinogenic *S. aureus* strains.

51 **Key words:** carriage, EDIN, oligonucleotide array, PVL, *Staphylococcus aureus*.

52

53 **INTRODUCTION**

54 *Staphylococcus aureus* is both a human commensal and a frequent cause of clinically  
55 important infections in hospital and community settings. It colonizes about one third of  
56 healthy humans and is most often found in the nose (1). As pathogenic agent, *S. aureus* causes  
57 a wide range of infections (e.g., skin and soft tissue infections, sepsis, pneumonia,  
58 osteomyelitis, endocarditis) (2). Epidemiological studies of staphylococcal infections showed  
59 that nasal carriage is a risk factor and usually the origin of the infection (3). *S. aureus*  
60 treatment is complicated by the global spread of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)  
61 strains (4).

62 Studies on the worldwide spread of *S. aureus* indicated that clone predominance varies  
63 according to the continent: ST300 in USA, ST59 in Asia, ST30/USA1100 in Southwest  
64 Pacific Oceania, ST93 in Queensland and ST80 in European countries (5). In Africa, the  
65 limited epidemiological data suggest that *S. aureus* clone distribution is particularly  
66 heterogeneous, possibly due to the huge cultural and geographical diversity. Similarly,  
67 toxinogenic strains are unequally distributed in the different countries. For example, the  
68 prevalence of *S. aureus* strains that produce Pantone-Valentine Leukocidin (PVL) is of 0.3% in  
69 South Africa and of 100% in Tunisia (6, 7). Conversely, no data are available on the  
70 distribution of *S. aureus* strains that produce epidermal differentiation inhibitor (EDIN), one  
71 of the main virulence factors involved in *S. aureus* diffusion. As several pathogenic *S. aureus*  
72 clones, such as the European clone ST80-MRSA-IV (8), express EDIN or EDIN-like  
73 exotoxins, EDIN-positive strains could also be present in the African continent, especially in  
74 Maghreb where the ST80 clone is very common.

75 Few studies focused on *S. aureus* in hospital or community settings in Burkina Faso, a low-  
76 income country of West Africa, and nothing is known about clone circulation. The objectives

1  
2  
3 77 of the present study were to characterize the *S. aureus* isolates in nasal specimens from  
4  
5 78 hospitalized and healthy volunteers in Bobo Dioulasso, Burkina Faso.  
6

## 79 **MATERIALS AND METHODS**

### 80 **Patients, specimen collection and ethical clearance**

81 The study was approved by the local ethics committee (Souro Sanou University Hospital  
82 board; authorization number: MS/SG/CHUSS/DG/DL 2014-171, 2 July 2014). All  
83 participants signed a written informed consent for participation in the study. From 1<sup>st</sup> July to  
84 31<sup>th</sup> August 2014, 116 randomly selected healthy volunteers from the community and 103  
85 patients hospitalized (not for *S. aureus* infection) at the Souro Sanou University Hospital  
86 (Bobo Dioulasso, Burkina Faso) for more than 48 hours were included prospectively and  
87 consecutively in the study. Souro Sanou University Hospital is the major healthcare and  
88 referral centre for the southern and western regions of Burkina Faso.

89 Nasal specimens from healthy volunteers and hospitalized patients were collected using  
90 double-head flocked swabs (Copan®, Italy). The swab was inserted 2 cm into the nostrils and  
91 rotated against the anterior nasal mucosa. All samples were immediately sent to the  
92 Bacteriology Department. The following epidemiological and clinical data were recorded for  
93 all participants: age, gender, antibiotic treatment during the past three months and hospital  
94 stays in the previous year.

### 95 **Microbiological study of *S. aureus***

96 Nasal swab samples were plated on CHROMagar Staph aureus chromogenic medium (BD  
97 Diagnostics, Sparks, Md.) and examined after 24 and 48 hours of incubation at 37°C,  
98 following the manufacturer's recommendations. All mauve to orange/mauve colonies were  
99 considered as positive for the presence of *S. aureus*. The identification was confirmed by  
100 matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry  
101 (Bruker Daltonics, Germany). In all confirmed *S. aureus* isolates, antibiotic susceptibilities

1  
2  
3 102 were then determined using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar with the  
4  
5 103 following antibiotics: amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, oxacillin, gentamicin,  
6  
7 104 tobramycin, tetracycline, erythromycin, lincomycin, trimethoprim/sulfamethoxazole,  
8  
9 105 ofloxacin, fusidic acid, fosfomycin and vancomycin, Results were interpreted following the  
10  
11 106 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) clinical breakpoints  
12  
13 107 (Version 5.0) ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)). Susceptibility to methicillin was  
14  
15 108 screened with the ceftioxin disk diffusion method.  
16  
17

### 18 109 **Oligonucleotide DNA arrays and genotyping**

19  
20 110 Each *S. aureus* strain was analysed at the INSERM laboratory in Nîmes, France. The *S.*  
21  
22 111 *aureus* genotyping kit (Alere Technologies GmbH, Germany) was used according to  
23  
24 112 previously detailed protocols and procedures (9). The DNA microarray covers 332 different  
25  
26 113 target sequences, including species, capsule and *agr* group typing markers, resistance genes  
27  
28 114 (SCC*mec*, *mecA*, *mecC*) and genes encoding exotoxins or Microbial Surface Components  
29  
30 115 Recognizing Adhesive Matrix Molecules (MSCRAMM). Primer and probe sequences have  
31  
32 116 been previously described (9). The *S. aureus* strains were grown on Columbia blood agar at  
33  
34 117 37°C overnight. Culture material was enzymatically lysed prior to DNA preparation using  
35  
36 118 commercially available spin columns (Qiagen, Hilden, Germany). Purified DNA samples  
37  
38 119 were used as template in a linear primer elongation reaction with one primer per target gene.  
39  
40 120 All targets were amplified simultaneously and, during this step, biotin-16-dUTP was  
41  
42 121 incorporated in the amplicons. Amplicons were then hybridized to the microarray, washed  
43  
44 122 and blocked before addition of the horseradish- peroxidase-streptavidin conjugate. After  
45  
46 123 further incubation and washing steps, hybridizations were visualized as spots using a  
47  
48 124 precipitating dye. A digital picture of the microarray was taken and analysed using a  
49  
50 125 dedicated reader and software (Alere Technologies GmbH). The affiliation of isolates to  
51  
52 126 clonal complexes (CCs) or sequence types (STs), defined based on MLST and *spa*-typing (9),  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 127 was determined by automated comparison of the hybridization profiles to a collection of  
4  
5 128 previously characterized reference strains (9, 10).  
6

### 7 129 **Statistical analysis**

8  
9 130 The nasal carriage rate and the frequency of MRSA strains were analysed relative to the  
10  
11 131 demographic and clinical characteristics of all participants and to the clonal complexes (CCs)  
12  
13 132 and the expression of the different virulence genes, using the Fisher's exact test. Statistical  
14  
15 133 analyses were performed using the S-Plus 2000 software package (Insightful Corporation,  
16  
17 134 Seattle, WA, USA) and results were considered significant at  $p < 0.05$ .  
18  
19

## 20 135 **RESULTS**

### 21 136 **Prevalence and risk factors of *S. aureus* nasal carriage**

22  
23 137 During the study period, 219 subjects (116 healthy volunteers and 103 hospitalized patients)  
24  
25 138 were enrolled. The demographic characteristics and possible risk factors for *S. aureus*  
26  
27 139 colonization in the two groups are shown in Table 1. Overall, the participants' mean age was  
28  
29 140 24.1 years ( $\pm 14.6$ ) and 69.4% of them were males. Moreover, the percentage of males was  
30  
31 141 significantly higher in the healthy volunteers' group than among hospitalized patients  
32  
33 142 ( $p=0.02$ ). Among healthy volunteers, 13 (11%) had been hospitalized in the previous year and  
34  
35 143 18 (16%) received antibiotics within the three months prior to inclusion in the study:  
36  
37 144 fluoroquinolones (n=9/18; 50%),  $\beta$ -lactams (n=7/18; 39%), or others (n=2/18, 11%). Among  
38  
39 145 the hospitalized patients, 14 (14%) had been hospitalized in the previous year. Significantly  
40  
41 146 more patients than healthy volunteers had received antibiotics within the last three months  
42  
43 147 (37% vs 16%,  $p < 0.001$ ). No significant difference could be observed concerning the type of  
44  
45 148 antibiotic treatment in the two populations (Table 1).  
46  
47

48  
49  
50  
51 149 *S. aureus* was identified in the nasal samples of 32.9% (72/219) participants (29.3% of  
52  
53 150 healthy volunteers and 37% of hospitalized patients;  $p = 0.23$ ). Moreover, the rate of *S.*  
54  
55 151 *aureus* carriage varied in the different hospital services: 59% (16 of the 27 patients from this  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 152 department) in the Surgery Department, 37% (12/32) in the Paediatric, 32% (8/25) in the  
4  
5 153 General Medicine and 11% (2/19) in the Gynaecology/Obstetric Department. Univariate  
6  
7 154 analysis did not identify any specific risk factor associated with *S. aureus* nasal carriage in the  
8  
9 155 whole population and the two groups separately. Among the *S. aureus* isolates, MRSA  
10  
11 156 frequency was 0 (n=0) in healthy volunteers and 3.9% (n=4) in hospitalized patients ( $p=0.25$ ),  
12  
13  
14 157 representing a total occurrence of 1, 82%.

### 158 ***S. aureus* antimicrobial susceptibility testing**

159 Analysis of the *in vitro* activities of antimicrobial agents against the 72 *S. aureus* isolates  
160 highlighted a low level of resistance to all classical anti-staphylococcal treatments (Figure 1).  
161 All isolates were susceptible to vancomycin, fosfomycin and fusidic acid. In strains isolated  
162 from hospitalized patients, the trimethoprim/sulfamethoxazole association was always active;  
163 in strains from healthy volunteers, oxacillin, ofloxacin and aminoglycosides (kanamycin,  
164 gentamicin and tobramycin) were always active. The highest resistance rates were observed  
165 for tetracycline (61%) and erythromycin (54%), with no significant difference between  
166 groups. Single one MRSA isolate was resistant to aminoglycosides and also to  
167 fluoroquinolones.

### 168 **Distribution of *S. aureus* clonal complexes**

169 Clonal complexes (CC) characterization in the 72 isolates allowed comparing the *S. aureus*  
170 populations (diversity and origin) of hospitalized patients and healthy volunteers and  
171 highlighted the great diversity of *S. aureus* strains circulating in the studied region (Table 2).  
172 ST 152-MSSA (n=15) and CC1-MSSA (n=8) were the main clones isolated in hospitalized  
173 patients and healthy volunteers, respectively. Overall, methicillin-susceptible *S. aureus*  
174 (MSSA) strains belonged to many different CCs: ST 152 (n=22), CC5 (n=14), CC1 (n=9), ST  
175 121 (n=5), CC45 (n=5), ST 707 (n=2), ST 15 (n=2), CC22 (n=1), CC30 (n=1), ST5 (n=1), ST  
176 30 (n=1), CC9 (n=1) ST 152 (n=1). Two clones were significantly more frequent in the

1  
2  
3 177 community than in hospital: CC1-MSSA ( $p= 0.01$ ) and CC45-MSSA ( $p= 0.02$ ). The Four  
4  
5 178 MRSA strains belonged either to the CC88-MRSA-IV or to the CC8-MRSA-V lineage (no  
6  
7 179 significant difference. Three isolates were classified in unknown CCs.  
8  
9

#### 10 **Antibiotic resistance and virulence gene profiles**

11  
12  
13 181 The frequency of resistance and virulence genes in the studied *S. aureus* population is  
14  
15 182 summarized in Table 3. The antibiotic resistance gene profiles obtained by DNA array  
16  
17 183 analysis were in full agreement with the data obtained by conventional susceptibility testing.

18  
19 184 All MRSA isolates detected with the cefoxitin disk diffusion test carried the *mecA* gene  
20  
21 185 within the SCC*mec* mobile genetic element. *MecC* was not detected in any of our samples.

22  
23 186 The most prevalent macrolide resistance gene was *ermC* (25 isolates, 36.2%), whereas *ermA*  
24  
25 187 was never found. Only one aminoglycoside resistance gene (*aacA-aphD*) was detected and  
26  
27 188 only in one MRSA strain, confirming the still high antimicrobial activity of this antibiotic  
28  
29 189 family. The *tetK* efflux gene (tetracycline resistance) was detected in 36 isolates (52.2%). No  
30  
31 190 *van* gene was detected in agreement with the *in vitro* susceptibility data. No significant  
32  
33 191 difference was found between strains from healthy volunteers and hospitalized patients.  
34  
35  
36

37 192 Some distinctive features regarding the virulence factor profiles were observed. Between 14%  
38  
39 193 and 42% of strains expressed enterotoxin-coding genes [*seg* (n=29, 42%), *sek* and *seq* (n=12,  
40  
41 194 17.4% for each) and *sea* (n=10, 14.5%)]. Conversely, genes encoding haemolysins (*hlg*, *hlgv*,  
42  
43 195 *hlgA*, *hld*), intracellular adhesion proteins (*icaA*, *icaC*, *icaD*) or MSCRAMMs (*ebpS*, *clfA*,  
44  
45 196 *clfB*, *fnbA*, *fnbB* and *bbp*) were detected in more than half and often all strains. The *agrI* allele  
46  
47 197 was found in 42% of isolates (n=29). *Cap5* and *scn* were detected more frequently in strains  
48  
49 198 isolated from patients and *seh* in strains from healthy volunteers ( $p<0.05$ ).  
50  
51

52  
53 199 Toxinogenic genes were frequently present in our strains. Although *eta* and *etb* (the genes  
54  
55 200 encoding exfoliatin A and B) were never detected, 44.9% (n=31) and 29% (n=20) of isolates  
56  
57 201 expressed the genes that encode PVL (*lukS-PV/lukF-PV*) and toxic shock syndrome toxin 1  
58  
59  
60

1  
2  
3 202 (TSST-1; *tst*), respectively. Moreover, the prevalence of *edin*-positive isolates was 46.4%  
4  
5 203 (n=32) and specifically, 14.5% (n=10) of all isolates were *edinA*-positive and 31.9% (n=22)  
6  
7 204 *edin-B* positive. The *edin-B* and *etD* genes were always co-expressed. Although toxinogenic  
8  
9 205 *S. aureus* strains were more frequently isolated from hospitalized patients, no significant  
10  
11 206 between-group difference was found concerning the expression of toxinogenic genes.

#### 14 207 **Main characteristics of the *edin*<sup>+</sup> and PVL<sup>+</sup> *S. aureus* isolates**

15  
16 208 The *edin-B*<sup>+</sup> strains (n=22) belonged to the ST152 clone (*spa* type t355). In this clone, *edin-B*,  
17  
18 209 *etD* and *lukF/lukS-PV* genes are associated. All 22 strains expressed the *sarA* regulon that  
19  
20 210 controls *edin-B* expression [11], and belonged to the *agrI* cluster. No enterotoxin gene was  
21  
22 211 detected. However, all *edin-B*<sup>+</sup> strains expressed one or more genes encoding haemolysins  
23  
24 212 (*hlgv*, *hlgA* *hla* and *hlb*), intracellular adhesion proteins (*icaA*, *icaD*), type 5 capsular  
25  
26 213 polysaccharides (*cap5*), immune evasion proteins (*sak*, *scn*), proteases (*sspA*, *sspB*), some  
27  
28 214 MSCRAMMs (*bbp*, *clfA*, *clfB*, *cna*, *ebpS*, *fnbA*, *fnbB*, *sdrD*), defensin (*mprF*) and  
29  
30 215 hyaluronidases (*hysA1*, *hysA2*).

31  
32  
33  
34 216 The *edin-A*<sup>+</sup> strains (n=10) belonged to the clonal complexes ST73 (CC5-MSSA, n=8), ST5  
35  
36 217 (n=1) and ST707 (n=1). The ST5 strain co-expressed *edin-A* and *lukF/lukS-PV*. All carried the  
37  
38 218 *sak*, *chp*, *scn* *hl*, *hlgA*, *hlgv* and *hla* *lukDE* genes. The strains belonging to the ST73 and ST5  
39  
40 219 clones expressed many virulence genes (e.g., the *egc* cluster, *agrII*, *cap5*, *bbp*, *clfA*, *clfB*,  
41  
42 220 *ebpS*, *fib*, *fnbA* and *fnbB*). Finally, the ST707 strain harboured distinctive virulence traits (*sek*,  
43  
44 221 *seq*, *agrIII*, *fnbB* alone, *sdrC* and *sdrD*).

45  
46  
47 222 Concerning the PVL<sup>+</sup> strains (n=31), they belonged to the ST152 (n=23), ST121 (n=4), ST15  
48  
49 223 (n=2) ST30 (n=1) and ST5 (n=1) clones. They all expressed *agrI* and *cap5*, with the exception  
50  
51 224 of the ST121 strains that carried *agrIV* and *cap8*. Moreover, all PVL<sup>+</sup> strains expressed genes  
52  
53 225 encoding haemolysins (*hlgv*, *hlgA* *hla*), immune evasion proteins (*sak*, *scn*) and MSCRAMMs  
54  
55 226 (*bbp*, *clfA*, *clfB*, *ebpS*, *fnbA*, *fnbB*).



