Pathologie Biologie 59 (2011) e73–e78

Disponible en ligne sur ScienceDirect www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France EM|consulte www.em-consulte.com

Article original

# Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6′)-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie

## *Qnr and aac (6′)-Ib-cr types quinolone resistance among Enterobacteriaceae isolated in Annaba, Algeria*

L. Meradi [a], A. Djahoudi [b], A. Abdi [a], M. Bouchakour [c], J.-D. Perrier Gros Claude [c], M. Timinouni [c,*]

[a] *Laboratoire de microbiologie, département de Biochimie, faculté des sciences, université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie*
[b] *Laboratoire de microbiologie, département de pharmacie, faculté de médecine, université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie*
[c] *Laboratoire de bactériologie moléculaire, institut Pasteur du Maroc, 1, place Louis-Pasteur, 20100 Casablanca, Maroc*

INFO ARTICLE

*Historique de l'article :*
Reçu le 25 mars 2009
Accepté le 15 mai 2009
Disponible sur Internet le 5 novembre 2009

*Mots clés :*
Qnr
Aac (6′)-Ib-cr
Résistance
Entérobactéries
BLSE

RÉSUMÉ

*But de travail.* – Montrer l'émergence des gènes *qnr* chez des entérobactéries résistantes à l'acide nalidixique isolées dans la ville d'Annaba en Algérie.
*Matériel et méthodes.* – Des souches d'entérobactéries ($n = 25$) résistantes à l'acide nalidixique ont été isolées au laboratoire de microbiologie du centre hospitalier de la ville d'Annaba en Algérie. La résistance aux antibiotiques (méthode de diffusion et CMI) et la détection des bétalactamases à spectre étendu (BLSE) ont été réalisées selon les recommandations de la Société française de microbiologie. La caractérisation des gènes de résistance aux quinolones (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6)-Ib-cr*) et des BLSE (TEM, SHV, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8 et CTX-M9) est réalisée par PCR. La PCR multiplex est utilisée pour identifier les bétalactamases plasmidique de type AmpC. Tous les produits de PCR ont été séquencé dans les deux sens. Les expériences de conjugaison sont réalisées en utilisant la souche d'*Escherichia coli* $K_{12}J_5$ résistante à l'azide de sodium comme souche réceptrice.
*Résultats.* – Parmi les 25 souches sélectionnées, 24 présentent une résistance à au moins quatre antibiotiques. Six souches présentent un phénotype de BLSE. Le gène *qnr* (variant B1) est retrouvé chez deux souches qui sont productrice de BLSE et qui hébergent au moins deux types de gènes betalactamases. Le gène *aac (6′)-Ib* est détecté chez trois souches dont une avec le variant aac(6′)-Ib-cr. Avec des primers spécifiques, nous avons montré que qnrB1, CTX-M-28, TEM1, aac(6′)-Ib-cr été cotransféré ensemble et que ces gènes sont portés par des plasmides conjugatifs de haut poids moléculaire.
*Conclusion.* – L'émergence de combinaison de gènes de résistance pourrait poser un problème de santé publique. Ainsi, une politique de surveillance de la résistance paraît nécessaire.
© 2009 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

*Keywords:*
Qnr
Aac (6′)-Ib-cr
Resistance
Enterobacteria
ESBL

ABSTRACT

*Aim of the study.* – To show the emergence of the *qnr* and *aac (6′)-Ib-cr* genes in nalidixic acid resistant enterobacteria isolated at Annaba city in Algeria.
*Materials and methods.* – Enterobacterial strains ($n = 25$) resistant to nalidixic acid have been isolated at the microbiology laboratory of the Annaba city hospital in Algeria Antibiotic susceptibility (disc diffusion method and MIC) and screening for Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) were performed according to the French Society for Microbiology guidelines. Characterization of quinolone resistance genes (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *aac(6′)-Ib-cr*) was investigated by PCR. Identification of ESBL (TEM, SHV, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8 and CTX-M9 groups) was performed by PCR. Identification of plasmid AmpC beta-lactamases was performed by multiplex PCR. All PCR products were sequenced on both strands. Conjugation experiments were performed using azide-resistant *Escherichia coli* $K_{12}J_5$ as a recipient strain.
*Results.* – Among the 25 strains selected, 24 were resistant to at least four antibiotics. Six strains showed an ESBL phenotype. The *qnr* gene (B1 type) was found in two ESBL producing strains with at least two

* Auteur correspondant.
*Adresse e-mail :* mohammed.timinouni@pasteur.ma (M. Timinouni).

