



Profil de résistance des agents étiologiques des diarrhées isolés au Tchad

Guelmbaye NDOUTAMIA^{1*}, Nadlaou BESSIMBAYE^{2,3,6},
Clément KERAH-HINZOUNBÉ⁴, Fissou Henry YANDAÏ^{3,5,6}, Lassana SANGARÉ⁷,
Alfred S. TRAORÉ⁷, Isidore J. BONKOUNGOU⁸, Aly Savadogo⁶ et Nicolas BARRO^{3,6}

¹Université de Doba, Tchad.

²Hôpital Général de Référence Nationale N'Djamena (HGRN), Tchad.

³Laboratoire de Biologie Moléculaire, d'Épidémiologie et de Surveillance des Bactéries et Virus Transmis par les Aliments (LaBESTA)/CRSBAN, Université de Ouagadougou, Burkina Faso.

⁴Programme National de Lutte contre le Paludisme (PNLP), Tchad.

⁵Hôpital de la Mère et de l'Enfant de N'Djamena, Tchad.

⁶Centre de Recherche en Sciences Biologiques Alimentaires et Nutritionnelles (CRSBAN), Université de Ouagadougou, Burkina Faso.

⁷Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Santé (UFR/SDS), Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouedraogo (CHU-YO), Burkina Faso.

⁸Laboratoire National de Santé Publique (LNSP), Burkina Faso.

* Auteur correspondant, E-mail: ndoutamia@gmail.com ; Tel : +235 66 32 46 67/+235 99 99 20 03.

RESUME

La résistance aux antibiotiques des entéropathogènes impliqués dans les maladies diarrhéiques est une préoccupation d'ampleur mondiale. C'est pourquoi la présente étude était entreprise en vue de tester la sensibilité de ces microorganismes aux antibiotiques couramment utilisés au Tchad. Les selles des patients ont été prélevées dans des flacons stériles et analysées selon les procédures standards de microbiologie dans le laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Général de Référence Nationale de N'Djamena (HGRN). L'isolement et l'identification des entéropathogènes dans les selles étaient réalisés, en utilisant les milieux Hektoen, EMB (éosine bleu de méthylène), TCBS (thiosulfate, citrate, bile, saccharose) (BioRad) et la galerie API[®] 20E et API[®] 20 NE (BioMérieux). L'antibiogramme a été effectué selon la méthode de Kirby Bauer en utilisant le milieu Mueller-Hinton. Le test antigénique était réalisé conformément aux instructions de Kaufmann-White. Au total, les selles de 1164 patients ont été analysées, desquelles 275 entéropathogènes étaient isolés, identifiés et testés aux antibiotiques. Parmi les souches d'entérobactéries étudiées, les *Escherichia coli* étaient résistants de 70% aux Bêta-lactamines. Les *Vibrio cholerae* O 1 en particulier ont exprimé un taux de résistance de 15,30% à l'ampicilline, 100% à l'amoxicilline + acide clavulanique et triméthoprim/cotrimoxazole, 98,90% à l'acide nalidixique et 12,56% à la ceftriaxone. Ces résultats attestent de la circulation des entéropathogènes résistants aux antibiotiques usuels au Tchad.

© 2014 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Diarrhée, entéropathogène, antibiotique, résistance, HGRN, Tchad.

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont responsables de 25% des décès dans le monde. Parmi elles, les diarrhées occupent la 3^{ème} place des infections les plus meurtrières en occasionnant le décès d'environ 2,2 millions de personnes par an dont près de 2 millions d'enfants de moins de 5 ans (Thapar et Sanderson, 2004).

L'utilisation inadaptée et souvent anarchique des antibiotiques a entraîné des résistances bactériennes à ces médicaments (Carrière, 2007; Islam, 2009; Quilici et al., 2010). Ces résistances sont l'expression phénotypique de modifications génétiques apparaissant à l'occasion de mutations ou de transferts d'informations génétiques (Kronenberg, 2011; Laurencin, 2012). Ces phénomènes peuvent parfois engendrer des résistances multiples rendant très difficiles les prises en charges thérapeutiques des patients infectés par de telles bactéries, en particulier dans les pays en voie de développement où les molécules les plus récentes et seules efficaces ne sont pas toujours disponibles ou sont trop coûteuses (Brisabois, 2001); Bessimbaye et al., 2013).