1  
2  
3 227 **DISCUSSION**  
4

5 228 This study provides the first characterization (clones and genetic traits) of *S. aureus* samples  
6  
7 229 isolated from nasal specimens in Burkina Faso. Our findings highlight the low prevalence of  
8  
9 230 antimicrobial resistance, the high diversity of MSSA clones and the high frequency of  
10  
11 231 toxinogenic isolates among the *S. aureus* strains that circulate in community and hospital  
12  
13 232 settings.  
14

15  
16 233 In Africa, *S. aureus* epidemiological data remain scarce. The distribution of MRSA  
17  
18 234 clones is relatively heterogeneous on this continent with CC5 as the predominant clonal  
19  
20 235 complex in healthcare settings. The «Brazilian/Hungarian» clone (hospital-associated MRSA  
21  
22 236 ST239/ST241-III) has been identified in Maghreb, West Africa and South African countries  
23  
24 237 (5, 7). The European ST80-IV clone is limited to Algeria, Egypt and Tunisia (5, 7). The  
25  
26 238 community clones ST8-IV and ST88-IV have been reported both in hospital and community  
27  
28 239 settings in West Africa. The ST88-MRSA-IV was also found in our population associated  
29  
30 240 with the ST8-MRSA-V clone (6). However, the percentage of MRSA strains (2.3%) was very  
31  
32 241 low in our panel, as previously reported in Gabon (3%) (11). On the other hand (and this is  
33  
34 242 the first major finding of this study), our data highlight the high prevalence of strains  
35  
36 243 harbouring PVL-encoding genes (45%). These genes encode a bi-component cytotoxin that  
37  
38 244 binds to the complement receptor C5a of neutrophils and that leads to severe tissue necrosis  
39  
40 245 due to its cytotoxic effect on granulocytes (12, 13). Sub-Saharan Africa is characterized by a  
41  
42 246 high dissemination of PVL+ *S. aureus* strains that mainly belong to three major clones:  
43  
44 247 ST152, ST121 and ST15 (7, 14). Our study confirms this trend. The ST152 clone seems to be  
45  
46 248 frequent and widespread in West Africa (40-60% of all strains) both in the community and in  
47  
48 249 hospital settings (11, 15, 16). This clone has also been detected in Europe (17-19), Turkey  
49  
50 250 (20) and Haiti (21).  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 251 The high proportion of *edin*-positive MSSA (46%) strains in our population is the  
4  
5 252 second main finding of this study. Indeed, such high prevalence has never been described  
6  
7 253 before (14% in a previous study) (22). Three *edin* alleles have been characterized (23-25).  
8  
9 254 They all share similar biochemical activities toward Rho proteins, but are characterized by  
10  
11 255 different genetic backgrounds. For instance, the *edin-A* gene is located on a plasmid, like  
12  
13 256 *edin-C*, and is closely associated with the gene encoding exfoliative toxin B (24). EDIN  
14  
15 257 proteins promote *S. aureus* invasiveness, by favouring its translocation to the bloodstream (8,  
16  
17 258 26, 27). In our population, *edin-B* was the most prevalent *edin* gene associated with *S. aureus*  
18  
19 259 nasal carriage. Many different *S. aureus* clones harbour these genes, demonstrating the wide  
20  
21 260 geographical distribution of EDINs. In our population, *edinB* was more frequently detected in  
22  
23 261 isolates belonging to the ST152 clone, like for the PVL+ strains. Therefore, our data indicate  
24  
25 262 that strains belonging to this clone can co-express *edinB/etD/lukSF-PV*, which are the  
26  
27 263 prevalent virulence markers detected in infectious strains. More worrying, in Nigeria, the  
28  
29 264 ST152 clone has been associated with the *SCCmec* cassette (16). These findings suggest that  
30  
31 265 these strains could pose serious problems in the future, as potential reservoirs for resistance  
32  
33 266 and virulence factors, and they could lead to the emergence and diffusion of PVL+ MRSA  
34  
35 267 clones in Burkina Faso, with a risk of severe infections, as recently discussed (28).  
36  
37  
38  
39

40 268 Nasal colonization often precedes clinical infection, frequently caused by the same  
41  
42 269 isolate (29). Therefore, nasal carriage rates and the molecular characterization of the  
43  
44 270 colonizing isolates provide important insights into the risk of *S. aureus* infection in Burkina  
45  
46 271 Faso. The high proportion of EDIN+ and PVL+ *S. aureus* observed in this study indicates that  
47  
48 272 conditions that increase the risk of inter-individual transmission (*e.g.*, skin-to-skin and skin-  
49  
50 273 to-fomite contacts) could represent important spreading routes in Burkina Faso. Classically,  
51  
52 274 mortality associated with severe *S. aureus* infections is particularly high in emerging  
53  
54 275 countries. Recent studies have identified *S. aureus* as the main etiological agent of many  
55  
56  
57  
58  
59  
60

1  
2  
3 276 infections in Sub-Saharan Africa (2). Microbiologists and clinicians should be aware of the  
4  
5 277 threat represented by the ST152 clone and implement the necessary control measures to  
6  
7 278 prevent its spread.  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

For Peer Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

279 **ACKNOWLEDGMENTS AND FUNDINGS**

280 This work was supported by the National Institute of Health and Medical Research  
281 (INSERM). Abdoul-Salam Ouedraogo is a PhD student supported by the Infectiopole Sud  
282 Foundation.

283

284 **TRANSPARENCY DECLARATION**

285 All authors: No conflict of interest.

For Peer Review

## 286 REFERENCES

- 287 1. Kaspar U, Kriegeskorte A, Schubert T, Peters G, Rudack C, Pieper DH, et al. The culturome of  
288 the human nose habitats reveals individual bacterial fingerprint patterns. *Environ Microbiol.* 2015  
289 Apr 28.
- 290 2. Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, et al. Antibiotic  
291 resistance and molecular epidemiology of *Staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiol.*  
292 2011;11:92.
- 293 3. Wertheim HF, Vos MC, Ott A, van Belkum A, Voss A, Kluytmans JA, et al. Risk and outcome of  
294 nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteraemia in nasal carriers versus non-carriers. *Lancet.* 2004  
295 Aug 21-27;364(9435):703-5.
- 296 4. Holden MT, Hsu LY, Kurt K, Weinert LA, Mather AE, Harris SR, et al. A genomic portrait of the  
297 emergence, evolution, and global spread of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pandemic.  
298 *Genome Res.* 2013 Apr;23(4):653-64.
- 299 5. Fluit AC, Carpaij N, Majoor EA, Weinstein RA, Aroutcheva A, Rice TW, et al. Comparison of an  
300 ST80 MRSA strain from the USA with European ST80 strains. *J Antimicrob Chemother.* 2015  
301 Mar;70(3):664-9.
- 302 6. Abdulgader SM, Shittu AO, Nicol MP, Kaba M. Molecular epidemiology of Methicillin-  
303 resistant *Staphylococcus aureus* in Africa: a systematic review. *Front Microbiol.* 2015;6:348.
- 304 7. Schaumburg F, Alabi AS, Peters G, Becker K. New epidemiology of *Staphylococcus aureus*  
305 infection in Africa. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Jul;20(7):589-96.
- 306 8. Messad N, Landraud L, Canivet B, Lina G, Richard JL, Sotto A, et al. Distribution of *edn* in  
307 *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot ulcers. *Clin Microbiol Infect.* 2013 Sep;19(9):875-  
308 80.
- 309 9. Monecke S, Jatzwauk L, Weber S, Slickers P, Ehricht R. DNA microarray-based genotyping of  
310 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from Eastern Saxony. *Clin Microbiol Infect.* 2008  
311 Jun;14(6):534-45.

- 1  
2  
3 312 10. Monecke S, Coombs G, Shore AC, Coleman DC, Akpaka P, Borg M, et al. A field guide to  
4  
5 313 pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. PLoS One.  
6  
7 314 2011;6(4):e17936.  
8  
9 315 11. Kraef C, Alabi AS, Peters G, Becker K, Kreamsner PG, Rossatanga EG, et al. Co-detection of  
10  
11 316 Panton-Valentine leukocidin encoding genes and cotrimoxazole resistance in *Staphylococcus aureus*  
12  
13 317 in Gabon: implications for HIV-patients' care. Front Microbiol. 2015;6:60.  
14  
15 318 12. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired  
16  
17 319 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that  
18  
19 320 produces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis. 2002 Oct 1;35(7):819-24.  
20  
21 321 13. Shallcross LJ, Fragaszy E, Johnson AM, Hayward AC. The role of the Panton-Valentine  
22  
23 322 leucocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis.  
24  
25 323 2013 Jan;13(1):43-54.  
26  
27 324 14. Rasigade JP, Laurent F, Lina G, Meugnier H, Bes M, Vandenesch F, et al. Global distribution  
28  
29 325 and evolution of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*,  
30  
31 326 1981-2007. J Infect Dis. 2010 May 15;201(10):1589-97.  
32  
33 327 15. Ruimy R, Maiga A, Armand-Lefevre L, Maiga I, Diallo A, Koumare AK, et al. The carriage  
34  
35 328 population of *Staphylococcus aureus* from Mali is composed of a combination of pandemic clones  
36  
37 329 and the divergent Panton-Valentine leukocidin-positive genotype ST152. J Bacteriol. 2008  
38  
39 330 Jun;190(11):3962-8.  
40  
41 331 16. Shittu A, Oyedara O, Abegunrin F, Okon K, Raji A, Taiwo S, et al. Characterization of  
42  
43 332 methicillin-susceptible and -resistant staphylococci in the clinical setting: a multicentre study in  
44  
45 333 Nigeria. BMC Infect Dis. 2012;12:286.  
46  
47 334 17. Jappe U, Heuck D, Strommenger B, Wendt C, Werner G, Altmann D, et al. *Staphylococcus*  
48  
49 335 *aureus* in dermatology outpatients with special emphasis on community-associated methicillin-  
50  
51 336 resistant strains. J Invest Dermatol. 2008 Nov;128(11):2655-64.  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3 337 18. Krziwanek K, Metz-Gercek S, Mittermayer H. Trends in the occurrence of MRSA strains in  
4  
5 338 Upper Austria from 2006 to 2009. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Jun;17(6):920-3.  
6  
7 339 19. Perez-Roth E, Alcoba-Florez J, Lopez-Aguilar C, Gutierrez-Gonzalez I, Rivero-Perez B, Mendez-  
8  
9 340 Alvarez S. Familial furunculosis associated with community-acquired leukocidin-positive methicillin-  
10  
11 341 susceptible *Staphylococcus aureus* ST152. *J Clin Microbiol*. 2010 Jan;48(1):329-32.  
12  
13 342 20. Sudagidan M, Aydin A. Virulence properties of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*  
14  
15 343 food isolates encoding Panton-Valentine Leukocidin gene. *Int J Food Microbiol*. 2010 Apr  
16  
17 344 15;138(3):287-91.  
18  
19 345 21. Rosenthal ME, Mediavilla J, Chen L, Sonnenfeld J, Pierce L, Shannon A, et al. Molecular  
20  
21 346 epidemiology of *Staphylococcus aureus* in post-earthquake northern Haiti. *Int J Infect Dis*. 2014  
22  
23 347 Dec;29:146-51.  
24  
25 348 22. Munro P, Clement R, Lavigne JP, Pulcini C, Lemichez E, Landraud L. High prevalence of edin-C  
26  
27 349 encoding RhoA-targeting toxin in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Eur J Clin Microbiol Infect*  
28  
29 350 Dis. 2011 Aug;30(8):965-72.  
30  
31 351 23. Sugai M, Hashimoto K, Kikuchi A, Inoue S, Okumura H, Matsumoto K, et al. Epidermal cell  
32  
33 352 differentiation inhibitor ADP-ribosylates small GTP-binding proteins and induces hyperplasia of  
34  
35 353 epidermis. *J Biol Chem*. 1992 Feb 5;267(4):2600-4.  
36  
37 354 24. Yamaguchi T, Hayashi T, Takami H, Ohnishi M, Murata T, Nakayama K, et al. Complete  
38  
39 355 nucleotide sequence of a *Staphylococcus aureus* exfoliative toxin B plasmid and identification of a  
40  
41 356 novel ADP-ribosyltransferase, EDIN-C. *Infect Immun*. 2001 Dec;69(12):7760-71.  
42  
43 357 25. Yamaguchi T, Nishifuji K, Sasaki M, Fudaba Y, Aepfelbacher M, Takata T, et al. Identification of  
44  
45 358 the *Staphylococcus aureus* etd pathogenicity island which encodes a novel exfoliative toxin, ETD, and  
46  
47 359 EDIN-B. *Infect Immun*. 2002 Oct;70(10):5835-45.  
48  
49 360 26. Courjon J, Munro P, Benito Y, Visvikis O, Bouchiat C, Boyer L, et al. EDIN-B Promotes the  
50  
51 361 Translocation of *Staphylococcus aureus* to the Bloodstream in the Course of Pneumonia. *Toxins*  
52  
53 362 (Basel). 2015 Oct;7(10):4131-42.  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

- 1  
2  
3 363 27. Munro P, Benchetrit M, Nahori MA, Stefani C, Clement R, Michiels JF, et al. The  
4  
5 364 Staphylococcus aureus epidermal cell differentiation inhibitor toxin promotes formation of infection  
6  
7 365 foci in a mouse model of bacteremia. Infect Immun. 2010 Aug;78(8):3404-11.  
8  
9 366 28. Vignaroli C, Sante LD, Stano P, Varaldo PE, Camporese A. Recurrent skin infection associated  
10  
11 367 with nasal carriage of Panton-Valentine leukocidin-positive methicillin-susceptible Staphylococcus  
12  
13 368 aureus closely related to the EMRSA-15 clone. Future Microbiol. 2016 Jan;11:17-21.  
14  
15  
16 369 29. von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G. Nasal carriage as a source of  
17  
18 370 Staphylococcus aureus bacteremia. Study Group. N Engl J Med. 2001 Jan 4;344(1):11-6.  
19  
20 371  
21  
22 372  
23  
24 373  
25  
26  
27 374  
28  
29 375  
30  
31 376  
32  
33 377  
34  
35 378  
36  
37 379  
38  
39 380  
40  
41 381  
42  
43 382  
44  
45 383  
46  
47 384  
48  
49 385  
50  
51 386  
52  
53 387  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



**Table 1:** Demographic characteristics, prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal carriage and risk factors in the study population

Characteristics	Healthy volunteers n=116	Inpatients n=103	Total n=219	P H vs I
Age (mean, SD), y	22.2 (11.7)	26.3 (17)	24.1 (14.6)	NS
Male/female, n (%)	84 (72.4)	58 (56.3)	152 (69.4)	0.02
Hospitalization duration (mean, SD), day	-	9.6 (4.2)	-	NA
Hospital service				
Paediatrics, n (%)	-	32 (31.1)	-	NA
Surgery, n (%)	-	27 (26.2)	-	NA
General Medicine, n (%)	-	25 (24.3)	-	NA
Gynaecology/obstetrics, n (%)	-	19 (18.4)	-	NA
<i>S. aureus</i> carriers, n (%)	34 (29.3)	38 (36.9%)	72 (32.9)	NS
MRSA carriers, n (%)	0 (0)	4 (3.9%)	4(1.82)	NS
Previous hospitalization (in the last year), n (%)	13 (11.2)	14 (13.6)	27 (12.3)	NS
Antibiotic treatment (in last 3 months), n (%)	18 (15.5)	38 (36.9)	56 (25.6)	<0.001
β-lactams, n (%)	7 (38.8)	16 (42.1)	23 (41.1)	NS
Fluoroquinolones, n (%)	9 (50.0)	13 (34.2)	22 (39.3)	NS
Other antibiotics*, n (%)	2 (11.1)	9 (23.7)	11 (19.6)	NS

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60

- 
- 4 \* Tetracycline, doxycycline, co-trimoxazole (trimethoprim/sulfamethoxazole), erythromycin,
  - 5 chloramphenicol
  - 6 NS, not significant; NA, not applicable

For Peer Review

**Table 2:** Clonal complex distribution of the *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal samples of hospital patients and community volunteers in Burkina Faso.

	<b>Hospital</b>	<b>Community</b>	<b>Total</b>	<b>P</b>
	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	Hosp vs Commu
ST152-MSSA (PVL+)	15 (41.7)	7 (21.2)	22 (30.6)	NS
CC5-MSSA	8 (22.1)	6 (18.2)	14 (19.4)	NS
CC1-MSSA	1 (2.8)	8 (24.2)	9 (12.5)	0.01
ST121-MSSA (PVL+)	3 (8.2)	2 (6.1)	5 (6.9)	NS
CC45-MSSA	0 (0)	5 (15.2)	5 (6.9)	0.02
CC88-MRSA	2 (5.6)	0 (0)	2 (2.8)	NS
ST707-MSSA	2 (5.6)	0 (0)	2 (2.8)	NS
CC8-MRSA	2 (5.6)	0 (0)	2 (2.8)	NS
ST15-MSSA (PVL+)	0 (0)	2 (6.1)	2 (2.8)	NS
CC22-MSSA	1 (2.8)	0 (0)	1 (1.4)	NS
CC30-MSSA	1 (2.8)	0 (0)	1 (1.4)	NS
ST5-MSSA (PVL+)	1 (2.8)	0 (0)	1 (1.4)	NS
ST30-MSSA (PVL+)	0 (0)	1 (3.0)	1 (1.4)	NS
CC9-MSSA	0 (0)	1 (3.0)	1 (1.4)	NS
CC152-MSSA	0 (0)	1 (3.0)	1 (1.4)	NS
None	2 (5.6)	1 (3.0)	3 (4.1)	NS
<b>TOTAL</b>	<b>38 (100)</b>	<b>34 (100)</b>	<b>72 (100)</b>	

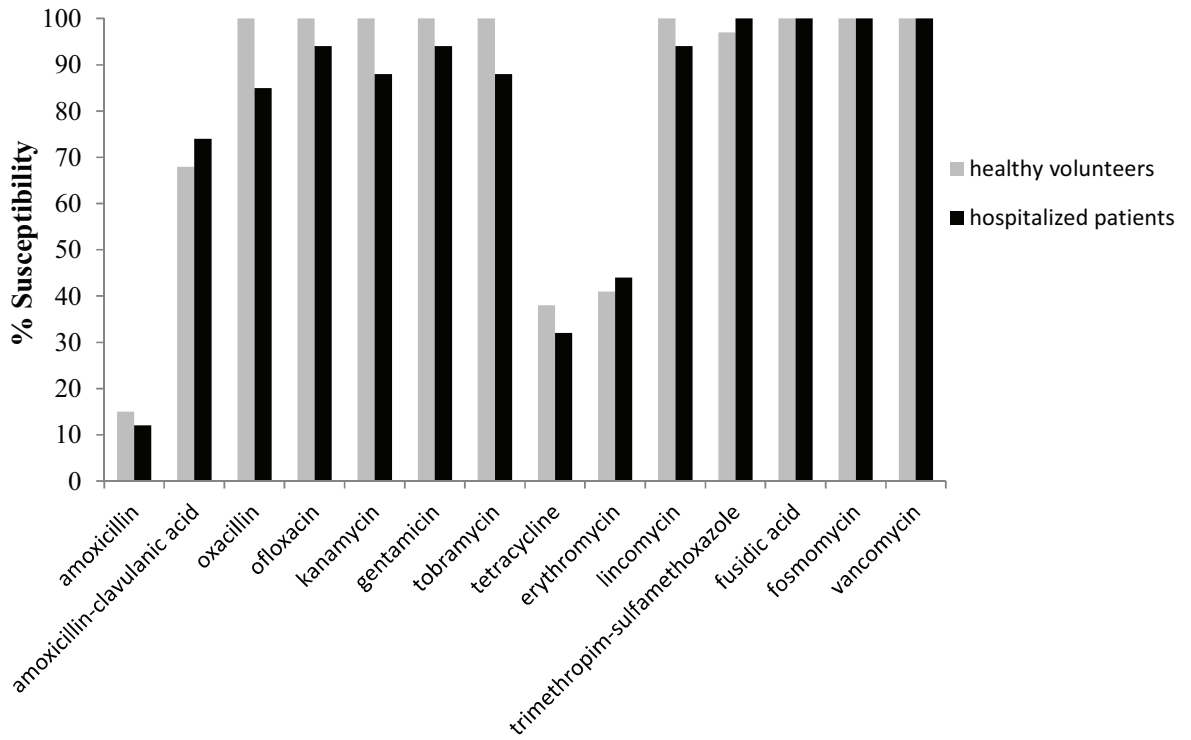
**Table 3:** Main virulence and resistance gene profiles in *S. aureus* isolates from nasal samples of hospital patients and community volunteers in Burkina Faso.