0369-8114/$ – see front matter © 2009 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.
doi:10.1016/j.patbio.2009.05.003

types of *bla* gene. The *aac (6′)-Ib* gene was detected in three strains, one with the aac (6′) Ib-cr variant. With specific primers, we have shown that qnrB1, CTX-M-28, TEM1, aac (6′)-Ib-cr was cotransferred together and that these genes are carried by conjugative plasmids of high molecular weight.
*Conclusion.* – The emergence of combination of resistance genes may pose a public health problem. Thus, a policy of surveillance of resistance seems necessary.
© 2009 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## 1. Introduction

Les quinolones sont des antibiotiques synthétiques, découverte en 1962 par Lesher qui a isolé l'acide nalidixique à partir d'une préparation de chloroquine destinée au traitement du paludisme. Du fait de leur bonne diffusion tissulaire, ces antibiotiques sont largement utilisés en médecine humaine et vétérinaire, notamment dans le cas d'infections urinaires et respiratoires.

Dans les années 1980, la fluoration de ces molécules en position 6 a permis d'étendre leur spectre d'activité selon la génération de la molécule à *Pseudomonas aeruginosa*, aux coques à Gram positif, aux bactéries intracellulaires et aux anaérobies. Parmi ces fluoroquinolones, nous citons la ciprofloxacine, la lévofloxacine et la moxifloxacine. Ces antibiotiques inhibent spécifiquement la synthèse d'ADN bactérien en agissant sur les topoisomérases de type II : l'ADN gyrase formée des sous-unités GyrA (cible préférentielle des bactéries à Gram négatif) et *GyrB*, ainsi que la topoisomérase IV, formée des sous-unités ParC (cible préférentielle des bactéries à Gram positif) et *ParE* . Le support de la résistance aux quinolones était supposé être uniquement chromosomique jusqu'en 1998 où Martínez-Martínez et al. ont décrit la première souches (*Klebsiella pneumoniae*) dont le support de la résistance est un plasmide transférable (pMG252) [1]. Il a été ensuite démontré que le plasmide pMG252 hébergeait le gène *qnr* A codant pour une protéine, QNR A, de 218 acides aminés appartenant à la famille des protéines à motifs pentapeptidiques répétés qui protège le complexe ADN-gyrase de l'inhibition par les quinolones [2]. Quatre autres déterminants plasmidiques également impliqués dans la résistance aux quinolones ont été rapportés (*qnrB*, *qnrS,qnrC et qnrD*), ainsi que différents variants des protéines QnrA et QnrB [3–5]. En 2006, un nouveau mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones a été décrit chez des souches d'*Escherichia coli* isolées en Chine. Il s'agit d'une inactivation des FQ par acétylation au niveau de l'azote aminé du substituant pipérazinyl. Le déterminant de cette résistance est un variant d'une aminoside *N*-acétyltransférase ACC-(6′)-Ib-cr dont le gène codant présente deux mutations spécifiques au niveau des codons 103 et 179 entraînant l'inactivation des FQ [6]. Récemment, un nouveau mécanisme de résistance plasmidique aux fluoroquinolones a été découvert, par excrétion active des FQ via la pompe d'efflux qepA [7,8]. Les mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones (PMQR) conduisent à des résistances de bas niveau. Mais leur association aux mécanismes chromosomique augment le niveau de résistance sous l'effet d'un traitement thérapeutique par les fluoroquinolones. La co-expression d'autres gènes de multirésistance (*bla*) par des souches porteuses de PMQR et leur dissémination a l'hôpital et dans la communauté est un facteur de risque d'impasse thérapeutique. Pour cette raison, l'étude et le dépistage de ces mécanismes semblent nécessaires. L'objectif principale de ce travail était la recherche des déterminants de la résistance plasmidique aux quinolones : les gènes *qnr* et *aac (6′)-Ib-cr* dans des souches d'entérobactéries résistantes à l'acide nalidixique isolées au centre hospitalier de la ville d'Annaba en Algérie.