Les taux de résistance des divers agents infectieux sont variables selon des zones géographiques et selon des pays, mais partout, cela a de lourdes répercussions en santé publique. Au Tchad, l'isolement et l'antibiogramme sont rarement demandés. Par conséquent, les données concernant l'antibio-résistance sont donc très parcellaires.

MATERIEL ET METHODES

Type d'enquêtes, période et cadre

Il s'agit des enquêtes prospectives effectuées d'août 2009 à décembre 2011 au Tchad. Les selles utilisées sont issues des patients tous venant de N'Djamena et ceux des différentes zones du Tchad touchées par l'épidémie de choléra de 2010 et 2011. Au

total, 1164 échantillons des selles ont été prélevés dans des pots stériles. Les analyses microbiologiques ont été effectuées au Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Général de Référence Nationale de N'Djamena (HGRN).

Culture et identification des souches

L'isolement et l'identification des germes ont été réalisés après ensemencement des selles sur gélose Hektoen et gélose TCBS (Thiosulfate, Citrate, Bile, Saccharose) (Bio-Rad®). Les selles des enfants d'âge compris entre 0 et 2 ont été cultivées sur gélose EMB (Eosine Bleu de Méthylène). Après 18 à 24 heures d'incubation à l'étuve bactériologique à 37 °C, les colonies vertes et bleuâtres avec ou sans centre noir sur gélose Hektoen suspectes (*Salmonella*, *Shigella*) et celles à reflet métallique sur gélose EMB ont été repiquées sur gélose de Muller-Hinton (MH) pour les études antigéniques, la coloration de Gram et le test d'oxydase. Les colonies jaunes dans la gélose TCBS sont suspectées de *Vibrio* et *Aeromonas*.

Le test d'agglutination a été exécuté en suivant les instructions de Kaufmann et White (Pilet et al., 1986) à l'aide des sérums : polyvalent anti-*Shigella* type 1, anti-flexneri, anti-boydii et anti-sonnei (Bio-Rad®) pour la recherche des *Shigella*; anti-*Salmonella* (OMA, OMB, OMC et Vi) (Bio-Rad®) pour la recherche de *Salmonella* et pour les *Escherichia coli* entéropathogènes, l'agglutination a été réalisée simplement avec le sérum salin 0,85% pour éliminer les souches Rough.

Pour les *Vibrio*, des colonies fraîches d'une culture de 18-24 heures sur le milieu MH ont été prélevées pour la réalisation du test aux anti- sérums (anti-O 1, anti-Inaba et anti-Ogawa (Deben Diagnostics Ltd)) tel que décrit par le centre national de vibrions et de choléra de l'Institut Pasteur de Paris (Quilici et al., 2010).

La culture de l'inoculum Mc Farland 0,5 sur la galerie API[®] 20E et API[®] 20NE (Bio-Mérieux 20100) a été exécutée pour l'identification biochimique. Le principe est basé sur l'inoculum des microtubules avec une suspension qui réhydrate les milieux. L'incubation est à 37 °C à l'étuve pendant 24 heures au cours duquel se déroulent les réactions biochimiques (décarboxylation, fermentation, désamination) qui se traduisent par des produits colorés spontanés révélés par addition des réactifs. L'identification des *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* et *Aeromonas* est obtenue à l'aide de catalogue API[®]20NE et API[®]20NE selon les instructions de la Société Française de Microbiologie (SFM). Le catalogue fournit l'identification d'un grand nombre de profil obtenu sur API[®]20E, ce qui confère une grande fiabilité à l'interprétation des résultats. L'inoculum a été suffisamment dilué et comparé avec le standard des turbidités Mc Farland 0,5, qui est la densité optimale de sorte qu'après culture sur milieu de Mueller-Hinton, il y ait la formation des colonies toutes isolées mais jointives.