	Hospital n=36 (%)	Community n=33 (%)	Total n=69 (%)	P Hosp vs Comm
<i>Virulence genes</i>				
<i>Enterotoxins</i>				
<i>sea</i>	3 (8.4)	7 (21.2)	10 (14.5)	NS
<i>seb</i>	2 (5.6)	4 (12.1)	6 (8.7)	NS
<i>egc cluster</i>	14 (38.9)	15 (45.5)	29 (42.0)	NS
<i>seg</i>	14 (38.9)	15 (45.5)	29 (42.0)	NS
<i>seh</i>	1 (2.7)	8 (24.2)	9 (13.0)	0.01
<i>sek</i>	6 (16.7)	6 (18.2)	12 (17.4)	NS
<i>seq</i>	6 (16.7)	6 (18.2)	12 (17.4)	NS
<i>Other toxins</i>				
<i>tst</i>	7 (19.4)	13 (39.4)	20 (29.0)	NS
<i>etA</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NS
<i>etB</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NS

<i>etD</i>	15 (41.7)	7 (21.2)	22 (31.9)	NS
<i>edinA</i>	7 (19.4)	3 (9.1)	10 (14.5)	NS
<i>edinB</i>	15 (41.7)	7 (21.2)	22 (31.9)	NS
<i>lukS-PV/lukF-PV</i>	19 (52.8)	12 (36.4)	31 (44.9)	NS
<i>lukDE</i>	25 (69.4)	22 (66.7)	47 (68.1)	NS
<hr/> <i>Haemolysins</i>				
<i>hla</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>hld</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>hlgA</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>hlg</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>hlgv</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<hr/> <i>MSCRAMMs</i>				
<i>bbp</i>	31 (86.1)	31 (93.9)	62 (89.9)	NS
<i>cna</i>	22 (61.1)	24 (72.7)	46 (66.7)	NS
<i>ebpS</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>clfA</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>clfB</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>fib</i>	19 (52.8)	19 (57.6)	38 (55.1)	NS

<i>fnbA</i>	33 (91.7)	32 (97.0)	65 (94.2)	NS
<i>fnbB</i>	32 (88.9)	33 (100)	65 (94.2)	NS
<hr/>				
<i>Capsule components</i>				
<i>cap5</i>	28 (69.4)	15 (45.5)	43 (62.3)	0.007
<i>cap8</i>	8 (30.6)	18 (54.5)	26 (37.7)	0.007
<i>icaA</i>	36 (100)	33 (100)	69 (100)	NS
<i>icaC</i>	25 (69.4)	21 (63.6)	46 (66.7)	NS
<i>icaD</i>	35 (97.2)	33 (100)	68 (98.6)	NS
<hr/>				
<i>Other virulence factors</i>				
<i>chp</i>	24 (66.7)	20 (60.6)	44 (63.8)	NS
<i>scn</i>	36 (100)	27 (81.8)	63 (91.3)	0.009
<hr/>				
<i>Accessory gene regulators</i>				
<i>agr1</i>	17 (47.2)	12 (36.4)	29 (42.0)	NS
<i>agr2</i>	9 (25.0)	9 (27.3)	18 (26.1)	NS
<i>agr3</i>	7 (19.4)	9 (27.3)	16 (23.2)	NS
<i>agr4</i>	3 (8.4)	3 (9.1)	6 (8.7)	NS
<hr/>				
<i>Resistance genes</i>				

1					
2					
3	<i>mecA</i>	4 (11.1)	0 (0)	4 (5.8)	NS
4					
5					
6	<i>mecC</i>	0 (0)	0 (0)	0	NS
7					
8					
9	<i>blaZ</i>	28 (77.8)	25 (75.8)	53 (76.8)	NS
10					
11					
12	<i>ermA</i>	0 (0)	0 (0)	0 (0)	NS
13					
14					
15	<i>ermC</i>	12 (33.3)	13 (39.4)	25 (36.2)	NS
16					
17					
18	<i>aacA-aphD</i>	1 (2.7)	0 (0)	1 (1.4)	NS
19					
20					
21	<i>tetM</i>	5 (13.9)	1 (3.0)	6 (8.7)	NS
22					
23					
24	<i>tetK efflux</i>	17 (47.2)	19 (57.6)	36 (52.2)	NS
25					
26					
27	<i>fosB</i>	22 (61.1)	14 (42.4)	36 (52.2)	NS
28					
29					
30					
31	11				
32					
33	12				
34					
35					
36	13				
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					
44					
45					
46					
47					
48					
49					
50					
51					
52					
53					
54					
55					
56					
57					
58					
59					
60					



**Figure 1: Percentage of antimicrobial susceptibility for the *Staphylococcus aureus* strains isolated from healthy volunteers (n=34) and hospitalized patients (n=38) (no significant differences between groups).**

Review

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60



## IX. Conclusion/Perspectives

La résistance aux antibiotiques demeure un problème majeur de santé publique particulièrement dans les pays en voie de développement où les conditions d'hygiène sont encore précaires et où l'utilisation des antibiotiques est souvent abusive et très peu contrôlée. Ce travail sur la résistance au Burkina qui a inclut un nombre important et varié d'échantillons biologiques fournit les premières données objectives sur la prévalence et la caractérisation phénotypique et moléculaire des bactéries multirésistantes circulant au Burkina Faso.

Les résultats indiquent des taux très élevés de portage d'entérobactéries sécrétrices de bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) dans la population hospitalière et au sein de la communauté, augmentant potentiellement la gravité des infections communautaires du fait de traitement inadapté. L'analyse des facteurs de risque de portage de BLSE montre que la consommation antérieure d'antibiotiques ou un séjour antérieur dans un hôpital augmente la probabilité du portage des bactéries multirésistantes. Parmi les entérobactéries isolées au cours des processus infectieux, la proportion de BLSE était importante dans les trois hôpitaux, que ce soit parmi les souches isolées de patient consultant à titre externe ou hospitalisés. La fréquence d'isolement des BLSE était plus importante dans les échantillons urinaires et *Escherichia coli* était l'espèce bactérienne prédominante au sein des entérobactéries sécrétrices de BLSE. Le typage moléculaire des gènes de la résistance montre que la majorité des BLSE était des CTX-M, particulièrement CTX-M-15. D'autres gènes tel que CTX-M-14, 27 et SHV-12 ont été aussi trouvés en proportion faible.

De manière intéressante, l'étude des phylogroupes de *E. coli*, principale espèce isolée au cours de notre étude a permis de montrer que l'expansion de CTX-M-15 au Burkina Faso n'est pas liée à une épidémie de clone mais plutôt une diffusion de plasmides porteurs de gènes de résistance, la pression antibiotique favorisant probablement le maintien de ces plasmides porteurs d'autres gènes de résistances.

Parmi les souches d'*E. coli* BLSE, nous avons détecté pour la première fois au Burkina la présence de quatre isolats producteurs de carbapénémase de type OXA-181 dont le support génétique était un plasmide de type IncX3. Cette émergence de la résistance aux carbapénèmes au moment où ces molécules de dernière ligne (en particulier imipénème) contre les entérobactéries BLSE ont été récemment introduites nécessitera la mise en place d'une surveillance dédiée.

L'étude du portage nasal de *staphylococcus aureus* a montré un taux de portage dans la moyenne des valeurs décrits dans la littérature avec une très faible prévalence des souches

résistant à la méticilline (2,3%). Toutefois dans une proportion importante de souches, les gènes codant pour la Leucocidine de Panton Valentin et du facteur EDIN ont été retrouvés. La présence de ces facteurs de virulence dans ces souches de colonisation constitue des facteurs de risques de gravité lors des infections ; le portage étant la principale source des infections à *S. aureus*.

Les résultats de ce travail ouvrent de nombreuses perspectives d'un point de vue épidémiologique mais également fondamentale.

Le premier objectif sera d'étudier par une approche d'épidémiologie génétique, la diversité et la structure des populations de notre échantillon d'entérobactéries résistantes et sensibles. Cette approche aura pour but de comprendre la dynamique de transmission de ces BMR au Burkina Faso. Pour réaliser cette approche nous utiliserons deux marqueurs génétiques indépendants et complémentaires, le « Multi Locus Sequence Typing » (MLST) et de les « Variable-Number of Tandem Repeats » (VNTR) qui sont disponibles pour un certains nombres espèces d'entérobactéries (*E. coli* et *Klebsiella spp.*) et qui permettront d'obtenir des informations complémentaires concernant d'une part l'identification des clones internationaux auxquels appartiennent les isolats et d'autre part d'appréhender les données génétiques avec un fort pouvoir de résolution (1, 7, 11, 14, 19, 20). En effet, par les données MLST nous pourrions identifier les clones d'entérobactéries circulants dans le pays par comparaison avec la banque de données internationale de MLST (ex : <http://bigsdB.web.pasteur.fr/>). Les VNTR, considérés à l'heure actuelle comme une technique très puissante pour le typage des entérobactéries, apporteront des informations précises quant à la structure des populations et les relations phylogénétiques entre les souches. Dans cette partie du travail, les données que nous obtiendrons seront comparées et replacées dans un contexte international. Cette approche globale nous permettra de définir des patterns génétiques épidémiologiques spécifiques au Burkina Faso mais également de dégager des grandes lignes concernant l'épidémiologie de la BMR. Un autre aspect futur de ce travail, sera d'identifier les supports génétiques de ces mécanismes de résistances aux bêta-lactamases mais aussi à d'autres familles d'antibiotique. La même approche sera réalisée avec les isolats de *S. aureus* avec une évaluation des prévalences de *S. aureus* résistant à la méticilline impliquées dans les processus infectieux.

Au regard des résultats de ce travail qui semblent refléter une diffusion très large des mécanismes de résistance des souches BLSE dans la communauté et en milieu hospitalier et

ceci en colonisation comme dans les processus pathogènes, l'urgence d'une intervention s'impose au Burkina. Dans ce cadre des perspectives plus opérationnelles seront envisagées:

- promouvoir l'hygiène (en insistant sur le lavage des mains) en milieu hospitalier et extra hospitalier

- développer des laboratoires de microbiologie capables de déterminer la résistance des bactéries aux antibiotiques

- mettre en place au niveau national un programme de surveillance de l'évolution de la résistance aux antibiotiques.

Il est aussi impératif pour freiner le développement des résistances de sensibiliser la population sur l'usage excessif des antibiotiques, une éducation des patients sur le respect des traitements, la formation des prescripteurs pour ne prescrire les antibiotiques que si nécessaire et de façon raisonnée.

## X. Références bibliographiques

1. **Ahmed, S. F., M. M. Ali, Z. K. Mohamed, T. A. Moussa, and J. D. Klena.** 2014. Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases and AmpC-producing *Escherichia coli* in a Libyan community. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* **13**:22.
2. **Ashley, E. A., Y. Lubell, N. J. White, and P. Turner.** 2011. Antimicrobial susceptibility of bacterial isolates from community acquired infections in Sub-Saharan Africa and Asian low and middle income countries. *Trop Med Int Health* **16**:1167-79.
3. **Canton, R., and T. M. Coque.** 2006. The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* **9**:466-75.
4. **Canton, R., A. Novais, A. Valverde, E. Machado, L. Peixe, F. Baquero, and T. M. Coque.** 2008. Prevalence and spread of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* **14 Suppl 1**:144-53.
5. **Gniadkowski, M.** 2008. Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* **14 Suppl 1**:11-32.
6. **Guira, O., H. Tieno, Y. Sagna, T. M. Yameogo, L. Zoungrana, S. Traore, I. Diallo, D. Yanogo, and Y. J. Drabo.** 2015. [Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from diabetic foot infections and prospects for empiric antibiotic therapy in Ouagadougou (Burkina Faso)]. *Med Sante Trop* **25**:291-5.
7. **Hara, T., T. Sato, T. Horiyama, S. Kanazawa, T. Yamaguchi, and H. Maki.** 2015. Prevalence and molecular characterization of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from 2000 to 2010 in Japan. *Jpn J Antibiot* **68**:75-84.
8. **Konate, K., A. Hilou, J. F. Mavoungou, A. N. Lepengue, A. Souza, N. Barro, J. Y. Datte, B. M'Batchi, and O. G. Nacoulma.** 2012. Antimicrobial activity of polyphenol-rich fractions from *Sida alba* L. (Malvaceae) against co-trimoxazol-resistant bacteria strains. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* **11**:5.
9. **Laxminarayan, R., A. Duse, C. Wattal, A. K. Zaidi, H. F. Wertheim, N. Sumpradit, E. Vlieghe, G. L. Hara, I. M. Gould, H. Goossens, C. Greko, A. D. So, M. Bigdeli, G. Tomson, W. Woodhouse, E. Ombaka, A. Q. Peralta, F. N. Qamar, F. Mir, S. Kariuki, Z. A. Bhutta, A. Coates, R. Bergstrom, G. D. Wright, E. D. Brown, and O. Cars.** 2013. Antibiotic resistance-the need for global solutions. *Lancet Infect Dis* **13**:1057-98.

10. **Maltha, J., I. Guiraud, B. Kabore, P. Lompo, B. Ley, E. Bottieau, C. Van Geet, H. Tinto, and J. Jacobs.** 2014. Frequency of severe malaria and invasive bacterial infections among children admitted to a rural hospital in Burkina Faso. *PLoS One* **9**:e89103.
11. **Memariani, M., S. Najar Peerayeh, T. Zahraei Salehi, and S. K. Shokouhi Mostafavi.** 2015. Occurrence of SHV, TEM and CTX-M beta-Lactamase Genes Among Enteropathogenic *Escherichia coli* Strains Isolated From Children With Diarrhea. *Jundishapur J Microbiol* **8**:e15620.
12. **Messad, N., L. Landraud, B. Canivet, G. Lina, J. L. Richard, A. Sotto, J. P. Lavigne, and E. Lemichez.** 2013. Distribution of *edn* in *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot ulcers. *Clin Microbiol Infect* **19**:875-80.
13. **Nordmann, P., and L. Poirel.** 2014. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect* **20**:821-30.
14. **Oteo, J., J. M. Hernandez, M. Espasa, A. Fleites, D. Saez, V. Bautista, M. Perez-Vazquez, M. D. Fernandez-Garcia, A. Delgado-Iribarren, I. Sanchez-Romero, L. Garcia-Picazo, M. D. Miguel, S. Solis, E. Aznar, G. Trujillo, C. Mediavilla, D. Fontanals, S. Rojo, A. Vindel, and J. Campos.** 2013. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother* **68**:317-21.
15. **Otter, J. A., and G. L. French.** 2010. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis* **10**:227-39.
16. **Ouedraogo, A. S., A. Dakoure-Kissou, G. E. Poda, F. Koueta, D. Ye-Ouattara, and R. Ouedraogo-Traore.** 2011. [Epidemiology, microbiology, and outcomes of septicemia in children treated at the Charles de Gaulle University Pediatric Hospital in Burkina Faso]. *Sante* **21**:221-5.
17. **Ouedraogo, A. S., D. A. Some, P. W. Dakoure, B. G. Sanon, E. Birba, G. E. Poda, and T. Kambou.** 2011. [Bacterial profile of surgical site infections at Souro Sanou National Hospital Center in Bobo Dioulasso, Burkina Faso]. *Med Trop (Mars)* **71**:49-52.
18. **Rossolini, G. M., M. M. D'Andrea, and C. Mugnaioli.** 2008. The spread of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Clin Microbiol Infect* **14 Suppl 1**:33-41.

19. **Samuelsen, O., U. Naseer, S. Tofteland, D. H. Skutlaberg, A. Onken, R. Hjetland, A. Sundsfjord, and C. G. Giske.** 2009. Emergence of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates of sequence type 258 producing plasmid-mediated KPC carbapenemase in Norway and Sweden. *J Antimicrob Chemother* **63**:654-8.
20. **Skally, M., F. Duffy, K. Burns, D. Doyle, S. Foley, T. Thomas, C. Collins, E. Smyth, J. Turton, and H. Humphreys.** 2014. What may be lurking in the hospital undergrowth? Inapparent cross-transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Hosp Infect* **88**:156-61.
21. **WHO.** [www.who.int/country/bfa/fr/](http://www.who.int/country/bfa/fr/).
22. **WHO.** 2002.

## **ANNEXE : PUBLICATIONS COMPLEMENTAIRES**

1 **High prevalence of SXT/R391-related integrative and conjugative elements carrying**  
2 ***bla*<sub>CMY-2</sub> in *Proteus mirabilis* from gull isolates in the South of France**

3  
4 Salim Aberkane<sup>1,2,3†</sup>, Fabrice Compain<sup>4,5†</sup>, Dominique Decré<sup>4,5,6</sup>, Chloé Dupont<sup>12</sup>, Christlène  
5 Laurens<sup>1</sup>, Marion Vittecoq<sup>7,8</sup>, Alix Pantel<sup>9,10</sup>, Jérôme Solasso<sup>2,13,14</sup>, Christian Carrière<sup>1,2,3</sup>,  
6 François Renaud<sup>8</sup>, Nathalie Brieu<sup>11</sup>, Jean-Philippe Lavigne<sup>9,10</sup>, Nicolas Bouzinbi<sup>1,2,3,8</sup>,  
7 Abdoul-Salam Ouédraogo<sup>2,3</sup>, Hélène Jean-Pierre<sup>1</sup> and Sylvain Godreuil<sup>1,2,3</sup>

8  
9 <sup>1</sup>Centre Hospitalier Régional Universitaire (CHRU) de Montpellier, Département de  
10 Bactériologie-Virologie, Montpellier, France

11 <sup>2</sup>Université Montpellier 1, Montpellier, France

12 <sup>3</sup>INSERM U 1058, Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from  
13 pathogenesis to prevention, Montpellier, France

14 <sup>4</sup> Sorbonne University, UPMC Université Paris 06 CR7, CIMI, team E13 (bacteriology), F-  
15 75013, Paris, France.

16 <sup>5</sup>INSERM U1135, CIMI, team E13, Paris, France.

17 <sup>6</sup> AP-HP, Microbiology, St-Antoine Hospital, Paris, France

18 <sup>7</sup>Centre de Recherche de la Tour du Valat, Arles, France

19 <sup>8</sup>Maladies Infectieuses et Vecteurs: Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle, UMR  
20 (IRD/CNRS/UM) 5290, Montpellier, France

21 <sup>9</sup>Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U1047, Université de Montpellier  
22 1, Nîmes, France

23 <sup>10</sup>Department of Microbiology, CHU Carémeau, Nîmes, France

24 <sup>11</sup>CH du Pays d'Aix, Laboratoire de diagnostic biologique des maladies infectieuses et  
25 d'hygiène, Aix-en-Provence, France



26 <sup>12</sup>Université de Montpellier, UMR 5569, équipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements,  
27 France.

28 <sup>13</sup>Department of Biopathology, CHRU Montpellier, France

29 <sup>14</sup>Department of Clinical Oncoproteomic, Montpellier Cancer Institute, Montpellier, France

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51 †Both authors contributed equally to this work.