## 2. Matériel et méthode

### 2.1. Souches bactériennes

Les souches d'entérobactéries sélectionnées pour cette étude sont 25 souches cliniques résistantes à l'acide nalidixique collectées au laboratoire de microbiologie du centre hospitalier de la ville d'Annaba, situées à 600 km à l'est d'Alger. La répartition par espèce des souches testées, les dates et les services d'isolement sont présentés dans le Tableau 1.

### 2.2. Sensibilité aux antibiotiques

L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion des disques sur gélose Mueller-Hinton (BioRad) et interprété après mesure des diamètres d'inhibition en accord avec les recommandations du comité d'antibiogramme de la Société française de microbiologie CA-SFM, (www.sfm.asso.fr).

Les antibiotiques suivants ont été testés : amoxicilline (25 ug), amoxicilline–acide clavulanique (20/10 ug), imipénème (10 ug), céfoxitine (30 ug), céfépime (30 ug), céftazidime (30 ug), céfotaxime (30 ug), aztreonam (30 ug), gentamicine (10 ug), amikacine (30 ug), tobramycine (10 ug), kanamicine (30 ug), acide nalidixique (30 ug), ciprofloxacine (5 ug), tétracycline(30 ug) et trimetoprime sulfaméthoxazole (1,25/23,75). La souche de référence *E. coli* ATCC 25922 a été utilisée comme témoin.

La recherche de bétalactamases à spectre étendu (BLSE) a été réalisée par la méthode classique basée sur la détection de la

**Tableau 1**
Origine des souches d'entérobactéries étudiées.

| Codes | Souches | Origine | Date d'isolement | Services |
|---|---|---|---|---|
| [S1] | Kp | Urine | Mars 2006 | Endocrinologie |
| [S2] | Kp | Liquide bronchiale | Juin 2007 | ND |
| [S3] | ECl | Pus | Mars 2006 | Endocrinologie |
| [S4] | Pm | Pus | Janvier 2006 | Endocrinologie |
| [S5] | Pm | Pus | Mars 2007 | Chirurgie |
| [S6] | Pm | Urine | Juin 2007 | Urologie |
| [S7] | Pm | Liquide d'ascite | Mai 2007 | Chirurgie |
| [S8] | Pm | Urine | Mars 2007 | Endocrinologie |
| [S9] | EC | Urine | Avril 2006 | Externe |
| [S10] | Mm | Pus | Novembre 2006 | Endocrinologie |
| [S11] | Pv | Pus | Février 2006 | Endocrinologie |
| [S12] | Pv | Urine | Juin 2006 | Chirurgie |
| [S13] | Pm | Pus | Juin 2006 | Endocrinologie |
| [S14] | ECl | Urine | Juin 2008 | Endocrinologie |
| [S15] | Mm | Urine | Février 2007 | Endocrinologie |
| [S16] | Pv | Pus | Mars 2007 | Externe |
| [S17] | Kp | Pus | Juillet 2008 | Externe |
| [S18] | EC | Sang | Juillet 2008 | Chirurgie |
| [S19] | EC | Urine | Mars 2008 | Endocrinologie |
| [S20] | EC | Urine | Mai 2008 | Endocrinologie |
| [S21] | EC | Urine | Juin 2008 | Urologie |
| [S22] | Pm | Urine | Avril 2008 | Externe |
| [S23] | EC | Pus | Mai 2008 | Externe |
| [S24] | ECl | Urine | Mai 2008 | Externe |
| [S25] | EC | Urine | Juin 208 | Externe |

EC : *Escherichia coli* ; ECl : *Entrobacter cloacae* ; Kp : *Klebsiella pneumoniae* ; Mm : *Morganella morganii* ; Pm : *Proteus morabilis* ; Pv : *Proteus vulgaris*.

Download English Version:

https://daneshyari.com/en/article/4136224

Download Persian Version:

https://daneshyari.com/article/4136224

Daneshyari.com