Test de sensibilité des isolats

L'antibiogramme a été effectué par la méthode de diffusion d'antibiotiques en gélose Muller Hinton selon la technique de Kirby-Bauer. Les antibiotiques utilisés sont des disques de fabrication Bio-Rad[®], et des diverses familles. Ces antibiotiques sont : ampicilline (10 µg), amoxicilline (25 µg), amoxicilline + acide clavulanique (20/10 µg), ceftriaxone (30 µg) (bêta-lactamines); ciprofloxacine (5 µg), norfloxacine (fluoroquinolones); doxycycline (30 µg), tétracycline (30µg) (cyclines), chloramphénicol (30 µg) (phénicolés) et cotrimoxazole (25 µg) (sulfamides-triméthoprime), polymyxine-colistine (50 ui), acide nalidixique (30 µg) (quinolones), erythromycine (15 ui) (macrolides), et le

composé vibriostatique O/129 (50 UI) (Bio-Rad[®]). Pour chacun des antibiotiques testés, le diamètre d'inhibition a été relevé et interprétés selon les critères du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASMF, 2010). Les différentes souches testées ont été classées en sensible (S), Intermédiaire (I) et Résistante.

Traitement des données

Pour l'analyse des données, les souches de catégories intermédiaires ont été comptabilisées parmi les résistantes (I+R). Ces données quantitatives ont été saisies à l'aide des logiciels Excel (2010). L'analyse des différents paramètres a été faite sous forme d'effectifs, des proportions des souches résistantes et sensibles aux antimicrobiens testés.

RESULTATS

Résistance des entéropathogènes aux antibiotiques

Les Tableaux 1 et 2 résument les différents profils de résistance des bactéries vis-à-vis des antibiotiques testés.

Résistance aux Bêta-lactamines

Le Tableau 1 présente le résultat des tests d'efficacité de 4 Bêta-lactamines vis-à-vis de 275 souches bactériennes isolées. Ces souches sont: 183 *Vibrio cholerae* O 1, 1 *Vibrio parahaemolyticus*, 2 *Salmonella* Paratyphi A, 2 *Salmonella* Paratyphi B, 4 *Salmonella* Typhi, 4 *Shigella* spp, 16 *Shigella flexneri*, 58 *Escherichia coli* entéropathogènes 3 *Aeromonas hydrophila* et 2 *Aeromonas sobria*. Les 183 *Vibrio cholerae* O 1 ont été testées au composé vibriostatique O/129.

Les entéropathogènes non entérobactéries (*Vibrio* et *Aeromonas*) testés ont exprimé un taux de résistance élevé aux antibiotiques. Les *Vibrio cholerae* O 1 sont résistants à 15,30% à l'ampicilline, 100% à l'amoxicilline + acide clavulanique et 12,56%

à la ceftriaxone (C3G). Le taux de résistance des *Aeromonas hydrophyla* aux Bêta-lactamines testé est de 100% à l'exception de la ceftriaxone (75%).

Chez les entérobactéries entéro-pathogènes (*Shigella*, *Escherichia coli* et *Salmonella*), les résistances aux pénicillines de groupe A (ampicilline et amoxicilline) varient de 25 à 100% chez toutes les souches testées. La résistance de *Shigella*, *Escherichia coli* et *Salmonella* à l'amoxicilline + acide clavulanique (inhibiteur de bêta-lactamase) est de 75% ; 87 ; 93% et 0% respectivement. Pour la ceftriaxone, des résistances sont constatées avec les souches de *E. coli* (25,86%), *Shigella flexneri* (37,5%) et *Shigella* spp (25%).

Résistance aux Cyclines, Phénicolés, Sulfamides, Quinolones et Fluoroquinolones

Le Tableau 2 montre le résultat des tests de sensibilité des entéro-pathogènes à d'autres familles d'antibiotiques. Les proportions des résistances sont tout à fait variables. Chez les *Vibrio cholerae* O, des résistances sont constatées avec les tétracyclines (4,01%), doxycyclines (4,37%). Les chloramphénicol et triméthoprime/sulfaméthoxazole sont quasiment inactifs. Dans les dérivés de quinolone, seul la ciprofloxacine semble être peu touchée (8,52%). Les taux de résistance sont de 24,36% pour les phénicolés (chloramphénicol) et 71,27% pour les quinolones (acide nalidixique). Ils sont de 0,2% et 3,63% respectivement pour la norfloxacine et la ciprofloxacine (fluoroquinolones), et de l'ordre de 40% pour les cyclines (tétracycline et doxycycline). Toutes les souches isolées ont manifesté une grande sensibilité aux

fluoroquinolones. Par contre, 97,27% sont résistantes à l'acide nalidixique. Pour les *Aeromonas*, le taux de résistance est de 100% à cotrimoxazole, et 60% à la Ciprofloxacine. La résistance de *Vibrio cholerae* O 1 et de *Aeromonas* à la polymyxine B est de 99,45% et 80% respectivement.