52

53 **Corresponding author:** Salim ABERKANE, INSERM U1058 "Infection by HIV and by  
54 agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" & Department of  
55 Bacteriology-Virology CHU Arnaud de Villeneuve 371 avenue du doyen Gaston Giraud  
56 34295 - Montpellier Cedex 5 France  
57 Phone: +33 648 61 22 31. Fax: +33 467 33 58 93. E-mail: salim.aberkane@live.fr

58

59

60 **Running Title:** *bla*<sub>CMY-2</sub>-carrying ICEs in *Proteus mirabilis* from gulls

61

62

63 **Keywords:** *bla*<sub>CMY-2</sub>, SXT/R391 integrative and conjugative element, *Proteus mirabilis*,  
64 gulls, France

65 **Figures:** 1 in text and 1 in supplementary material

66 **Tables:** 1 in text and 1 in supplementary material

67 **Abstract:** 75 words

68 **Text:** 1386 words

69 **Abstract**

70 The genetic structures involved in the dissemination of *bla*<sub>CMY-2</sub> carried by *Proteus mirabilis*  
71 isolates recovered from different gull species in the South of France were characterized and  
72 compared to clinical isolates. *bla*<sub>CMY-2</sub> was identified in *P. mirabilis* isolates from 27/93  
73 yellow-legged gulls and 37/65 slender-billed gulls. It was carried by a conjugative SXT/R391-  
74 like ICE in all avian strains and in 3/7 human strains. Two clinical isolates had the same  
75 genetic background as six avian isolates.

76

77

78 **Text**

79 CMY-2 and its derivatives are the most widespread plasmid-mediated cephalosporinases  
80 (AmpC) in *Proteus mirabilis* (1, 2) and are mainly found in plasmids from incompatibility  
81 (Inc) groups A/C and II (1, 3). *bla*<sub>CMY-2</sub> mobilization by an integrative and conjugative  
82 element (ICE) in *P. mirabilis* was described recently in Japan and Spain (4, 5). Several studies  
83 focused on the characterization of AmpC-producing *P. mirabilis* isolates from food-producing  
84 animals and pets (6–8). Migratory birds could act as reservoir and have an important role in  
85 the dissemination of these resistance genes (9). This study investigated the occurrence and the  
86 molecular structures supporting *bla*<sub>CMY-2</sub> spreading in *P. mirabilis* isolates from different gull  
87 species in the South of France. Human isolates from the same geographical region were used  
88 for comparison.

89 In April 2012, faecal samples were collected from 93 juvenile non-fledged yellow-legged  
90 gulls (*Larus michahellis*) and 65 slender-billed gulls (*Chroicocephalus genei*) breeding in the  
91 island of Carteau in Port-Saint-Louis and in Giens peninsula (France), respectively. A cotton  
92 swab was rotated inside the bird cloacae and was immediately inoculated in Tryptic Soy broth  
93 (Thermo Fisher Scientific). After 24-hour incubation at 37°C, broths were subcultured on  
94 ChromID ESBL agar biplates (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France) and examined after 24  
95 and 48 hours. *P. mirabilis* was identified by matrix-assisted laser desorption ionization-time  
96 of flight mass spectrometry (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Susceptibility to  
97 amoxicillin, cefalotin, ceftazidime, ceftazidime, cefepime and imipenem was tested  
98 using the disk diffusion method on Müller-Hinton agar and was interpreted following the  
99 European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) clinical breakpoints  
100 (Version 5.0) ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)). The criteria used to select  
101 suspected AmpC producers were described previously (1). Extended spectrum beta lactamase  
102 (ESBL) production was excluded using the double-disc synergy test (10). Seven *P. mirabilis*

103 human clinical isolates with an AmpC phenotype collected in 2012 in the same geographical  
104 region were used for comparison. Strain typing was performed by rep-PCR using the  
105 DiversiLab system (bio-Mérieux, France) as described previously (11).  
106 The presence of genes encoding AmpC was assessed by multiplex PCR, as previously  
107 described (12). Plasmids were typed using the PCR-based replicon typing method (PBRT)  
108 (13) and the plasmid relaxase gene typing method (PRaseT) (14). Primers targeting the highly  
109 conserved relaxase gene of the ICE belonging to the SXT/R391 family were designed as  
110 previously described (14). ICE integration at the 5' end of the chromosomal *prfC* gene was  
111 investigated using primers to amplify the *ORF\_96* gene at the ICE 3' extremity, degenerate  
112 primers to cover *P. mirabilis* and *E. coli prfC* gene sequences, and primers that amplifies both  
113 regions (overlapping PCR) (4, 5) (Table S1, supplementary material). *E. coli* J53 was used as  
114 negative control. All PCR products were sequenced bidirectionally using the BigDye  
115 Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and an  
116 Applied Biosystems 3730 XL capillary sequencer. Sequences were identified using the  
117 BLAST program and the NCBI database. Mating experiments were performed at 37°C using  
118 *P. mirabilis* and azide-resistant *Escherichia coli* J53 strains with a donor to recipient ratio of  
119 1:1. Transconjugants were selected on Drigalski agar (Bio-Rad) containing 200 mg/L sodium  
120 azide and 20 mg/L cefoxitin. To investigate *bla*<sub>CMY-2</sub> possible chromosomal location, I-*CeuI*-  
121 restricted DNA from selected strains and transconjugants was separated by pulsed-field gel  
122 electrophoresis (PFGE). Pulse ramps were 90 to 150s for 24 h and 90 to 120s for 6 h at 170 V.  
123 Southern blotting and hybridization using a *bla*<sub>CMY-2</sub> probe and a probe for the highly specific  
124 integrase of the SXT/R391-like ICE were carried out as previously described (15, 16).  
125 AmpC enzymes were produced by 29% (27/93) of *P. mirabilis* isolates from yellow-legged  
126 gulls and 56.9% (37/65) of isolates from slender-billed gulls. PCR analysis and sequencing

127 showed that all 71 AmpC-producing *P. mirabilis* isolates (i.e., 64 avian and seven human  
128 isolates) carried the *bla*<sub>CMY-2</sub> gene.

129 Eleven clusters (named A–K) were recognized using rep-PCR (Figure 1). Ten clusters  
130 contained exclusively avian isolates. Five clusters included only yellow-legged gull isolates  
131 (clusters A, B, C, D and G), two clusters comprised only slender-billed gulls isolates (clusters  
132 J and K) and three clusters included isolates from both species (clusters E, F and I). Cluster H  
133 comprised two human and six avian *P. mirabilis* isolates.

134 In all avian isolates, PRaseT revealed the presence of an IncJ relaxase gene specific of the  
135 SXT/R391-like ICE family (17), while PBRT was negative. In the seven human isolates, the  
136 SXT/R391-like ICE (three strains), an IncA/C plasmid (two strains) or both elements (two  
137 strains) were detected. Mating experiments were performed using one randomly chosen *P.*  
138 *mirabilis* isolate for each clone defined by rep-PCR and all singletons. For cluster H, which  
139 includes human and avian isolates, one avian and the two human strains were chosen. The  
140 *bla*<sub>CMY-2</sub> gene was successfully transferred to *E. coli* (average transfer frequency: 10<sup>-5</sup>  
141 transconjugants/recipient). The *bla*<sub>CMY-2</sub> and the IncJ relaxase genes were detected in all  
142 recipient cells, except for the two clinical isolates that carried only the IncA/C plasmid as  
143 well as the two human isolates with the IncA/C plasmid and the SXT/R391-like ICE in which  
144 only the IncA/C plasmid was detected, suggesting that it carried the resistance gene. PCR  
145 mapping of the *bla*<sub>CMY-2</sub>-containing region revealed a genetic structure similar to the one  
146 described by Harada et al. (4), including a highly specific SXT/R391-like integrase, the IncJ  
147 relaxase and a Tn10 composite transposon that encodes the *bla*<sub>CMY-2</sub> gene integrated in the  
148 ICE (Supplemental Figure S1).

149 *bla*<sub>CMY-2</sub> chromosomal localization was demonstrated by Southern blotting in the avian strain  
150 YL11 and the human strain H3 and the corresponding transconjugants, but not in the human  
151 strains H4 and H7 (Table 1). Hybridization using the ICE-specific probe revealed the

152 presence of the ICE in strains YL11, H3 and H4 and in the transconjugants for strains YL11  
153 and H3 (data not shown). ICE and *bla*<sub>CMY-2</sub> co-localization on the same ≈565 kb I-*CeuI*  
154 fragment was observed in the strains YL11 and H3.

155 The positive overlapping PCR amplification demonstrated that the ICE was integrated in the  
156 chromosome of each *P. mirabilis* isolate and the corresponding transconjugant. These data  
157 suggest that the ICE is involved in *bla*<sub>CMY-2</sub> dissemination in all avian and three human  
158 isolates. PCR analysis of ICE insertion site in randomly chosen isolates for each clone of our  
159 collection and their respective transconjugants gave the same result. As expected, (i) ORF\_96  
160 was present in both *P. mirabilis* and its transconjugant, but was absent in *E. coli* J53; (ii) *prfC*  
161 was present in *P. mirabilis* and *E. coli* J53, but could not be amplified in the transconjugant  
162 (due to disruption caused by the ICE insertion); (iii) the overlapping PCR covering both the  
163 *ORF\_96* and *prfC* genes was positive in *P. mirabilis* and its transconjugant, but negative in *E.*  
164 *coli* J53. This confirmed the insertion of the *bla*<sub>CMY-2</sub>-carrying ICE at the 5' end of *prfC*.

165 *P. mirabilis* isolates carrying *bla*<sub>CMY-2</sub> were described in dogs (6), cats (18) and chicken (19).  
166 Mata et al. recently highlighted the increasing prevalence of *bla*<sub>CMY-2</sub>-carrying SXT/R391-like  
167 ICEs in *P. mirabilis* human isolates in Spain between 1999 and 2007 (5). In their study,  
168 *bla*<sub>CMY-2</sub> genetic environment was similar to the one observed in our avian *P. mirabilis*  
169 isolates. A similar structure was described in the ICE*PmiJpn1* element recovered from a *P.*  
170 *mirabilis* clinical isolate in Japan in 2006. Our study is the first description of such a structure  
171 in *P. mirabilis* isolates in France and tends to confirm the hypothesis on ICE role in *bla*<sub>CMY-2</sub>  
172 dissemination worldwide (5). The finding that the ICE was the exclusive genetic support of  
173 the resistance gene in all avian isolates, which were classified in different clusters, suggests  
174 that it could play an important role in the spread of antibiotic resistance genes among these  
175 birds and in marine ecosystems. Although the biotic/abiotic reservoirs of *P. mirabilis* resistant  
176 strains remain poorly known, the presence of similar clones in avian and human isolates in

177 our study might suggest exchanges between different ecosystems (wildlife vs human).  
178 Moreover, *P. mirabilis* has already been described as shuttle species between human and  
179 animal guts and water bodies (20).

180 As ICEs from the SXT/R391-like family are widespread in environmental *Proteus spp.*,  
181 *Vibrio spp.*, *Photobacterium spp.* and *Shewanella spp.* strains (21), the insertion of beta-  
182 lactam-resistance genes in this structure is worrying and should be monitored. Further studies  
183 are needed to assess the presence of beta-lactam-resistant ICE-positive strains (*P. mirabilis*  
184 and other clinically relevant bacteria) in the environment and in wildlife microbiota.

185

#### 186 **Acknowledgements**

187 Preliminary results were presented at the 34<sup>th</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie  
188 Anti-Infectieuse (RICAI) in 2014 (Communication No. 151/41O). We thank Elisabetta  
189 Andermarcher for assistance in preparing and editing the manuscript.



190 **References**

- 191 1. **Mata C, Miró E, Rivera A, Mirelis B, Coll P, Navarro F.** 2010. Prevalence of  
192 acquired AmpC beta-lactamases in *Enterobacteriaceae* lacking inducible chromosomal  
193 *ampC* genes at a Spanish hospital from 1999 to 2007. *Clin Microbiol Infect* **16**:472–476.
- 194 2. **Empel J, Baraniak A, Literacka E, Mrówka A, Fiett J, Sadowy E, Hryniewicz W,**  
195 **Gniadkowski M.** 2008. Molecular Survey of  $\beta$ -Lactamases Conferring Resistance to  
196 Newer  $\beta$ -Lactams in *Enterobacteriaceae* Isolates from Polish Hospitals. *Antimicrob*  
197 *Agents Chemother* **52**:2449–2454.
- 198 3. **Carattoli A.** 2009. Resistance Plasmid Families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob*  
199 *Agents Chemother* **53**:2227–2238.
- 200 4. **Harada S, Ishii Y, Saga T, Tateda K, Yamaguchi K.** 2010. Chromosomally encoded  
201 *bla*<sub>CMY-2</sub> located on a novel SXT/R391-related integrating conjugative element in a  
202 *Proteus mirabilis* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* **54**:3545–3550.
- 203 5. **Mata C, Navarro F, Miró E, Walsh TR, Mirelis B, Toleman M.** 2011. Prevalence of  
204 SXT/R391-like integrative and conjugative elements carrying *bla*<sub>CMY-2</sub> in *Proteus*  
205 *mirabilis*. *J Antimicrob Chemother* **66**:2266–2270.
- 206 6. **Harada K, Niina A, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Miyamoto T, Kataoka Y.**  
207 2014. Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Proteus*  
208 *mirabilis* isolates from dogs. *J Med Microbiol* **63**:1561–1567.
- 209 7. **Wong MHY, Wan HY, Chen S.** 2013. Characterization of multidrug-resistant *Proteus*  
210 *mirabilis* isolated from chicken carcasses. *Foodborne Pathog Dis* **10**:177–181.

- 211 8. **Seiffert SN, Tinguely R, Lupo A, Neuwirth C, Perreten V, Endimiani A.** 2013. High  
212 prevalence of extended-spectrum-cephalosporin-resistant enterobacteriaceae in poultry  
213 meat in Switzerland: emergence of CMY-2- and VEB-6-possessing *Proteus mirabilis*.  
214 Antimicrob Agents Chemother **57**:6406–6408.
- 215 9. **Bonnedahl J, Drobni P, Johansson A, Hernandez J, Melhus A, Stedt J, Olsen B,**  
216 **Drobni M.** 2010. Characterization, and comparison, of human clinical and black-headed  
217 gull (*Larus ridibundus*) extended-spectrum beta-lactamase-producing bacterial isolates  
218 from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. J Antimicrob Chemother **65**:1939–1944.
- 219 10. **Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A.** 1988. Extended broad-spectrum  
220 beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in  
221 *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev Infect Dis  
222 **10**:867–878.
- 223 11. **Hawser SP, Badal RE, Bouchillon SK, Hoban DJ, Hackel MA, Biedenbach DJ,**  
224 **Goff DA.** 2014. Susceptibility of gram-negative aerobic bacilli from intra-abdominal  
225 pathogens to antimicrobial agents collected in the United States during 2011. J Infect  
226 **68**:71–76.
- 227 12. **Pérez-Pérez FJ, Hanson ND.** 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-  
228 lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J Clin Microbiol **40**:2153–  
229 2162.
- 230 13. **Carattoli A, Bertini A, Villa L, Falbo V, Hopkins KL, Threlfall EJ.** 2005.  
231 Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. J Microbiol Methods **63**:219–  
232 228.

- 233 14. **Compain F, Poisson A, Le Hello S, Branger C, Weill F-X, Arlet G, Decré D.** 2014.  
234 Targeting relaxase genes for classification of the predominant plasmids in  
235 *Enterobacteriaceae*. *Int J Med Microbiol* **304**:236-42
- 236 15. **Bonnet R, Marchandin H, Chanal C, Sirot D, Labia R, De Champs C, Jumas-Bilak**  
237 **E, Sirot J.** 2002. Chromosome-encoded class D beta-lactamase OXA-23 in *Proteus*  
238 *mirabilis*. *Antimicrob Agents Chemother* **46**:2004–2006.
- 239 16. **Teysier C, Marchandin H, Siméon De Buochberg M, Ramuz M, Jumas-Bilak E.**  
240 2003. Atypical 16S rRNA gene copies in *Ochrobactrum intermedium* strains reveal a  
241 large genomic rearrangement by recombination between *rrn* copies. *J Bacteriol*  
242 **185**:2901–2909.
- 243 17. **Böltner D, MacMahon C, Pembroke JT, Strike P, Osborn AM.** 2002. R391: a  
244 Conjugative Integrating Mosaic Comprised of Phage, Plasmid, and Transposon Elements.  
245 *J Bacteriol* **184**:5158–5169.
- 246 18. **Hordijk J, Schoormans A, Kwakernaak M, Duim B, Broens E, Dierikx C, Mevius**  
247 **D, Wagenaar JA.** 2013. High prevalence of fecal carriage of extended spectrum  $\beta$ -  
248 lactamase/AmpC-producing *Enterobacteriaceae* in cats and dogs. *Front Microbiol* **4**:242.
- 249 19. **Reich F, Atanassova V, Klein G.** 2013. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase- and AmpC-  
250 producing enterobacteria in healthy broiler chickens, Germany. *Emerg Infect Dis*  
251 **19**:1253–1259.
- 252 20. **Sosa V, Schlapp G, Zunino P.** 2006. *Proteus mirabilis* isolates of different origins do  
253 not show correlation with virulence attributes and can colonize the urinary tract of mice.  
254 *Microbiol Read Engl* **152**:2149–2157.

- 255 21. **Burrus V, Marrero J, Waldor MK.** 2006. The current ICE age: Biology and evolution  
256 of SXT-related integrating conjugative elements. *Plasmid* **55**:173–183.

257

258

259

260 **Figure 1.** Dendrogram of *P. mirabilis* isolates carrying the *bla*<sub>CMY-2</sub> genes YL, yellow-legged  
261 gull isolates; SB, slender-billed gull isolates; H, human isolates

262

263 **Table 1.** Antibiotic susceptibility testing (AST) of *Proteus mirabilis* isolates. AST was  
264 performed and interpreted according to the the European Committee on Antimicrobial  
265 Susceptibility Testing (EUCAST) clinical breakpoints (Version 5.0)  
266 ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)). Mating experiments were performed using one  
267 randomly chosen representative *P. mirabilis* isolate for each clone defined by rep-PCR and all  
268 singletons. <sup>a</sup>, the range of the inhibition zone diameter for clustered isolates is indicated; <sup>b</sup>, one  
269 strain also harboured a SXT/R391-like ICE that did not carry *bla*<sub>CMY-2</sub>; <sup>c</sup>, Southern blotting  
270 with *bla*<sub>CMY-2</sub> and ICE-specific integrase probes was performed after PFGE following DNA  
271 macrorestriction using the intronic endonuclease I-CeuI. AMX, amoxicillin; CF, cefalotin;  
272 CTX, cefotaxime; CAZ, ceftazidime; FEP, cefepime; FOX, ceftazidime; IPM, imipenem

273

274 **Figure 2.** Genetic organization of the SXT/R391-like ICE carrying *bla*<sub>CMY-2</sub> in *P. mirabilis*  
275 The same molecular structure was observed in all 64 *bla*<sub>CMY-2</sub>-positive avian strains and in 3/7  
276 (42.9%) human strains. This structure was similar to that of ICEPmiJpn1 (Genbank accession  
277 No. AB525688). Light grey arrows represent the conserved genes of the ICE. Dark grey  
278 arrows represent genes carried by the Tn10 composite transposon. Black arrows represent the  
279 *bla*<sub>CMY-2</sub> gene. Thin black lines represent the different primers used to explore this region. (A)  
280 Partial sequence of ICEPmiJpn1 used as a template for PCR mapping (B) Schematic  
281 representation of the regions amplified and sequenced in this study.

282

283 **Supplementary material.**

284 **Table S1.** Primers used for PCR-mapping of the SXT/R391-related integrative and  
285 conjugative element.

286

287

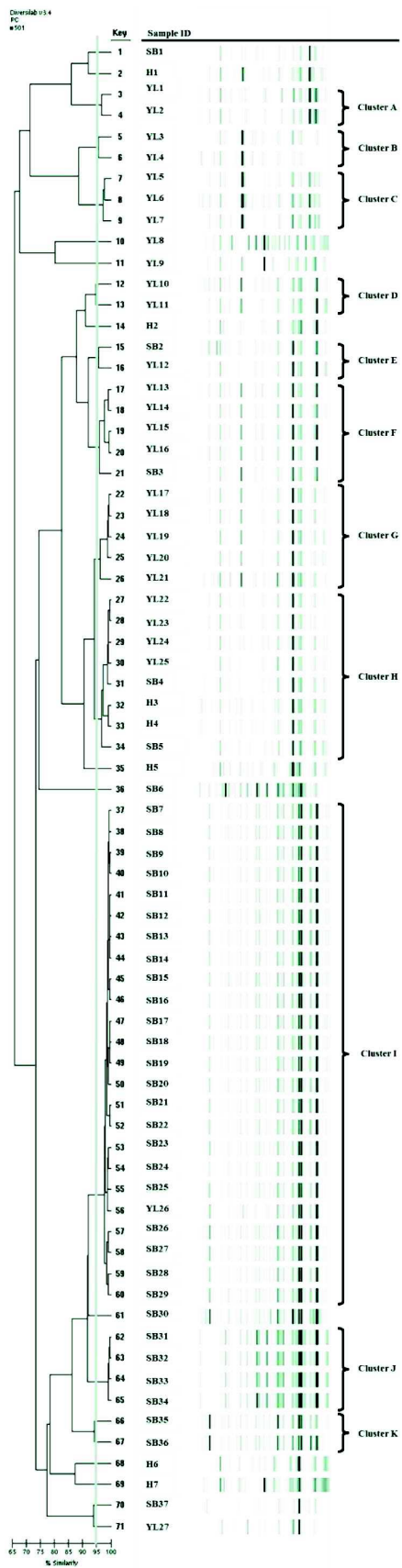
288

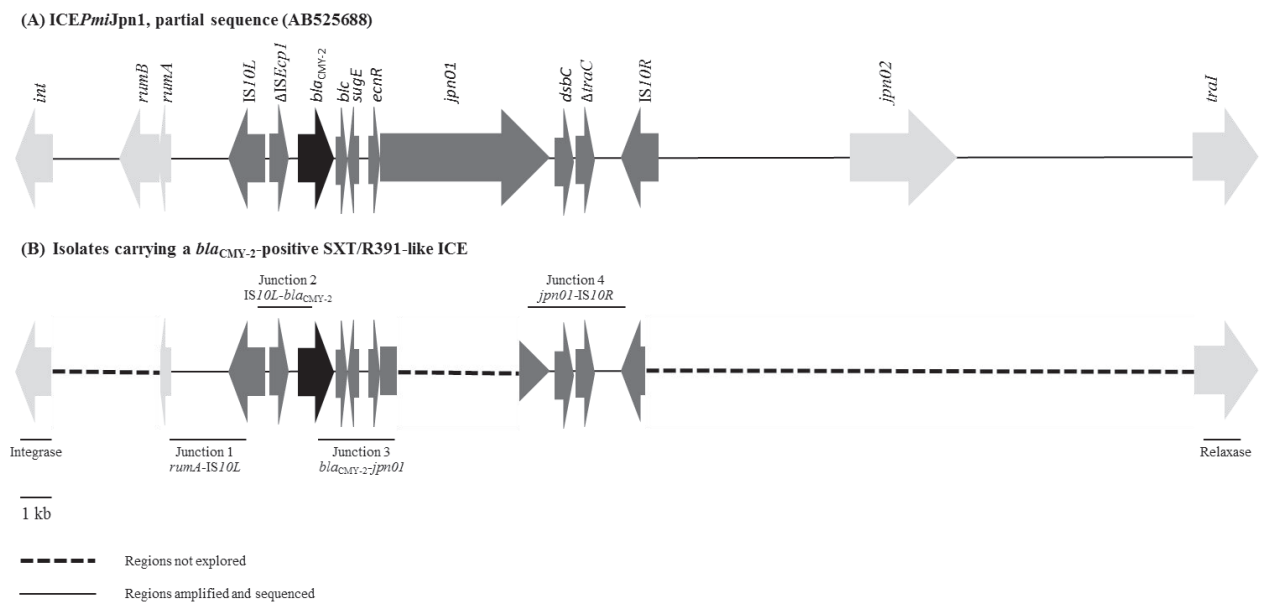
289

Isolate	rep-PCR cluster	Genetic support of bla <sub>CMY-2</sub>	No. isolates	Selected strains Southern blotting was performed	Parental strain (P) or transconjugant (T)	Antibiotic resistance profile (inhibition zone diameter, mm <sup>2</sup> )						
						AMX	CTX	CF	FEP	FOX	CAZ	IPM
Avian isolates	A	SXT/R391-like ICE	2		P	R (6)	S (23)	R (6)	S (29-30)	R (17)	I (19-21)	S (28-30)
					T	R (6)	R (13)	R (6)	S (30)	R (6)	R (9)	S (32)
	B	SXT/R391-like ICE	2		P	R (6)	I (19)	R (6)	S (24-27)	R (14-17)	I (19-20)	S (25-27)
					T	R (6)	R (10)	R (6)	S (33)	R (6)	R (6)	S (30)
	C	SXT/R391-like ICE	3		P	R (6)	S (23-26)	R (6)	S (27-34)	S (19-21)	I (19-21)	S (25-28)
					T	R (6)	R (10)	R (6)	S (32)	R (6)	R (6)	S (30)
	D	SXT/R391-like ICE	2	YL11	P	R (6)	S (23-26)	R (6)	S (29-34)	R (17-18)	I (20-21)	S (26)
					T	R (6)	R (11)	R (6)	S (32)	R (6)	R (6)	S (31)
	E	SXT/R391-like ICE	2		P	R (6-12)	S (23-26)	R (6)	S (26-39)	R (18)	S/I (19-27)	S (24-29)
					T	R (6)	R (16)	R (6)	S (34)	R (8)	R (12)	S (30)
	F	SXT/R391-like ICE	5		P	R (6)	S/I (19-26)	R (6)	S (27-34)	R (15-18)	S/I (19-24)	S (25-29)
					T	R (6)	R (8)	R (6)	S (33)	R (6)	R (6)	S (32)
	G	SXT/R391-like ICE	5		P	R (6)	S/I (19-25)	R (6)	S (25-33)	R (10-18)	S/I (19-27)	S (27-30)
					T	R (6)	R (6)	R (6)	S (32)	R (6)	R (6)	S (30)
	H	SXT/R391-like ICE	6		P	R (6-7)	S (23-28)	R (6)	S (28-39)	R (13-18)	S/I (19-30)	S (26-33)
				T	R (6)	R (15)	R (6)	S (34)	R (9)	R (10)	S (32)	
I	SXT/R391-like ICE	24		P	R (6-10)	S (23-32)	R (6)	S (29-41)	R (8-18)	S/I (19-31)	S (24-31)	
				T	R (6)	R (9)	R (6)	S (37)	R (6)	R (8)	S (29)	
J	SXT/R391-like ICE	4		P	R (6-8)	S (25-32)	R (6)	S (32-41)	R (18)	S/I (21-32)	S (24-31)	
				T	R (6)	R (6)	R (6)	S (34)	R (6)	R (6)	S (30)	
K	SXT/R391-like ICE	2		P	R (6)	S (28-30)	R (6)	S (34-39)	R (18)	S (28-29)	S (30-31)	
				T	R (6)	R (9)	R (6)	S (33)	R (6)	R (10)	S (32)	
Singletons	SXT/R391-like ICE	7		P	R (6)	S/R (16-29)	R (6)	S (27-37)	S/R (18-19)	S/I (19-27)	S (23-29)	
				T	R (6)	R (11-15)	R (6)	S (33-38)	R (6-8)	R (11-17)	S (31-33)	

Isolate	rep-PCR cluster	Genetic support of bla <sub>CMY-2</sub>	No. isolates	Selected strains Southern blotting was performed	Parental strain (P) or transconjugant (T)	Antibiotic resistance profile (inhibition zone diameter, mm <sup>3</sup> )						
						AMX	CTX	CF	FEP	FOX	CAZ	IPM
Human clinical isolates	H	IncA/C plasmid <sup>b</sup>	1	H4	P	R (6)	S (25)	R (6)	S (27)	R (18)	I (20)	S (25)
					T	R (6)	R (6)	R (6)	S (33)	R (6)	R (6)	S (31)
	SXT/R391-like ICE	1	H3	P	R (6)	S (23)	R (6)	S (32)	R (15)	I (20)	S (25)	
				T	R (6)	R (8)	R (6)	S (34)	R (6)	R (7)	S (32)	
	Singletons	SXT/R391-like ICE	2		P	R (6)	S/I (19-23)	R (6)	S (25-35)	R (17-18)	I (19-21)	S (22-26)
					T	R (6)	R (9-11)	R (6)	S (28-33)	R (6)	R (6-13)	S (29-32)
	Singleton	IncA/C plasmid <sup>b</sup>	1		P	R (6)	I (19)	R (6)	S (25)	R (17)	I (19)	S (23)
					T	R (6)	R (12)	R (6)	S (38)	R (6)	R (8)	S (32)
	Singleton	IncA/C plasmid	2	H7	P	R (6)	S (21-23)	R (6)	S (34-37)	R (18)	I (20)	S (27-30)
					T	R (6)	R (15-16)	R (6)	S (32-35)	R (6)	R (6-10)	S (33)







**Figure 2. Genetic organization of the SXT/R391-like ICE carrying *bla*<sub>CMY-2</sub> in *P. mirabilis*.**

The same molecular structure was recovered in all 64 *bla*<sub>CMY-2</sub>-positive avian strains and in 3/7 (42,9%) human strains. This structure was similar to ICE*PmiJpn1* (Genbank accession No. AB525688). Light grey arrows represent the conserved genes of the ICE. Dark grey arrows represent genes carried by the Tn*I0* composite transposon. Black arrows represent the *bla*<sub>CMY-2</sub> gene. Thin black lines represent different primer combinations used to explore this region. (A) Partial sequence of ICE*PmiJpn1* used as a template for PCR-mapping (B) Schematic representation of the regions amplified and sequenced in this study.

# Non-O1/Non-O139 *Vibrio cholerae* Avian Isolate from France Cocarrying the *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> Genes

Salim Aberkane,<sup>a,b,c</sup> Fabrice Compain,<sup>d,e</sup> Olivier Barraud,<sup>j</sup> Abdoul-Salam Ouédraogo,<sup>b,c</sup> Nicolas Bouzinbi,<sup>a,b,c,h</sup> Marion Vittecoq,<sup>g,h</sup> Hélène Jean-Pierre,<sup>a,i</sup> Dominique Decré,<sup>d,e,f</sup> Sylvain Godreuil<sup>a,b,c</sup>

Département de bactériologie-virologie, Centre hospitalier régional universitaire (CHRU) de Montpellier, Montpellier, France<sup>a</sup>; Université de Montpellier, Montpellier, France<sup>b</sup>; Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Infection by HIV and by Agents with Mucocutaneous Tropism: From Pathogenesis to Prevention), Montpellier, France<sup>c</sup>; Sorbonne University, UPMC Univ Paris 06 CR7, CIMI, Team E13, Paris, France<sup>d</sup>; INSERM U1135, CIMI, Team E13, Paris, France<sup>e</sup>; AP-HP, Microbiology, St. Antoine Hospital, Paris, France<sup>f</sup>; Centre de recherche de la Tour du Valat, Arles, France<sup>g</sup>; MIVEGEC (Laboratoire Maladies Infectieuses et Vecteurs, Ecologie, Génétique, Evolution et Contrôle), UMR CNRS 5290/IRD 224, Université de Montpellier, Montpellier, France<sup>h</sup>; UMR 5119 ECOSYM, Equipe Pathogènes et Environnements, Laboratoire de Bactériologie, U.F.R. des Sciences pharmaceutiques et biologiques, Montpellier, France<sup>i</sup>; INSERM, U1092, Université de Limoges, UMR-S1092, Faculté de Médecine, CHU Limoges, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Limoges, France<sup>j</sup>

**We describe here a non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* isolate producing both VIM-1 and VIM-4 carbapenemases. It was isolated from a yellow-legged gull in southern France. The *bla*<sub>VIM</sub> genes were part of a class 1 integron structure located in an IncA/C plasmid. This study emphasizes the presence of carbapenemase genes in wildlife microbiota.**

Multidrug-resistant *Vibrio cholerae* strains have been increasingly reported worldwide (1). However, data on resistance to third-generation cephalosporins, mostly via genes encoding extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) (2, 3) or cephalosporinase determinants (4) are limited. Carbapenemase-mediated resistance in *Vibrio* spp. has been reported only in India, where clinical and environmental *V. cholerae* isolates carrying the NDM-1 metalloenzyme were described in several studies (4–6). We describe here an avian strain of *V. cholerae* that was isolated in southern France and that coharbors the *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> carbapenemase genes.

In April 2013, 93 cloacal swab samples from juvenile unfledged yellow-legged gulls (*Larus michahellis*) breeding on the island of Carteau, Port-Saint-Louis, France, were screened for bacteria resistant to broad-spectrum  $\beta$ -lactam antibiotics. Briefly, swab samples were inoculated in Trypticase soy broth (Thermo Fisher Scientific) and grown at 37°C for 24 h. Samples were then subcultured in ESBL agar plates (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France) and were examined after 24 and 48 h of incubation. *Enterobacteriaceae* resistant to multiple drugs via different resistance mechanisms (e.g., third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* harboring plasmid-mediated cephalosporinase genes or ESBL genes) were recovered (7; our unpublished data). In addition, a *V. cholerae* strain showing resistance to third-generation cephalosporins was detected. No other multidrug-resistant *V. cholerae* strain was recovered. Species identification was performed by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (Bruker Daltonics, Bremen, Germany). Moreover, PCR analysis of the *rfb* gene cluster (8), the cholera toxin *ctxA* gene (9), and the colonization factor *tcpA* gene (9) revealed a nontoxicogenic, non-O1/non-O139 isolate.

Susceptibility testing was performed using the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar and was interpreted according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) clinical breakpoints (version 5.0) ([http://www.euCAST.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.euCAST.org/clinical_breakpoints/)) (10). The strain was intermediate or resistant to most  $\beta$ -lactam antibiotics, except aztreonam. The MICs for amoxicillin, cefotaxime, ceftazidime, imipenem, ertap-

enem, doripenem, and meropenem were determined in the parental strain and the transconjugant with the Etest method (bioMérieux, Marcy l’Etoile, France) (Table 1). Metallo- $\beta$ -lactamase production was observed by using the carbapenemase/metallo- $\beta$ -lactamase confirmative identification pack (Rosco Diagnostica NeoSensitabs, Eurobio, Courtaboeuf, France). Specifically, reduced susceptibility to meropenem was corrected by the addition of dipicolinic acid, while the addition of cloxacillin and boronic acid had no effect. ESBL production was excluded with the double-disk synergy test (11), while culture in Mueller-Hinton agar impregnated with 2 ml of  $5 \times 10^{-3}$  M EDTA restored the activity of all  $\beta$ -lactam antibiotics, as previously described (12). Susceptibility testing using the disk diffusion method showed that fluoroquinolones, chloramphenicol, cotrimoxazole, and tetracycline remained active. Only tobramycin showed intermediate susceptibility among the aminoglycosides, while amikacin, isepamicin, netilmicin, and gentamicin remained active.

Detection of the most prevalent carbapenemase genes (including *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, *bla*<sub>OXA-48</sub>, and *bla*<sub>IMP-1</sub>), assessed by multiplex PCR as previously described (13), and of the *bla*<sub>NDM</sub> gene (14), assessed by PCR assay, gave a positive result for the *bla*<sub>VIM</sub> gene. This was confirmed by simplex PCR assay using the primers VIM\_F (5′-AGTGGTGAGTATCCGACAG-3′) and VIM\_R (5′-TGCAACTTCATGTTATGCCG-3′). Bidirectional sequencing performed using the BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit

Received 17 February 2015 Returned for modification 6 March 2015

Accepted 28 June 2015

Accepted manuscript posted online 13 July 2015

Citation Aberkane S, Compain F, Barraud O, Ouédraogo A-S, Bouzinbi N, Vittecoq M, Jean-Pierre H, Decré D, Godreuil S. 2015. Non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* avian isolate from France cocarrying the *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes. *Antimicrob Agents Chemother* 59:6594–6596. doi:10.1128/AAC.00400-15.

Address correspondence to Salim Aberkane, salim.aberkane@live.fr.

Supplemental material for this article may be found at <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00400-15>.

Copyright © 2015, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

doi:10.1128/AAC.00400-15

TABLE 1 Susceptibility of parental and recipient strains

Antibiotic	MIC (mg/liter) for:		
	Parental strain ( <i>V. cholerae</i> )	Recipient strain (J53 <i>E. coli</i> )	J53 <i>E. coli</i>
Amoxicillin	>256	>256	2
Cefotaxime	4	8	0.064
Ceftazidime	6	24	0.064
Aztreonam	0.38	0.032	0.064
Imipenem	3	4	0.25
Ertapenem	0.19	0.064	0.064
Meropenem	0.5	0.75	0.064
Doripenem	0.75	0.75	0.064
Amikacin	2	0.5	0.5
Gentamicin	1.5	0.25	0.25
Tobramycin	2	0.75	0.5

(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and an Applied Biosystems 3730 XL capillary sequencer identified both *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes.