Chez les entérobactéries, la résistance de *E. coli* est de 96,55% à la tétracycline 96,55% à la doxycycline, 89,65% au chloramphénicol et 94,82 au cotrimoxazole. Les *Shigella* sont résistantes aux cyclines (tétracycline et doxycycline) (100%). 75% des souches sont résistantes au chloramphénicol. Les *Salmonella* sont résistantes de 50% à la tétracycline et au chloramphénicol. La ciprofloxacine est l'antibiotique le plus actif sur ces souches à l'exception de *E. coli* dont 15,51% des souches sont résistantes.

DISCUSSION

Les résultats obtenus révèlent un taux assez élevé de résistance de *Vibrio cholerae* O 1 aux aminopénicillines. Des travaux similaires soulignent que certaines souches sauvages des vibrions seraient insensibles à l'ampicilline (Geraldine et Willy, 2007). Ce qui corrobore ce taux de résistance constaté. D'autres travaux évoquent une acquisition rapide de résistance de *Vibrio cholerae* aux Pénicillines. Selon Rakoto et al. (2001), une souche de *Vibrio cholerae* de Madagascar aurait acquis une résistance seulement 10 mois après son introduction dans les Iles. Cette résistance acquise serait portée par un gène transférable et capable d'induire la multi résistance à la fois aux Pénicillines du groupe A (ampicilline, amoxicilline) et aux cyclines. La résistance de *Vibrio cholerae* O 1 à la ceftriaxone (C3G) a été également observée dans ce travail (12,56%).

Tableau 1 : Évaluation de l'efficacité des β -Lactamines et test de sensibilité de *Vibrio cholerae* O 1 au composé vibriostatique O/129.

Agents bactériens	Ampicilline		Amoxicilline		AMC		Ceftriaxone		CV O/129		
	Nombre	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)
<i>V. cholerae</i> O 1	183	28 (15,30)	155 (84,69)	183 (100)	0	183 (100)	0 (0)	23 (12,56)	160 (87,43)	183 (100)	0 (0)
<i>V. parahaemolyticus</i>	1	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)
<i>Shigella flexneri</i>	16	15 (93,75)	1 (6,25)	12 (75)	4 (25)	12 (75)	4 (25)	6 (37,5)	10 (62,5)	-	-
<i>Shigella</i> spp	4	4 (100)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	3 (75)	1(25)	1 (25)	3 (75)	-	-
<i>S. Paratyphi</i> A	2	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (0)	-	-
<i>S. Paratyphi</i> B	2	2 (100)	0 (0)	1 (50)	1(50)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	-	-
<i>Salmonella</i> Typhi	4	4 (100)	0 (0)	1 (25)	3 (75)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	4 (100)	-	-
ECEP	58	54 (93,10)	4 (6,89)	56 (96,55)	2 (3,44)	51 (87,93)	7 (12,06)	15 (25,86)	43 (74,13)	-	-
<i>Aeromonas hydrophyla</i>	3	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	2 (75)	1 (25)	-	-
<i>Aeromonas sobria</i>	2	2 (100)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	2 (100)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	-	-
Total	275	114	161	265	12	254	21	48	225	183	1

AMC = amoxicilline+acide clavulanique, ECEP = *Escherichia coli* entéropathogène, CV composé vibriostatique O/129. R = Résistance, I = Intermédiaire, S = Sensible, vis-à-vis de chaque antibiotique on a une zone de résistance (R), intermédiaire (I), sensible (S), suivant : Ampicilline (AM): R<11, 11≤I≤16, S≥17 ; Amoxicilline R<8,8≤I≤21, S≥21 ; Amoxicilline + acide Clavulanique (AMC) : R<14, 14≤I≤20, S≥21 ; Ceftriaxone (CRO) : R<15, 15≤I≤20, S≥21. Pour *Vibrio cholerae* O1 : AMP : R<6, S≥6 ; Amoxicilline + acide Clavulanique (AMC) : R<20, S≥21 ; Ceftriaxone (CRO) : R<28, S≥28 ; CV O/129 : R<6, S≥15 (NCCLS, 1998, CASFM, 2010).