To characterize the genetic environment of the *bla*<sub>VIM</sub> genes, the amplicons of parental and recipient strains were analyzed by PCR mapping and sequencing using specific primers (Table 2) (GenBank accession number KR262557). Both *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes were part of the same class 1 integron (Fig. 1), located in the IncA/C plasmid. These two carbapenemase gene cassettes flanked an *aac(6')-IIc* gene cassette that confers resistance to aminoglycosides. A PcS (strong) promoter variant, divergent to the integrase gene, was identified in the class 1 integron, with a functional P2 promoter located downstream of the PcS in the *attI1* site. It resulted from the insertion of three G residues. The PcS-P2 association has rarely been described in class 1 integrons and might confer high-level gene cassette expression (15). A similar integron containing the *bla*<sub>VIM-1</sub> and *aac(6')-IIc* genes was previously described in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate from Greece (GenBank accession number AY648125) (16), but this is the first description of a class 1 integron with two *bla*<sub>VIM</sub> variants. It may be hypothesized that the presence of two *bla*<sub>VIM</sub> genes in a single integron might enable better plasticity in the case of rearrangements of the cassette network under selective pressure caused, for instance, by antibiotics.

Mating experiments were performed on agar plates, as previously described (6), at 25°C and 37°C using the rifampin-resistant *E. coli* J53 strain as the recipient, with a donor-to-recipient ratio of 4:1. Transconjugants were selected on Drigalski agar (Bio-Rad) containing 250 mg/liter rifampin and 4 mg/liter cefotaxime. A transconjugant that coharbored the *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes was obtained from the *V. cholerae* isolate at 25°C, with a transfer frequency of  $3 \times 10^{-6}$  transconjugants per recipient. PCR mapping showed that the genetic structure that harbored both *bla*<sub>VIM</sub> genes was the same in the parental and recipient strains. No transfer was obtained at 37°C, despite repeated attempts. The plasmid relaxase gene typing (PRaseT) method, which allows detection of the major replicon groups, and a PCR-based replicon typing method revealed the presence of an IncA/C plasmid in the parental and recipient strains (17, 18). Conversely, the SXT integrative and conjugative element, which is a major resistance determinant in *V. cholerae* (1), was detected in only the parental strain by PRaseT. No other typeable mobile genetic element was found. Plasmid content analysis using the method of Kado and Liu (19)

TABLE 2 Primers used for PCR mapping of the cassette network

Primer name	Primer sequence (5' to 3')
VIM-L1	TCATTGTCCGTGATGGTGATGA
VIM-L2	CCGGGCGGTCTAGACTTGCT
VIM-R1	CGATATGCGACCAAACACCATC
VIM-R2	GCCATTACGCCAGATCG
attI1	GGCATCCAAGCAGCAAGCGCGTT
sul1	GTCCGACATCCACGACGTCTGATC

revealed only one plasmid of ~150 kb in both the parental and recipient strains (see Fig. S1 in the supplemental material). These results suggest that the *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes were carried by the broad-host-range IncA/C transmissible plasmid, a widespread *bla*<sub>VIM</sub>-carrying genetic element (20) and a common resistance determinant in *V. cholerae* (21).

Although nonepidemic, non-O1/non-O139 *V. cholerae* isolates are human pathogens that may cause diarrhea and extraintestinal infections (21). Fluid resuscitation remains the first-line therapy, but the use of antibiotics allows decreased symptom duration and pathogen dissemination. This is, to our knowledge, the first description of a non-O1/non-O139 *V. cholerae* isolate harboring *bla*<sub>VIM</sub> carbapenemase genes worldwide and the first description of a carbapenemase-producing *V. cholerae* in Western countries.

Here, its identification in an animal microbiota brings new insights into the presence of such strains in wildlife ecosystems. Walsh et al. (6) previously described NDM-1-carrying *V. cholerae* in seepage and tap water samples collected in New Delhi, India, emphasizing the transfer frequency of this metalloenzyme in various recipient species at environmentally relevant temperatures. In their study, conjugative transfer of IncA/C plasmids harboring *bla*<sub>NDM-1</sub> in *V. cholerae* did not happen at 37°C, and average transfer frequencies of  $10^{-6}$  and  $10^{-4}$  were observed at 25°C and 30°C, respectively. Similarly, our study found that the plasmid could transfer at 25°C with comparable frequencies, whereas conjugation attempts at 37°C were unsuccessful. This suggests that optimal transfer conditions would mainly occur in the environment rather than in the gut. The presence of metalloenzymes on different genetic locations (IncA/C and nontypeable plasmids [4, 6], chromosome [5, 6]) in *V. cholerae* is of concern because it indicates that they can spread easily on various mobile genetic elements.

Yellow-legged gulls inhabit mostly coastal regions across the Mediterranean, where they breed in dense colonies. As they can fly long distances across the European and northern African borders, especially during their first year of life, they could play a role in the dissemination of *bla*<sub>VIM</sub>-harboring *V. cholerae*. Based on the feeding habits of yellow-legged gulls (they mainly rely on anthropogenic resources) and their microbiota diversity (including *E. coli*), it is reasonable to think that they are an important zoonotic reservoir of multidrug-resistant organisms, including *bla*<sub>VIM</sub>-carrying bacteria. This is consistent with reports highlighting the increasing prevalence of carbapenemase-producing microorganisms in wildlife microbiota (22). Moreover, their direct exposure to human activities might play a role in the spread of antibiotic resistance, as previously illustrated by ESBL-positive *E. coli* isolates with similar genetic background recovered among gulls and humans in several countries, including southern France (23). Further studies are

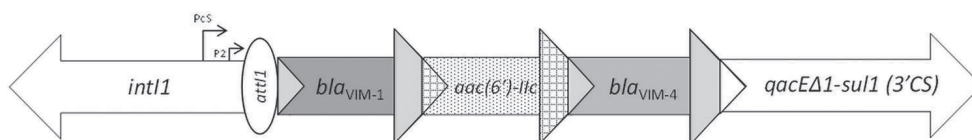


FIG 1 Linear map of the class 1 integron harboring both *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes. Arrows, relative gene size and direction of transcription; black arrows, gene cassette promoters PcS and P2.

needed to assess the prevalence of carbapenemase genes and their genetic background in wildlife microbiota.

**Nucleotide sequence accession number.** The sequence of the class 1 integron harboring both *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-4</sub> genes has been submitted to GenBank under accession number [KR262557](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KR262557).

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank Elisabetta Andermarcher for assistance in preparing and editing the manuscript, Margaux Gaschet for technical assistance in sequencing the integron, and the municipality of Port-Saint-Louis for allowing us to access the gull colony and collect samples.

This study was supported by the University Teaching Hospital of Montpellier (CHU Montpellier, “Equipe Performante Recherche” contract).

N.B. is the recipient of CHU grants included in this contract.

#### REFERENCES

- Kitaoka M, Miyata ST, Unterweger D, Pukatzki S. 2011. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. *J Med Microbiol* 60:397–407. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.023051-0>.
- Ismail H, Smith AM, Tau NP, Sooka A, Keddy KH. 2013. Cholera outbreak in South Africa, 2008–2009: laboratory analysis of *Vibrio cholerae* O1 strains. *J Infect Dis* 208:S39–S45. <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jit200>.
- Petroni A, Corso A, Melano R, Cacace ML, Bru AM, Rossi A, Galas M. 2002. Plasmidic extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina. *Antimicrob Agents Chemother* 46:1462–1468. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.46.5.1462-1468.2002>.
- Mandal J, Sangeetha V, Ganesan V, Parveen M, Preethi V, Harish BN, Srinivasan S, Parija SC. 2012. Third-generation cephalosporin-resistant *Vibrio cholerae*, India. *Emerg Infect Dis* 18:1326–1328. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1808.111686>.
- Darley E, Weeks J, Jones L, Daniels V, Wootton M, MacGowan A, Walsh T. 2012. NDM-1 polymicrobial infections including *Vibrio cholerae*. *Lancet* 380:1358. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60911-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60911-8).
- Walsh TR, Weeks J, Livermore DM, Toleman MA. 2011. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis* 11:355–362. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70059-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70059-7).
- Aberkane S, Compain F, Decré D, Laurens C, Vittecoq M, Gauthier-Clerc M, Renaud F, Pantel A, Brieu N, Arlet G, Lavigne JP, Van De Perre P, Jean-Pierre H, Godreuil S. 2015. Persistence of AmpC-producing *Proteus mirabilis* strains carrying the *bla*<sub>CMY-2</sub> gene on the SXT/R391-like integrative and conjugative element in two populations of gulls, South of France. abstr O068. Abstr 25th Eur Congr Clin Microbiol Infect Dis.
- Hoshino K, Yamasaki S, Mukhopadhyay AK, Chakraborty S, Basu A, Bhattacharya SK, Nair GB, Shimada T, Takeda Y. 1998. Development and evaluation of a multiplex PCR assay for rapid detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 and O139. *FEMS Immunol Med Microbiol* 20:201–207. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-695X.1998.tb01128.x>.
- Keasler SP, Hall RH. 1993. Detecting and biotyping *Vibrio cholerae* O1 with multiplex polymerase chain reaction. *Lancet* 341:1661. [http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)90792-F](http://dx.doi.org/10.1016/0140-6736(93)90792-F).
- Matuschek E, Brown DFJ, Kahlmeter G. 2014. Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 20:O255–O266. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12373>.
- Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. 1988. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 10:867–878. <http://dx.doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>.
- Birgy A, Bidet P, Genel N, Doit C, Decré D, Arlet G, Bingen E. 2012. Phenotypic screening of carbapenemases and associated  $\beta$ -lactamases in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 50:1295–1302. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.06131-11>.
- Dallenne C, Da Costa A, Decré D, Favier C, Arlet G. 2010. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 65:490–495. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkp498>.
- Hornsey M, Phee L, Wareham DW. 2011. A novel variant, NDM-5, of the New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase in a multidrug-resistant *Escherichia coli* ST648 isolate recovered from a patient in the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother* 55:5952–5954. <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.05108-11>.
- Jová T, Da Re S, Denis F, Mazel D, Ploy M-C. 2010. Inverse correlation between promoter strength and excision activity in class 1 integrons. *PLoS Genet* 6:e1000793. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1000793>.
- Galani I, Souli M, Chryssouli Z, Orlandou K, Giamarellou H. 2005. Characterization of a new integron containing *bla*(VIM-1) and *aac*(6)-IIC in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate from Greece. *J Antimicrob Chemother* 55:634–638. <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dki073>.
- Compain F, Poisson A, Le Hello S, Branger C, Weill F-X, Arlet G, Decré D. 2014. Targeting relaxase genes for classification of the predominant plasmids in *Enterobacteriaceae*. *Int J Med Microbiol* 304:236–242. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.09.009>.
- Carattoli A, Bertini A, Villa L, Falbo V, Hopkins KL, Threlfall EJ. 2005. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods* 63:219–228. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2005.03.018>.
- Kado CI, Liu ST. 1981. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J Bacteriol* 145:1365–1373.
- Peirano G, Lascols C, Hackel M, Hoban DJ, Pitout JDD. 2014. Molecular epidemiology of *Enterobacteriaceae* that produce VIMs and IMPs from the SMART surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 78:277–281. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.11.024>.
- Kaper JB, Morris JG, Levine MM. 1995. Cholera. *Clin Microbiol Rev* 8:48–86.
- Guerra B, Fischer J, Helmuth R. 2014. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Vet Microbiol* 171:290–297. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.001>.
- Bonnedahl J, Drobni M, Gauthier-Clerc M, Hernandez J, Granholm S, Kayser Y, Melhus A, Kahlmeter G, Waldenström J, Johansson A, Olsen B. 2009. Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M type ESBL between humans and yellow-legged gulls in the south of France. *PLoS One* 4:e5958. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0005958>.

## Aspects épidémiologiques, microbiologiques et évolutifs des bactériémies de l'enfant au Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle (Burkina Faso)

Abdoul-Salam Ouédraogo<sup>1</sup>  
Aimée Dakouré-Kissou<sup>2</sup>  
Gandaaza Euthyme Armel Poda<sup>3</sup>  
Fla Koueta<sup>4</sup>  
Diarra Yé-Ouattara<sup>4</sup>  
Rasmata Ouédraogo-Traoré<sup>5</sup>

<sup>1</sup> CHU Souro Sanou  
Département des laboratoires  
Bobo-Dioulasso  
Burkina Faso  
<abdousal2000@yahoo.fr>

<sup>2</sup> CHU Souro Sanou  
Département de pédiatrie  
Bobo-Dioulasso  
Burkina Faso  
<aimekissou@yahoo.fr>

<sup>3</sup> CHU Souro Sanou  
Service des maladies infectieuses  
Bobo-Dioulasso  
Burkina Faso  
<armelpoda@yahoo.fr>

<sup>4</sup> CHU pédiatrique Charles de Gaulle  
Département de pédiatrie  
Ouagadougou  
Burkina Faso  
<kouetafla@yahoo.com>  
<vediara@hotmail.com>

<sup>5</sup> CHU pédiatrique Charles de Gaulle  
Département des laboratoires  
Ouagadougou  
Burkina Faso  
<ramaouedtra@yahoo.fr>

### Résumé

L'objectif de notre travail était de décrire les caractéristiques épidémiologiques, microbiologiques et évolutives des bactériémies de l'enfant au centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle (CHU P-CDG) de Ouagadougou pour mieux guider l'antibiothérapie probabiliste dans ce type d'infection. Nous avons mené une étude descriptive rétrospective sur une période de sept ans, qui a concerné tous les enfants de 0 à 15 ans vus dans les différentes unités de soins du CHU P-CDG pour qui une demande d'hémoculture a été adressée au laboratoire. Sur 842 demandes d'hémocultures adressées au laboratoire de bactériologie, 154, soit 18,30 %, étaient positives. Sur les 81 dossiers retrouvés et exploités, la répartition selon l'âge a montré une fréquence plus élevée des bactériémies dans la tranche d'âge de 6-15 ans regroupant 61,7 % des cas. L'identification microbienne a retrouvé *Salmonella enterica* (sérotypes paratyphi et typhi) comme espèce prédominante (58 %) suivi de *Staphylococcus aureus* (12,3 %). Les isolats de salmonelles ont présenté des proportions très élevées de résistance à l'amoxicilline, au chloramphénicol et au cotrimoxazole. Les staphylocoques ont été constamment sensibles aux antibiotiques, pour lesquels ils ont été testés mais plus faiblement avec la pénicilline G. L'antibiothérapie a été systématique chez tous nos patients, qui ont eu, pour la grande majorité, une évolution favorable : 81,5 % de guérison. Cette étude montre que l'épidémiologie microbienne des bactériémies est dominée, dans notre environnement, par les espèces du genre *Salmonella*. L'évolution de la résistance aux antibiotiques montre que certaines prescriptions courantes, comme l'ampicilline et le cotrimoxazole, n'ont plus de place dans l'antibiothérapie probabiliste dans notre contexte. Elles devraient de ce fait être abandonnées et remplacées par des céphalosporines de troisième génération, seules ou en association avec des aminosides.

**Mots clés :** bactériémie ; Burkina Faso ; enfant.

### Abstract

**Epidemiology, microbiology, and outcomes of septicemia in children treated at the Charles de Gaulle University Pediatric Hospital in Burkina Faso**

The aim of this study is to describe the epidemiological and microbiological characteristics and outcome of children with septicemia at the Charles de Gaulle University Pediatric Hospital of Ouagadougou to help improve probabilistic antibiotic therapy in this type of infection. This retrospective descriptive study covered all the children from 0 to 15 years old seen over a period of 7 years in any hospital department with suspected bacteremia and for whom the bacteriology laboratory performed a blood culture. During the study period, the laboratory received 842 requests for blood cultures and found 154 (18.3%) of them to be positive. Files for 81 of the 154 patients could be found and examined. The distribution according to age showed septicemia was most frequent among those aged 6-15 years (61.7% of the cases). Microbial identification showed the dominant species to be

Pour citer cet article : Ouédraogo AS, Dakouré-Kissou A, Poda GEA, Koueta F, Yé-Ouattara D, Ouédraogo-Traoré R. Aspects épidémiologiques, microbiologiques et évolutifs des bactériémies de l'enfant au Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle (Burkina Faso). *Sante* 2011 ; 21 : 221-5. doi : 10.1684/san.2011.0273

Tirés à part : A.-S. Ouédraogo

*Salmonella enterica* (serovars paratyphi and typhi) (58%) followed by *Staphylococcus aureus* (12.3%). The salmonella isolates had a high rate of resistance to amoxicillin, chloramphenicol and cotrimoxazole. Staphylococci were always sensitive to the antibiotics with which they were tested, although to a lesser extent for penicillin G. All patients routinely received antibiotic treatment, and 81.5% ( $n=66$ ) were cured (5 children died and 10 left the hospital against medical advice). This study shows that the bacterial epidemiology of septicemia in our setting is dominated by salmonella. Trends in bacterial resistance to antibiotics showed that common antibiotics such as amoxicillin and cotrimoxazole are no longer acceptable as probabilist therapy here. They should be replaced in this type of infection by injectable third generation cephalosporin alone or combined with aminoglycosides.

**Key words:** bacteriemia; Burkina Faso; child.

Les bactériémies constituent en milieu tropical l'une des étiologies les plus fréquentes de fièvres au long cours en particulier chez l'enfant. Elles se définissent par des décharges importantes et répétées dans le sang de germes pathogènes, provenant d'un foyer initial et pouvant créer des foyers secondaires multiples plus ou moins apparents [1]. L'enfant, du fait de l'immaturation et de la fragilité de son système immunitaire, est au centre de cette pathologie [2].

Dans les pays développés, les caractéristiques épidémiologiques des bactériémies sont bien connues grâce à un suivi régulier ; dans les pays à ressources limitées par contre, elles le sont moins et représentent alors, un des soucis quotidiens de la pratique pédiatrique.

Ces bactériémies posent un problème majeur de prise en charge. Il faut en effet trouver un compromis entre l'urgence du traitement et la difficulté à poser un diagnostic précis dans de brefs délais. Les signes cliniques d'appel et les marqueurs biochimiques tels que la C-Reactive Protein (CRP) manquent de spécificité. Par ailleurs, la culture bactériologique des échantillons de sang pour identifier les microorganismes et établir leur profil de sensibilité aux antibiotiques nécessite en moyenne sept jours. Le traitement initial se doit donc d'être probabiliste dans l'attente d'une orientation des premiers résultats du laboratoire. Il peut se passer plusieurs jours pendant lesquels le traitement restera inadapté. La durée de cette inadaptation joue un rôle péjoratif sur le pronostic [3, 4]. Dans ce contexte, il est important pour le clinicien de connaître les espèces bactériennes

les plus fréquemment rencontrées au cours des bactériémies et l'état de leur sensibilité aux principaux antibiotiques afin d'initier une antibiothérapie probabiliste prompt et efficace. Ce travail avait pour objectifs de décrire les caractéristiques épidémiologiques, microbiologiques et évolutives des bactériémies de l'enfant au Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle (CHU P-CDG) de Ouagadougou.

## Matériel et méthode

L'étude a été menée au CHU P-CDG de Ouagadougou. Cet hôpital à vocation universitaire, de troisième niveau de référence nationale, est fonctionnel depuis avril 2001.

Nous avons mené une étude rétrospective à visée descriptive sur une période de sept ans, allant du 1<sup>er</sup> juin 2001 au 30 juin 2008. Elle a concerné tous les enfants de 0 à 15 ans vus dans les différentes unités de soins du CHU P-CDG et lesquels une demande d'hémoculture a été adressée au laboratoire. Les circonstances cliniques de prescription de l'hémoculture étaient entre autres : la fièvre sans une lésion localisée avec une recherche négative de plasmodium, la présence des facteurs de risques comme la malnutrition sévère, la léthargie, la distension abdominale et la tachycardie.