Tableau 2 : Évaluation de l'efficacité des cyclines, phénicolés, sulfamides, polymyxine B, quinolones et fluoroquinolones.

	Nombre	TE		D		C		SXT		PB		NA		NOR		CIP	
		R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)	R+I (%)	S (%)
<i>V. cholerae</i> O 1	183	9 (4,01)	175 (95,62)	8 (4,37)	176(96,17)	178 (97,26)	6 (3,27)	183 (100)	0 (0)	183(100)	0(0)	181 (98,90)	2 (1,09)	178 (97,26)	5 (2,73)	21 (11,47)	162(88,52)
<i>V. parahaemolyticus</i>	1	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)
<i>Shigella flexneri</i>	16	15 (93,75)	1 (6,25)	14 (87,5)	2 (12,5)	12 (75)	4 (25)	9 (56,25)	7 (43,75)	-	-	4 (25)	12 (75)	2 (12,5)	14 (87,5)	1 (6,25)	15 (93,75)
<i>Shigella spp</i>	4	4 (100)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	3 (75)	1 (25)	3 (75)	1 (25)	-	-	1 (25)	3 (75)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	4 (100)
<i>S. Paratyphi A</i>	2	1 (50)	1 (50)	-	-	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	-	-	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)
<i>S. Paratyphi B</i>	2	0 (0)	2 (100)	-	-	1 (50)	1 (50)	0 (0)	2 (100)	-	-	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)
<i>S. Typhi</i>	4	1 (25)	3 (75)	-	-	1 (25)	3 (75)	0 (0)	4 (100)	-	-	0 (0)	4 (100)	0 (0)	4 (100)	0 (0)	4 (100)
<i>ECEP</i>	58	56 (96,55)	2 (3,44)	56 (96,55)	2 (3,44)	52 (89,65)	6 (10,34)	55 (94,82)	3 (5,17)	-	-	21 (36,20)	37 (63,79)	-	-	9 (15,51)	49 (84,48)
<i>Aeromonas</i>	5	0 (0)	5(100)	0 (0)	5(100)	4(80)	1(20)	5(100)	0 (0)	5(100)	0 (0)	4(80)	1(20)	3(60)	2(40)	2(40)	3(60)
Total	275	86	190	82	186	252	24	257	19	189	0	212	64	184	34	33	242

Nb = nombre

Chloramphénicol (C): R< 19, 19 ≤ I ≤ 22, S ≥ 23 ; Doxycycline (DO) : R< 17, 17 ≤ I ≤ 18, S ≥ 19 ; Polymyxine B-Colistine (PB) : R< 8, 8 ≤ I ≤ 11, S ≥ 12 ; Cotrimoxazole (Cot) : R < 10, 10 ≤ I ≤ 18, S ≥ 19 ; Acide Nalidixique (NA) : R< 15, 15 ≤ I ≤ 9, S ≥ 20 ; Ciprofloxacine (Cip) : R< 15, 15 ≤ I ≤ 20, S ≥ 21 ; Norfloxacine (NOR) : R< 22, 22 ≤ I ≤ 25, S ≥ 25 ; Tétracycline (TE) : R< 21, 21 ≤ I ≤ 20, S ≥ 23 (NCCLS, 1998 CASMF, 2010), NB : Pour *Vibrio cholerae*O1 :Chloramphénicol (C) : R< 20, S ≥ 25 ; Doxycycline (DO) : R< 17, S ≥ 24 ; Polymyxine B-Colistine (PB) : R< 8, S ≥ 15 ; Cotrimoxazole (Cot) : R < 6, 10, S ≥ 6 ; Acide Nalidixique (Nal) : R< 20, S ≥ 25 ; Ciprofloxacine (CiP) : R< 21, S ≥ 25 ; Norfloxacine (NOR) : R< 20, 22, S ≥ 25 ; Tétracycline (TE) : R< 24, S ≥ 30 (CASMF, 2010).

Une telle résistance lorsqu'elle est observée, serait liée à la production d'une céphalosporinase ou Bêta-Lactamase à Spectre Elargi (BLSE) par les souches en question (Haukka et Siitonen, 2007). Ce mécanisme de résistance de type enzymatique est développé chez la plupart des bacilles à Gram négatif (Uzunovic-Kamberovic et al., 2006). Par contre, les souches de *Vibrio cholerae* O 1 étudiées ont été toutes résistantes à l'agent virostatique O/129. Ce qui confirme le caractère distinctif de *Vibrio cholerae* O 1 des *Aeromonas*.

Les souches d'*Aeromonas* ont été résistantes aux Bêta-lactamines testées. Ce résultat confirme les assertions selon lesquelles les souches de *Aeromonas* seraient naturellement résistantes à cette famille d'antibiotique. En effet, les souches sauvages de *Aeromonas* seraient capables de produire trois types d'enzymes : une céphalosporinase inductible, une oxacillinase ou une carbapénémase. L'expression de ces enzymes inactiverait la plupart de bêta-lactamines, notamment les pénicillines et les céphalosporines (Zeba et al., 2007).

Cependant, chez les entérobactéries testées, les résistances aux bêta-lactamines étaient variables selon les souches isolées. Les résistances aux pénicillines de groupe A (ampicilline et amoxicilline) variaient de 25 à 100% chez toutes les souches testées. Les souches de *Shigella* et *Escherichia coli* en particulier ont présenté une forte résistance à l'amoxicilline + acide clavulanique et à la ceftriaxone par comparaison aux souches de *Salmonella*. Ces souches produiraient probablement de la pénicillinase et de la céphalosporinase, les rendant fortement résistantes aux aminopénicillines et céphalosporines.

Parmi les souches d'entérobactéries étudiées, le taux de résistance aux bêta-lactamines le plus élevé a été observé chez *E. coli*. Cette forte résistance à l'ampicilline, amoxicilline, amoxicilline + acide

clavulanique et ceftriaxone serait due à la production d'une BLSE capable d'hydrolyser tous les bêta-lactamines à l'exception des cephamycine et des carbapénèmes. Un travail similaire réalisé par Yandai et al. (2014) à N'Djamena rapporte un portage digestif de 25,57% des souches de *E. coli* résistantes à la cefotaxime (C3G) et dont 20% produiraient de la BLSE. De nombreux travaux réalisés à travers le monde incrimineraient les souches de *E. coli* de puissants producteurs de BLSE plasmidiques (Bradford, 2001). Certains plasmides seraient capables d'entraîner des résistances croisées ou associées à d'autres familles d'antibiotiques (Messai et al., 2006).

En ce qui concerne les autres familles des antibiotiques, certaines souches des 183 *Vibrio cholerae* O testés ont été résistantes vis-à-vis des tétracyclines (4,01%), doxycyclines (4,37%) et ciprofloxacine (8,52%). Les triméthoprimé/sulfaméthoxazole, chloramphénicol, et l'acide nalidixic étaient quasiment inactifs. La résistance de *V. cholerae* à la tétracycline constaté dans cette étude a été également rapporté dans les épidémies de beaucoup de pays, notamment celles en Amérique latine, en Tanzanie, au Bangladesh et au Zaïre (Garg et al., 2000). Les fluoroquinolones sont en général actives sur les *V. cholerae* O1. Les souches résistantes à la Ciprofloxacine constatées reposeraient sur les mutations des gènes *gyrA* et *parC* ainsi que les mécanismes d'efflux comme décrit par des nombreux auteurs (Geraldine et Willy, 2007).

Par contre la résistance des *V. cholerae* à triméthoprimé serait due à un gène porté par un transposon inséré dans le chromosome bactérien. L'expression de cette résistance serait renforcée par la consommation des antibiotiques pour lesquels les marqueurs codent la résistance (Guevart et al., 2006 ; Noeske et al., 2006). Cette pratique serait, en grande partie, responsable de la diffusion rapide de la résistance de *V. cholerae* à la

cotrimoxazole (Guevart et al., 2004 ; Noeske et al., 2006).