Chez chaque patient, un prélèvement aseptique de 2,5 à 5 mL de sang était directementensemencé dans deux ballons d'hémoculture (adaptés à la culture aérobie et anaérobie) et trans-

mis au laboratoire dans les 30 minutes qui suivaient.

Au laboratoire, les ballons ont été incubés à l'étuve à 37 °C puis contrôlés quotidiennement. Les ballons suspects étaient ceux qui ont révélé, lors d'un contrôle, la présence de trouble, de voile, d'hémolyse ou de dépôts. Ces ballons suspects ont été ensuite soumis à une analyse bactériologique qui a comporté un examen microscopique, un isolement sur milieu de culture classique, une identification suivie d'un antibiogramme. Les autres ballons de culture ont fait l'objet d'un test de stérilité à j5 en prenant le jour de réception du ballon comme j0. Ce test a consisté à ensemercer, à partir du contenu du ballon, une gélose au sang cuit en tube (ensemencement par inondation et incubation sous CO<sub>2</sub>) et au bouillon thiogluconate. Les cultures positives ont fait l'objet d'analyse bactériologique comme décrit ci-dessus. Les ballons stériles ont été réincubés. L'hémoculture est déclarée négative après deux contrôles de stérilité. Pour des recherches de bactéries à croissance lente, l'incubation peut être prolongée trois semaines.

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion en gélose selon les recommandations du comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM). Les antibiotiques étudiés, par espèce ou groupe bactérien, étaient choisis parmi ceux couramment à disposition rencontrés dans notre pratique.

## Résultats

Pendant la période de l'étude, 38 328 patients ont été hospitalisés

**Tableau 1. Distribution des germes identifiés selon l'âge des patients au cours des bactériémies de l'enfant au Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou.**

Table 1. Distribution of bacteria identified according to age of patients.

Germes	Tranche d'âge			Total
	1 an	[1-5 ans]	[6-15 ans]	
<b>Bacilles Gram négatif</b>				
<i>Salmonella paratyphi</i>	5	8	15	28
<i>Salmonella typhi</i>	1	5	13	19
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	3	3	6
<i>Escherichia coli</i>	-	2	2	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	2	2
<i>Proteus mirabilis</i>	-	1	-	1
<i>Pseudomonas sp.</i>	2	1	2	5
<b>Cocci Gram positif</b>				
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3	6	10
<i>Streptococcus sp.</i>	2	2	2	6
<b>Total</b>	<b>11</b>	<b>25</b>	<b>45</b>	<b>81</b>

au CHU P-CDG et 842 demandes d'hémocultures adressées au laboratoire de bactériologie. L'analyse des 842 prélèvements a donné 154, soit 18,3 % de cultures positives. Sur les 154 cultures positives, 81 dossiers ont été retrouvés et exploités. La

répartition selon l'âge a montré une fréquence plus élevée des bactériémies dans la tranche d'âge de 6-15 ans avec 61,7 % des cas colligés (tableau 1). Une dizaine de microorganismes ont été identifiés. Les entérobactéries représentaient 74 % des cas, les cocci

Gram positif 20 % et les bacilles Gram négatifs non fermentaires 6 %. *Salmonella enterica* (sérovars paratyphi et typhi) a été l'espèce prédominante (58 %) suivi de *Staphylococcus aureus* (12,3 %). Le tableau 2 montre la sensibilité des trois principaux germes isolés : les isolats de salmonelles ont été très sensibles à la ceftriaxone dans 95 % des cas sans que nous puissions préciser les mécanismes de résistance pour les 5 % restants et à 100 % dans le cas de la gentamicine. Les streptocoques ont été plus sensibles à l'amoxicilline (81,8 %) et à la ceftriaxone (100 %). Quant aux staphylocoques, deux isolats ont été résistants à l'oxacilline et la sensibilité a été conservée pour la gentamicine et l'érythromycine (tableau 2).

Sur le plan du traitement probabiliste, tous nos patients ont été sous antibiothérapie ; les schémas thérapeutiques allaient de la monothérapie à la trithérapie en utilisant plus de dix antibiotiques différents. Les plus fréquemment prescrits étaient la ceftriaxone (57 fois, 70 %) suivie de l'ampicilline (51 fois, 63 %), de la gentamicine (40 fois 49 %) et de l'association amoxicilline-acide clavulanique (26 fois, 32 %). Les résultats de l'antibiogramme ont montré une inadéquation de l'antibiothérapie probabiliste dans le cas de certaines prescriptions ; ainsi l'ampicilline et le cotrimoxazole étaient inefficaces respectivement dans 83 et 71 % des cas. Les antibiotiques les plus adaptés aux

**Tableau 2. Sensibilité des principaux germes isolés au cours des bactériémies de l'enfant au Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle de Ouagadougou.**

Table 2. Antibiotic sensitivity of the principal bacteria isolated from children with bacteremia at the Charles De Gaulle Pediatric Hospital.

Microorganismes	Pourcentage de sensibilité des antibiotiques utilisés											
	PG	AX	AC	CD	CZ	GM	CX	CL	CP	IM	OX	ER
Salmonelles	-	46,1 (47)	84,6 (45)	91,9 (47)	95,3 (47)	100 (47)	32,2 (47)	43 (47)	90,6 (47)	88 (47)	-	-
Streptocoques	36,3 (06)	81,8 (06)	-	-	100 (06)	-	54,5 (06)	72,7 (06)	-	-	76,1 (06)	54,5 (06)
Staphylocoques	40 (10)	-	-	-	-	100 (10)	70,5 (10)	90,3 (10)	-	-	91,4 (10)	100 (09)

\* Nombre entre parenthèse : nombre d'isolats testés.

AX : amoxicilline ; AC : amoxicilline + acide clavulanique ; CD : céfadroxil ; PG : pénicilline G ; CZ : ceftriaxone ; GM : gentamicine ; CX : cotrimoxazole ; CL : chloramphénicol ; CP : ciprofloxacine ; IM : imipénème ; OX : oxacilline ; ER : érythromycine.



résultats du laboratoire étaient la ceftriaxone et la gentamicine, respectivement avec 86 et 100 % de sensibilité. Au cours de notre étude, nous avons enregistré 66 guérisons, soit 81,5 % des cas, une létalité de 6,5 % et 10 patients étaient sortis contre avis médical (12 %). L'analyse de l'évolution nous a permis de noter une proportion de guérison plus élevée chez les enfants de plus de 5 ans ( $p = 0,026$ ). Les cas de décès étaient davantage liés aux bactériémies à *Salmonella paratyphi* ( $p = 0,039$ ).

## Discussion

Nous rapportons, dans cette étude, les caractéristiques des bactériémies au CHU P-CDG de Ouagadougou. Sur 842 hémocultures traitées pendant la période de l'étude, 154, soit 18,3 %, ont été positives. Ce rendement bactériologique, s'il est comparable à celui retrouvé par Bahwere *et al.* [5], reste faible par rapport aux 48,9 % obtenus par Meremikwu *et al.* [6] en 2005 au Nigéria. La proportion élevée de cultures stériles semble être liée à l'expérience du laboratoire et surtout à la qualité du prélèvement, qui dans le cas d'une hémoculture doit être réalisé au moment des pics thermiques, période de décharge des bactéries dans le sang. Dans notre contexte, le traitement antipalustre systématique est un facteur qui pourrait influencer les résultats de l'hémoculture. En effet, le traitement systématique instauré chez tout malade fébrile relègue au second plan le diagnostic de fièvre typhoïde ou paratyphoïde, qui n'est suspecté que secondairement après l'échec du traitement contre le paludisme. Or, à cette étape de l'évolution des fièvres typho-paratyphoïdiques, les probabilités d'hémocultures positives sont très faibles.

Dans notre série, nous retrouvons un pourcentage élevé d'hémocultures positives chez les grands enfants avec une prédominance des salmonelles suivies des cocci Gram positif. Chez nombre d'auteurs, les salmonelles sont les premières causes de bactériémie en pédiatrie dans les pays en développement [7, 8]. Cependant, Meremikwu *et al.* [6] avaient observé une prédominance de staphylocoque. Cette différence dans la distribution

des germes est en rapport avec l'âge de la population étudiée. Mtove *et al.*, en Tanzanie [9], qui se sont intéressés aux salmonelloses chez les enfants, ont montré que les nourrissons sont peu atteints contrairement aux grands enfants. Cette différence proviendrait d'une meilleure résistance à l'endotoxine, secondaire à la participation moins importante des plaques de Peyer, contrairement aux cas des sujets âgés [10].

Quand aux cocci Gram positif, leur rôle dans les bactériémies de l'enfant a été également noté dans plusieurs études. Dans la série de Viallon *et al.* à Saint-Étienne en 2007 [11], les streptocoques et les staphylocoques ont représenté respectivement 35 et 14 %. Des fréquences similaires ont été également obtenues par Mallat *et al.* [12] à Paris en 2004. La présence de ces cocci Gram positif pourrait être en rapport avec l'origine nosocomiale des bactériémies dont la porte d'entrée est souvent pulmonaire, cardiaque ou urinaire chez les malades ventilés, porteur de valves ou de sondes urinaires. La fréquence plus élevée de l'un ou l'autre genre bactérien est liée à l'écologie bactérienne de chaque hôpital.

Les données sur la sensibilité aux antibiotiques ont montré que les souches de salmonelle présentaient une très bonne sensibilité à la ceftriaxone et à la gentamicine, respectivement 95,3 et 100 %. Les mêmes proportions élevées ont été obtenues par Bertrand *et al.* [13] dans une étude multicentrique d'évaluation des antibiotiques dans l'infection bactérienne sévère en pédiatrie. En revanche, les antibiotiques comme l'amoxicilline, le chloramphénicol et le cotrimoxazole ont montré une faible activité face aux salmonelles. Tel a été également le constat de Bonfiglio *et al.* [14] au Burkina Faso en 2003 et plus récemment en 2008 au Togo [8]. Cette multirésistance des salmonelles aux antibiotiques sus-cités semble être la conséquence de leur utilisation abusive et inappropriée en ambulatoire comme en milieu hospitalier. À titre d'exemple, le cotrimoxazole a été longtemps considéré comme le médicament de choix dans le traitement empirique de nombreuses infections en absence de tout test de sensibilité [15].

Concernant les cocci Gram positif, ils ont été, pour la majorité, sensibles aux

antibiotiques habituellement prescrits. Les rares isolats de staphylocoques résistants à l'oxacilline sont plus souvent en rapport avec une infection d'origine hospitalière.

Tous les patients qui ont été prélevés pour une hémoculture ont reçu une antibiothérapie probabiliste. Même si certaines prescriptions étaient inadap- tées, l'antibiothérapie probabiliste pourrait bien expliquer la faible létalité dans notre série (6,17 %) comparé aux 26 % de létalité retrouvée dans la série de Berkley *et al.* [16].

## Conclusion

L'épidémiologie microbiologique des bactériémies de l'enfant est dominée dans notre contexte par les bacilles Gram négatif (dominés par les salmonelles) et les cocci Gram positif. Les données sur la sensibilité aux antibiotiques de ces germes montrent que les antibiotiques, tels l'amoxicilline, le chloramphénicol et le cotrimoxazole, n'ont probablement plus leur place pour traiter ces tableaux infectieux de l'enfant. De ce fait, ils devraient être abandonnés dans cette indication et remplacés par des molécules de la classe des céphalosporines de troisième génération, seules ou en association avec un aminoside.

Nos résultats mettent en évidence le rôle important du laboratoire dans le diagnostic et l'aide à la prise en charge de ces infections graves. ■

### Remerciements et autres mentions

Les auteurs remercient le personnel du laboratoire de l'Unité de bactériologie du CHU Charles de Gaulle. **Financement** : aucun ; **conflits d'intérêts** : aucun.

### Références

1. Delamare J, Garnier M. *Dictionnaire illustrée des termes de médecine 30<sup>e</sup> édition*. Paris : Maloine, 2009.
2. Hill PC, Onyem CO, Ikumapayim UNA, *et al.* Bacteraemia in patients admitted to an urban hospital in West Africa. *BMS Infect Dis* 2007 ; 7 : 2-10.
3. Montravers P, Lumbroso A, Cargeac A. Antibiothérapie probabiliste : rationnel et impact sur le pronostic vital. *Ann Fr Anesth Reanim* 2004 ; 23 : 610-4.

4. Berkley J, Lowe B. Les bactériémies, cause importante de décès d'enfants en Afrique. *Rev Fr Lab* 2005 ; 371 : 16-7.
5. Bahwere P, Levy J, Hennart P. Community-acquired bacteremia among hospitalized children in rural central Africa. *Int J Infect Dis* 2001 ; 5 : 180-8.
6. Meremikwu MM, Nwachukwu CE, Asusuo AE, et al. Bacterial isolates from blood cultures of children with suspected septicaemia in Calabar, Nigeria. *BMS Infect Dis* 2005 ; 5 : 110-4.
7. Elouennass M, Sahoun I, Zara A, et al. Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémocultures dans un service de réanimation (2002-2005). *Med Mal Infect* 2008 ; 38 : 18-24.
8. Gbadoé AD, Lawson K, Dagnra AY, et al. Les salmonelloses chez l'enfant au CHU Tokoin de Lomé au Togo. *Med Mal Infect* 2008 ; 38 : 8-11.
9. Mtove G, Amos B, Seidlein L, et al. Invasive salmonellosis among children admitted to a rural Tanzanian hospital and a comparison with previous studies. *PLoS One* 2010 ; 5 : 2-10.
10. Bryce J, Lambrechts T. Santé de l'enfant dans les pays en développement. *Arch Pédiatr* 2001 ; 8 : 369-71.
11. Viallon A, Marjollet O, Leveques Y, et al. Antibiothérapie chez des patients admis aux urgences : analyse de sa pertinence. *J Eur Urg* 2007 ; 20 : 70-6. (15).
12. Mallat H, Grohs P, Levy A, Mainardi JP. Étude rétrospective des bactériémies diagnostiquées aux urgences : fréquence, sensibilité des microorganismes et intérêt dans la prise en charge thérapeutique. *Med Mal Infect* 2004 ; 34 : 310-5.
13. Bertrand X, Costa Y, Pina P. Surveillance de la résistance aux ATB dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998-2003. *Med Mal Infect* 2005 ; 35 : 329-34.
14. Bonfiglio G, Simporé J, Pignatelli S, Musumeci S. Antibiotic resistance in Burkina Faso. *New Microbiol* 2003 ; 26 : 263-8.
15. Rioux C, Papy E, Bouvet E, Lucet JC. Évaluation de la qualité de la prescription des antibiotiques dans les infections communautaires. *Med Mal Infect* 2008 ; 38 : 142-4.
16. Berkley JA, Lowe BS, Phil M, et al. Bacteremia among children admitted to a rural hospital in Kenya. *N Engl J Med* 2005 ; 352 : 39-47.

# Profil bactériologique des infections du site opératoire au centre hospitalier universitaire Sourou Sanou de Bobo Dioulasso

Ouédraogo A-S<sup>1</sup>, Somé DA<sup>2</sup>, Dakouré PWH<sup>3</sup>, Sanon BG<sup>3</sup>, Birba E<sup>4</sup>, Poda GEA<sup>4</sup>, Kambou T<sup>3</sup>

1. Laboratoire de Bactériologie-virologie

2. Département de Gynécologie-obstétrique

3. Département de Chirurgie<sup>4</sup> Département de Médecine

CHU Sourou Sanou, Bobo Dioulasso, Burkina Faso

*Med Trop* 2011 ; 71 : 00

**RÉSUMÉ** • *Objectifs*. Décrire l'épidémiologie bactérienne des infections du site opératoire (ISO) et leur profil de sensibilité, pour une optimisation de l'antibiothérapie probabiliste. *Matériels et méthodes*. Etude rétrospective transversale menée sur 6 mois au service du laboratoire du CHU de Bobo-Dioulasso du 1er novembre 2006 au 30 avril 2007. Tous les prélèvements positifs de pus réalisés pour le diagnostic étiologique d'infection du site opératoire (ISO) ont été inclus. *Résultats*. Nous avons colligé 159 cas d'ISO sur 681 patients opérés et hospitalisés soit un taux d'incidence de 23,35 %. Au total, 112 patients ont bénéficié d'un prélèvement en vue d'un diagnostic étiologique. L'analyse des 112 prélèvements a donné lieu à l'identification de 103 souches bactériennes. Les entérobactéries représentaient 54,0 %, les cocci à Gram positif 29,0 % et les bacilles à Gram négatifs non fermentaires 16,5 %. *Escherichia coli* était l'espèce prédominante dans notre série (30,0 %) suivie de *Staphylococcus aureus* (16,5 %) et *Pseudomonas aeruginosa* (12,0 %). La résistance des isolats d'entérobactéries était de 71 % pour l'amoxicilline, 64 % pour l'association amoxicilline-acide clavulanique et 15 % pour les céphalosporines de troisième génération. *S. aureus* était sensible à la méthicilline à 85 %. La résistance des bacilles à Gram-négatif non fermentaires était de 68,8 % pour les carboxypénicillines et 56,0 % pour les fluoroquinolones. *Conclusion*. Nos résultats suggèrent la possibilité de traiter les ISO par l'association C3G-aminosides avec un relais oral par les fluoroquinolones.

**MOTS-CLÉS** • Infections du site opératoire. Profil bactériologique. Résistance Burkina Faso.

## BACTERIAL PROFILE OF SURGICAL SITE INFECTIONS AT SOURO SANOU NATIONAL HOSPITAL CENTER IN BOBO DIOULASSO, BURKINA FASO

**ABSTRACT** • *Objective*. The purpose of this study was to evaluate the bacterial profile and antimicrobial susceptibility of surgical site infection (SSI) as a basis for optimizing probabilistic antibiotherapy. *Materials and methods*. A 6-month transversal retrospective study was carried out at the Sourou Sano Hospital Laboratory from November 1st, 2006 to April 30th, 2007. All positive pus samples collected for etiologic diagnosis of SSI were included. *Results*. In a series of 681 patients who underwent surgery at the hospital, SSI was observed in 159 cases for an incidence of 23.4%. Pus samples for etiologic diagnosis were collected from 112 patients and led to identification of 103 bacterial strains. The most common strains were enterobacteriaceae in 54.0%, gram-positive cocci in 29.0% and non-fermenting Gram-negative bacilli in 16.5 %. *Escherichia coli* was the most common species (30%) followed by *Staphylococcus aureus* (16.5%) and *Pseudomonas aeruginosa* (12.0%). Enterobacteriaceae resistance rates were 71% to amoxicillin, 64 % to clavulanic acid-amoxicillin and 15% to third generation cephalosporin. Most *S. aureus* isolates (85%) were sensitive to methicillin. Non-fermenting Gram-negative bacilli resistance rates were 68.5% to carboxypenicillin and 56% to fluoroquinolones. *Conclusion*. These findings indicate that SSI can be treated using third generation cephalosporin-aminosides in combination with oral fluoroquinolones.