Il est alarmant de constater que dans cette étude, les antibiotiques les plus accessibles financièrement tels que le chloramphénicol et triméthoprime/sulfaméthoxazole, deviennent de plus en plus inefficaces du fait de leur utilisation abusive. Ce constat a été fait dans de nombreux pays en voie de développement (Mandomando et al., 2007). D'autres travaux ont également montré que lorsqu'on passe des antibiotiques naturelles aux synthétiques, la proportion de la résistance diminue au profit de la sensibilité. Comme l'a observé Islam et al. (2009).

En ce qui concerne les souches de shigelle, des fortes résistances ont été constatées avec les cyclines et le chloramphénicol à l'exception des quinolones. D'autres données ont montré également que le nombre des souches ayant acquis des résistances est en augmentation surtout dans des pays endémo-épidémiques (Thapar et Sanderson, 2004). Les résistances aux sulfamides, aux cyclines, aux chloramphénicols et aux ampicillines sont assez fréquentes et varient en fonction de la localisation géographique. Quant à la résistance des salmonelles aux chloramphénicols, elle est connue depuis les années 50 (Guera et al., 2002). Cette résistance serait liée à la présence d'un plasmide transférable et portant des gènes de résistance à trois antibiotiques à la fois (chloramphénicol, aminopenicilline et cotrimoxazole). Ce plasmide serait de grande taille et du groupe d'incompatibilité H1 (Guera et al., 2002). Des souches de telles résistances ont été rapportées en Thaïlande, en Asie du Sud-Est, en Chine, en Inde, en Malaisie et en Egypte (Patrick et al., 2007). Toutefois, avec les quinolones et ses dérivés, la ciprofloxacine semble garder son efficacité par comparaison à la norfloxacine et l'acide nalidixic. Cette constatation serait liée à l'existence des différents mécanismes de

résistance des bactéries aux antibiotiques de la même famille (Robicsek et al., 2006 ; Perichon et al., 2007).

Conclusion

Cette première étude nous a permis d'identifier des souches entéro-pathogènes impliquées dans les gastro-entérites et d'évaluer leurs taux de résistance aux antimicrobiens usuels. Ces bactéries, objet de cette étude, ont manifesté chacune une résistance à au moins un antibiotique habituellement actif, ce qui indique une circulation assez importante des souches résistantes. Comme la prise en charge efficace des gastro-entérites est basée essentiellement sur le remplacement de la perte hydroélectrolytique et l'antibiothérapie, la circulation des souches entérites multirésistantes peuvent compromettre l'efficacité des traitements probabilistes et expliquer les échecs thérapeutiques. Par conséquent, il est important et urgent de mettre en place des actions de sensibilisation de la communauté et des prescripteurs sur l'usage raisonné des antimicrobiens en vue de contribuer à la limitation de l'expansion des souches résistantes au Tchad.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les autorités du Ministère de la Santé Publique du Tchad qui ont fourni les moyens matériels nécessaires à travers l'Hôpital Général de Référence Nationale de N'Djamena pour la réalisation de cette étude.

REFERENCES

- Bessimbaye N, Tidjani A, Gamougame K, Boy Otchom, Ndoutamia G, Sangaré L, Barro N, Traore A. 2013. Gastro-entérites en milieu des réfugiés au Tchad. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, 7(2): 468-478.
- Bradford PA. 2001. Extended spectrum β -lactamases in the 21st century, characterization, epidemiology, and

- detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.*, **14**: 933-951.
- Brisabois A. 2001. Des techniques de caractérisation moléculaire des *Salmonella*. *Epidémiol. Santé Anim.*, **39**: 31-42.
- Carrière C. 2007. Génétique bactérienne. Cours de bactériologie, Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes, France, 4p.
- Geraldine D, Willy H. 2007. *Vibrio*: Précis de bactériologie Clinique. Edition ESKA, P 1182-1196.
- Guerra B, Soto S, Helmuth R, Mendoza MC. 2002. Characterization of a self transferable plasmid from *Salmonella enterica* serotype Typhimurium clinical isolates carrying two integron-borne genes cassettes together with virulence and drug resistance genes. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**: 2977-2981.
- Guévert É, Solle J, Mouangue A. 2006. Évolution de la sensibilité de *Vibrio cholerae* O1 après utilisation prolongée d'antibiotiques en traitement et en prophylaxie au cours de l'épidémie de choléra de Douala (Cameroun) 2004. *Med. Mal Infect.*, **36**: 329-334.
- Haukka K, Siitonen. 2007. Emerging resistance to newer and antimicrobial agents among *Shigella* isolated from Finnish foreign travellers. *Epidemiol. Infect.*, **136**: 476-482.
- Islam SM, Midzi SM, Charimari L, Cravioto A. 2009. Susceptibility to Fluoroquinolones of *Vibrio cholera* O1 Isolated from Diarrheal patients in Zimbabwe. *J. Am. Med. Assoc.*, **302**: 2321-2322.
- Kronenberg A, Koenig S, Droz S, Mühlemann K. 2011. Active surveillance of antibiotic resistance prevalence in urinary tract and skin infections in the outpatient setting. *Clin. Microbiol. Infect.*, **17**: 1845-1851.
- Laurencin M, Amor M, Fleury Y, Baudy-Floc'h ML. 2012. De Novo Cyclic Pseudopeptides Containing Aza- β -amino Acids Exhibiting Antimicrobial Activities. *J. Med. Chem.*, **55**: 10885-10895.
- Mandomando IM, Macete EV, Ruiz J Sanz S, Abacassamo F, Valès X, Sacarlal J, Nvia MM, Vila G, Alonso PL, Gascon J. 2007. Etiology of diarrhea in children younger than 5 years of age admitted in a rural hospital of southern Mozambique. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **76**: 522-527.
- Messai Y, Benhassine T, Naim M, Paul G, Bakour R. 2006. Prevalence of β -lactams resistance among *Escherichia coli* clinical isolates from a hospital in Algiers. *Rev Esp. Quimioterap.*, **19**(2): 144-151.
- Noeske J, Guévert É, Kuaban C. 2006. Routine use of antimicrobial drugs during the 2004 cholera epidemic in Douala, Cameroon. *East Afr. Med. J.*, **83**: 363-368.
- Patrick AD, Grimont, Weill F-X. 2007. *Salmonella. Précis de Bactériologie Clinique*. Edition ESKA, P 1951-1064.
- Pilet C, Bourdon JL, Toma B, Marchal N, Balbastre C. 1986. *Bactériologie Médicale et Vétérinaire : Systématique* (2^{ème} éd.). DOIN Editeur : Paris, France ; 437.
- Perichon B, Courvalin P, Galimand M. 2007. Transferable Resistance to Aminoglycosides by Methylation of G1405 in 16S rRNA and to Hydrophilic Fluoroquinolones by QepA-Mediated Efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **51**: 2464-2469.
- Quilici ML, Massenet D, Gake B, Olson DM. 2010. *Vibrio cholera* O : 1 variant with reduced susceptibility to Ciprofloxacin, Western Africa. *Emerg. Infect. Dis.*, **85**: 293-308.
- RakotoAlson AO, Dromigny JA, Pfister P, Mauclère P. 2001. *Vibrio cholerae* à Madagascar: étude d'une souche multirésistante. *Arch. Inst. Pasteur Madagascar.*, **67**: 6-13.

- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. 2006. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Infect. Dis.*, **6**(10): 629-640.
- Thapar N, Sanderson. 2004. Diarrhoea in children-an interface between developing and developed countries. *The Lancet*, **363**: 641-653.
- Uzunovic-Kamberovic S, Saric D, Sestic S. 2006. Community-acquired urinary tract infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Zenica-Doboj Canton, Bosnia and Herzegovina. *Med. Glasn.*, **3**(2): 47- 52.
- Yandai FH, Zongo C, Moussa AM, Bessimbaye N, Tapsoba F, Savadogo A, Barro N, Ndoutamia G, Traoré AS. 2014. Prevalence and antimicrobial susceptibility of faecal carriage of Extended-Spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* at the "Hôpital de la Mère et de l'Enfant" in N'Djamena, Chad. *Scient. J. Microbiol.*, **2**: 25-31.
- Zeba B, Kiendrebeogo M, Lamien A, Docquier JD, Simporé J, Nacoulma GO. 2007. Major enzymatic Factors involved in Bacterial Penicillin Resistance in Burkina Faso. *J. Biol. Sci.*, **10**: 506-510.