**KEY WORDS** • Bacterial profile. Resistance. Surgical site infection. Burkina Faso.

En dépit des progrès réalisés dans le domaine chirurgical (amélioration des techniques, meilleure compréhension de la pathogénèse des infections, optimisation de l'antibioprophylaxie.), les infections du site opératoire (ISO) continuent d'être une cause majeure de morbidité et de mortalité postopératoires. On estime aux Etats-Unis d'Amérique que de telles infections affectent moins de 2% de tous les patients opérés (1). En France elles représentent 10,2% de toutes les infections nosocomiales et occupent le troisième rang après les infections urinaires, les infections cutanées et des tissus mous (2).

En Afrique, le taux de suppurations post-opératoires reste élevé (entre 19 et 38,7 %) avec pour corollaires, une augmentation de la durée d'hospitalisation, du coût des soins et de la charge de travail pour les personnels des établissements de santé (3, 4).

Ces infections posent un problème majeur de prise en charge : en effet, si le diagnostic clinique est aisé, le traitement est plus difficile, faisant appel à des molécules onéreuses et non dénuées d'effets secondaires. Dans les pays en développement, le traitement est le plus souvent basé sur une antibiothérapie empirique qui sélectionne des mutants résistants conduisant à un échec thérapeutique et une perte de chance de guérison définitive. Ce travail a pour objectif de décrire l'épidémiologie bactérienne des ISO et leur profil de sensibilité au CHU Sourou Sanou, pour une optimisation de l'antibiothérapie probabiliste.

## Matériel et méthodes

Nous avons réalisé une étude rétrospective transversale de type descriptif sur six mois (du 1er novembre 2006 au 30 avril 2007) dans les services d'hospitalisations post opératoires et au laboratoire de bactériologie du CHU Sourou Sanou de Bobo-Dioulasso. Les principales spécialités chirurgicales suivies au cours de notre étude

• Correspondance : abdousal2000@yahoo.fr

• Article reçu le 27/05/2010, définitivement accepté le 20/12/2010

étaient la chirurgie digestive, la chirurgie gynéco- obstétricale, la chirurgie orthopédique et la chirurgie urologique. Ainsi, ont été inclus tous les patients opérés dans un des blocs opératoires correspondants puis hospitalisés pendant au moins 48 heures et qui ont développé une ISO

**Prélèvements**

Pour le diagnostic étiologique des infections suspectées, des échantillons de différentes suppurations ont été prélevés et analysés au laboratoire de bactériologie.

Le pus provenant de zones profondes ont été recueillis soit par aspiration au cours d'un acte chirurgical soit par ponction à travers la peau ou les muqueuses.

En ce qui concerne les pus qui provenaient de zones superficielles, le prélèvement a été fait soit à la seringue sans aiguille soit à l'aide d'écouvillons après nettoyage de la surface de la lésion avec de l'eau physiologique stérile. Aucun milieu de transport n'a été utilisé car les échantillons étaient transmis immédiatement au laboratoire de biologie.

**Diagnostic microbiologique**

Les échantillons ont été traités selon la procédure spécifique des pus. La couleur, la consistance et l'odeur du pus réau dans un récipient ont été déterminées à l'examen macroscopique. Un frottis coloré a permis de noter la présence de bactéries, cellules épithéliales, levures ainsi que la quantité de polynucléaires et lymphocytes.

La mise en culture a été réalisée sur gélose chocolat (GC) +Poly Vitex incubée sous cloche; dans le même temps un enrichissement a été obtenu dans un bouillon cœur- cervelle (BCC). L'identification des microorganismes isolés a été réalisé par les méthodes de bactériologie classique (morphologie et mobilité à l'état frais, coloration de Gram, recherche d'une oxydase, d'une catalase ainsi que les autres caractères biochimiques (pour les entérobactéries) grâce aux galeries biochimiques.

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion en gélose selon les recommandations du comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) (5). Les antibiotiques étudiés par espèce ou groupe bactérien étaient choisis parmi ceux couramment rencontrés dans notre pratique à Bobo. Toutefois, pour des raisons de rupture de stock temporaire, certains isolats n'ont pas été testés avec des antibiotiques pour lesquels ils étaient habituellement étudiés.

**Résultats**

Pendant la période de l'étude, 681 patients ont été opérés et hospitalisés et 159 cas d'ISO ont été enregistrés soit un taux d'incidence de 23,4%. Il s'agissait de 113 hommes (71,1%) et 46 femmes (28,9%) soit un sex-ratio de 2,4. L'âge des patients variait entre 2 mois et 85 ans avec une moyenne de 42,5 ans. Parmi ces patients, 112 ont bénéficié d'un prélèvement en vue d'un diagnostic bactériologique.

L'analyse des 112 prélèvements a donné lieu à 95 cultures positives soit un rendement bactériologique de 84,8%. Il s'agissait de 8 cultures polymicrobiennes à 2 germes et de 87 cultures monomicrobiennes qui ont permis au total l'identification de 103 souches bactériennes

Tableau 1. Germes identifiés dans les Infections du Site Opératoire.

Germes	Effectif	BMR
<b>Cocci Gram + (30)</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	7	
<i>Streptococcus spp</i>	6	
<b>Entérobactéries (56)</b>		
<i>Escherichia coli</i>	31	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	4
<i>Proteus mirabilis</i>	5	
<i>Enterobacter cloacae</i>	6	2
<i>Citrobacter freundii</i>	2	
<i>Providencia stuartii</i>	2	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	
<i>Citrobacter diversus</i>	1	
<i>Serratia liquefaciens</i>	1	1
<b>Bacille Gram – non fermentaires (17)</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5	
Total	103	

BMR : bactéries multirésistantes

**Distribution des espèces bactériennes**

Au total 14 espèces bactériennes ont été identifiées (tableau 1). Les entérobactéries représentaient 54,0%, les cocci à Gram positif 29,0% et les bacilles à Gram négatifs non fermentaires 16,5%. *Escherichia coli* était l'espèce prédominante (30,0%) suivi de *Staphylococcus aureus* (16,5%) et de *Pseudomonas aeruginosa* (12,0%).

**Sensibilité aux antibiotiques**

Dans notre série, tous les isolats de *Staphylococcus aureus* étaient sensibles à la vancomycine, (tableau 2), 13 ont présenté une résistance à la pénicilline G dont deux résistants à la méticilline. Sur les treize streptocoques huit étaient de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines.

Tableau 2. Etat de la résistance aux antibiotiques des bactéries isolées au cours d'infection du site opératoire.

	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeru</i>	<i>K.E.S</i>	<i>Strept</i>	<i>Acineto</i>	<i>Proteus</i>
pénicilline G	13 (17)	-	-	10 (13)	-	-	-
amoxicilline -	19 (31)	-	-	15 (15)	8 (13)	-	3 (5)
amoxi-ac.clav	19 (31)	-	-	13 (15)	-	-	2 (5)
ticarcilline	19 (31)	-	7 (12)	11 (15)	-	4 (5)	2 (5)
oxacilline	-	2 (17)	-	-	8 (13)	-	-
pipéracilline	-	-	5 (12)	-	-	1 (5)	-
céfalotine	19 (31)	-	-	13 (15)	-	-	3 (5)
cefotaxime	0 (31)	2 (17)	-	12 (15)	-	-	0 (5)
céfotaxime	1 (31)	-	-	7 (15)	0 (13)	-	0 (5)
ceftazidime	-	-	2 (12)	-	-	2 (5)	-
kanamycine	-	2 (17)	-	-	-	-	-
gentamicine	13 (31)	2 (17)	3 (12)	6 (15)	5 (13)	3 (5)	3 (5)
amikacine	11 (31)	-	0 (5)	2 (12)	-	3 (5)	-
acide nalidixique	13 (31)	-	5 (12)	3 (9)	-	3 (5)	1 (5)
ciprofloxacine	13 (31)	0 (17)	6 (12)	2 (9)	5 (13)	3 (5)	1 (5)
fosfomycine	6 (31)	0 (17)	-	-	-	-	-
cotrimoxazole	23 (31)	0 (17)	12 (12)	10 (15)	-	5 (5)	2 (5)
tétracycline	-	8 (17)	-	-	10 (13)	-	-
érythromycine	2 (17)	-	-	7 (13)	-	-	-
rifampicine	-	1 (17)	-	-	-	-	-
vancomycine	-	0 (17)	-	-	-	-	-

La résistance des isolats d'entérobactéries était de 71 % pour l'amoxicilline et 64 % pour l'association amoxicilline-acide clavulanique. Le phénotype bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) a été retrouvé chez quatre isolats de *K. pneumoniae*, deux isolats d'*Enterobacter cloacae*, un isolat d'*Escherichia coli* et le seul isolat de *Serratia liquefaciens* soit environ 15 % de l'ensemble des isolats d'entérobactéries. L'ensemble des entérobactéries était globalement sensible aux aminosides et aux fluoroquinolones. Les 15 isolats de *P. aeruginosa* présentaient des taux de résistance de 58, 17 %, 25 %, 17 %, 50 % respectivement pour la ticarcilline, la ceftazidime, la gentamicine, l'amikacine et la ciprofloxacine. Quant aux cinq isolats d'*Acinetobacter baumannii* quatre présentaient une résistance à la ticarcilline, deux à la ceftazidime. Trois étaient résistants à tous les aminosides testés.

## Discussion

L'ISO est une complication grave pouvant compromettre le pronostic fonctionnel ou vital et de ce fait, influencer négativement sur le résultat de l'acte chirurgical. Dans les pays du Nord où la surveillance des ISO fait partie intégrante de la politique de maîtrise des infections nosocomiales depuis de nombreuses années, son incidence est estimée entre 2 et 7 % des patients opérés (6-8). Nous rapportons dans cette étude un taux d'incidence de 23,4 %. Ce taux d'ISO est bien plus élevé que les taux de 5 % constatés par Farthouat *et al.* à l'hôpital principal de Dakar, au Sénégal (9) et Chadli *et al.* au Maroc (10). Ce taux de 23,4 % se situe dans les valeurs moyennes observées au cours d'autres études réalisées en Iran et en Tanzanie (11, 12). Même si dans l'un ou l'autre cas les populations incluses sont relativement jeunes et sans facteur de risque particulier, il faut cependant reconnaître que ces comparaisons sont peu satisfaisantes compte tenu des contextes d'exercice. En effet, la fréquence des ISO est liée à un grand nombre de facteurs, comme les facteurs propres au patient (âge, terrain, immunodépression), des facteurs liés à l'acte chirurgical, comme la durée et le type de l'intervention, mais aussi et surtout, des facteurs liés au contexte hospitalier, comme le niveau d'hygiène et les conditions d'intervention. (13, 14) C'est sur ce dernier point qu'existe le plus de contraintes dans les pays en développement notamment en Afrique : insuffisance de personnel qualifié, locaux inadaptés, manque de consommables, qui ne permettent pas le respect des règles de prévention des infections.

Dans notre étude, les bactéries en cause sont surtout des bacilles à Gram négatif avec une forte proportion d'entérobactéries dont *E. coli* est le chef de file. Dans nombre d'études *S. aureus* constitue la première cause d'ISO, suivi de différentes espèces d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* (3,4, 10). Cependant Chevalier *et al.* (15) à Dakar avaient observé une prédominance forte de *P. aeruginosa*. Cette différence dans la distribution des espèces bactériennes semble être liée à l'écologie microbienne de l'hôpital et surtout du service concerné. La forte prédominance des entérobactéries peut s'expliquer par la fréquence plus élevée des cas de laparotomie pendant notre période d'étude. En effet, dans le cadre d'une chirurgie digestive où les tractus sont ouverts, ce sont les bactéries des flores endogènes qui infectent plus facilement le site opératoire (9,16). Quant aux cultures polymicrobiennes, elles sont probablement à rapprocher de des fautes d'asepsie à un moment donné de l'acte opératoire, des soins postopératoires, ou du prélèvement lui-même.

Les données sur la sensibilité aux antibiotiques de *S. aureus* isolés montrent une résistance quasi-totale à la pénicilline G. De plus

sur les 14 souches, deux ont présenté une résistance à la méticilline. Cette proportion de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) est élevée par rapport à celle retrouvée dans l'étude de Bercion *et al.* (14) réalisée à la même époque à Bangui (5 %). Cela fait évoquer une origine hospitalière de ces souches. La fréquence élevée de résistance des entérobactéries aux ampicillines, amoxicilline-acide clavulanique et céphalosporine de première génération est en rapport avec un usage non réfléchi de ces molécules, sélectionnant des souches présentant le phénotype céphalosporinase. De plus, la présence de 15 % des ISO dues à des entérobactéries exprimant une BLSE souligne la réalité de cette situation en milieu hospitalier et la nécessité d'une prise en compte de ce risque en chirurgie. Les taux de résistance élevés des bacilles à Gram-négatif non fermentant vis-à-vis des carboxypénicillines (68,8 %) sont très alarmants témoignant de leur caractère nosocomial. La résistance élevée aux fluoroquinolones (56 %) semble être liée à la pression de sélection exercée par l'usage abusif de ces molécules aussi bien en ambulatoire qu'en milieu hospitalier. Mais les taux retrouvés dans cette série sont très élevés par rapport à ceux retrouvés dans le réseau américain (TSN) (17).

Au vu des données de cette étude et compte tenu de cette épidémiologie bactériologique et des profils de sensibilité des germes responsables d'ISO dans notre structure, nous proposons en cas d'absence de documentation microbiologique un traitement antibiotique associant une céphalosporine de troisième génération (C3G) à un aminoside avec un relais oral par une fluoroquinolone. Le coût approximatif d'un tel traitement est de l'ordre de 4 800 FCFA soit 7,3 Euros par jour pour un adulte. La surveillance sera basée sur un dosage de la protéine C réactive et éventuellement un prélèvement de pus pour un examen cytotactériologique de contrôle.

## Conclusion

Les infections post opératoires sont fréquentes. Le diagnostic étiologique de ces infections post opératoires dans notre structure a permis d'identifier les principaux germes en cause localement : bacilles à Gram négatif parmi lesquels sont isolés essentiellement les entérobactéries (colibacilles, klebsielles), les pseudomonas et les cocci à Gram positif représentés en majorité par les staphylocoques et les streptocoques.

Les données sur la sensibilité aux antibiotiques de ces germes montrent que la pénicilline n'a probablement aucune efficacité pour limiter le risque d'ISO dans notre formation sanitaire. De ce fait, elle devrait être abandonnée dans cette indication et remplacée par une molécule de la classe des céphalosporines de troisième génération en association avec un aminoside.

## Références

- Nichols RL. Preventing surgical site infections: a surgeon's perspective. *Emerg Infect Dis* 2001 ; 7 : 220-4.
- Metzger MH., Bernet C, Hajjar J, Caillet-Vallet E, Ayzac L, Fabry J. ISO Protocole de surveillance *C. Clin Sud-Est.* 2005: 29p.
- Eriksen HM, Chugulu S, Kondo S, Lingaas E. Surgical-site infections at Kilimandjaro Christian Medical Center. *J Hosp Infect.* 2003 ; 55 : 14-20.
- Kotisso B, Aseffa A. Surgical wound infection in a teaching hospital in Ethiopia. *East Afr Med J* 1998 ; 75 : 402-5.
- Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Groupe de travail : Antibiogramme Vétérinaire. Communiqué 2006 (Edition de Janvier 2006).

6. Haridas M, Malangoni MA. Predictive factors for surgical site infection in general surgery. *Surgery* 2008 ; 144 : 496-501.
7. Petrosillo N, Drapeau CM, Nicastrì E, Martini L, Ippolito G, Moro ML. ANIPIO. Surgical site infections in Italian Hospitals: a prospective multicenter study. *BMC Infect Dis* 2008 ; 8 : 34.
8. Minchella A, Alonso S, Cazaban M, Lemoine MC, Sotto A. Surveillance des infections du site opératoire en chirurgie digestive. *Med Mal Inf* 2008 ; 38 : 489-94.
9. Farhouat P, Ougoubemy M, Millon A, Sow A., Fall O, Dieng D *et al.* Infections du site opératoire (ISO) en chirurgie viscérale. Etude prospective à l'hôpital principal de Dakar. *Med Afr Noire* 2009 ; 56 : 143-8.
10. Chadli M, Rtabi N, Alkandry S, Koeck JL, Achour A, Buisson Y *et al.* Incidence des infections du site opératoire étude prospective à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed-V de Rabat, Maroc. *Med Mal Inf* 2005 ; 35 : 218-22.
11. Razavi SM, Ibrahimpoor M, Sabouri Kashani A, Jafarian A. Abdominal surgical site infections: incidence and risk factors at an Iranian teaching hospital. *BMC Surg* 2005 ; 5 : 2.
12. Fehr J, Hatz C, Soka I, Kibatata P, Urassa H, Smith T *et al.* Risk factors for surgical site infection in a Tanzanian district hospital: a challenge for the traditional National Nosocomial Infections Surveillance system index. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2006 ; 27 : 1401-4.
13. Simon F, Kraemer P, De Pina JJ, Demortière E, Rapp C. Le risque nosocomial en Afrique Intertropicale. Partie 2 : Les infections des patients. *Med Trop* 2007 ; 67 : 197-203.
14. Bercion R, Gaudeuille A, Mapouka PA, Behoune T, Guetahoun Y. Infections du site opératoire dans le service de chirurgie orthopédique de l'hôpital communautaire de Bangui, République centrafricaine. *Bull Soc Pathol Exot* 2007 ; 100 : 197-200.
15. Chevalier B, Salaou C, Fall R, Farhouat P, Deconninck JP, Ougoubemy M *et al.* Surveillance des infections du site opératoire dans les services chirurgicaux de l'Hôpital Principal de Dakar. XIème Actualités du Pharo, Marseille 9-11 septembre 2004, CA 66.
16. Dhidah L, Dhidah M, Miladi M, Kacem N, Troudi M. Place de la plaie opératoire dans les infections nosocomiales. étude de prévalence au CHU Sahloul. *Tunis Med* 1998 ; 11 : 401-7.
17. Jones ME, Karlowsky JA, Draghi DC, Thornsberry C, Sahn DF, Nathwani D. Antibiotic susceptibility of bacteria most commonly isolated from bone related infections: the role of cephalosporins in antimicrobial therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2004 ; 23 : 240-6.

**TITLE: PREVALENCE, CIRCULATION AND CHARACTERIZATION OF  
MULTIRESISTANT BACTERIA IN BURKINA FASO**

**ADRESSE:** INSERM U1058 "Pathogenesis and Control of Chronic Infections"  
Université Montpellier- EFS CHU Montpellier - Hôpital Arnaud de Villeneuve  
Département de Bactériologie-Virologie 191 Avenue du Doyen Gaston Giraud  
34295Montpellier E-mail : [abdousal2000@yahoo.fr](mailto:abdousal2000@yahoo.fr)