

Épidémiologie et évaluation de la sensibilité des souches d'*Haemophilus influenzae* isolées d'infections des voies respiratoires basses

[Epidemiology and strain sensitivity Assessment of *Haemophilus influenzae* isolated from low respiratory infections]

Ghita Yahyaoui, Rajae Hendi, and Mustapha Mahmoud

Département de Microbiologie, Laboratoire Central d'Analyses Médicales,
CHU Hassan II de Fès, Morocco

Copyright © 2017 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Haemophilus influenzae*, holds a dominating role in the low respiratory infections. These infections constitute a real problem of public health especially because of the appearance these last years of resistant strains questioning the classic antibiotic treatment. This resistance mainly concerns betalactamins, in particular aminopenicillins.

A retrospective study was made over a period of 5 years (September 2011-, 2016) with the aim of establishing the epidemiological profile of the low respiratory infections to *H. influenzae*, determining the resistance to antibiotics of this germ to guide better the therapeutic and preventive strategies. The identification was based on the requirements in factors X and V and the production of betalactamases was looked for by means of the cefinase.

During the period of study, 123 tree strains were isolated among which 73 % resulted from intensive care units and from pneumology. The production of betalactamases for all the isolated tree strains was 31 %.

Resistant strains in the amoxicillin by production of betalactamase were sensitive to the association clavulanic amoxicillin-acid in 28 % of the cases. The resistance in the other antibiotics was 16 % in the trimethoprim sulfamethoxazole, 4.8 % in fluoroquinolones and 2.5 % in tetracyclines. No resistance in cephalosporins 3rd generation was observed.

KEYWORDS: *Haemophilus*; respiratory infections; sensibility.

RÉSUMÉ: *Introduction:* *Haemophilus influenzae*, tient un rôle prépondérant dans les infections respiratoires basses. Ces infections constituent un réel problème de santé publique surtout du fait de l'apparition ces dernières années de souches résistantes remettant en cause le traitement antibiotique classique. Cette résistance intéresse essentiellement les bétalactamines notamment les aminopénicillines.

Objectif de l'étude: Etablir le profil épidémiologique des infections respiratoires basses à *H. influenzae*, déterminer la résistance aux antibiotiques de ce germe afin de mieux guider les stratégies thérapeutiques et préventives.

Matériel et méthodes: Une étude rétrospective a été effectuée sur une période de 5 ans (Septembre 2011- Septembre 2016). L'identification était basée sur les exigences en facteurs X et Vet la production de bétalactamases était recherchée à l'aide de la céfinase.

Résultats: Au cours de la période d'étude, 123 souches ont été isolées dont 73% provenaient des services de réanimation et de pneumologie. La production de bétalactamases pour l'ensemble des souches isolées était de 31%. Les souches résistantes à l'amoxicilline par production de bétalactamase étaient sensibles à l'association amoxicilline-acide clavulanique dans 28% des cas. La résistance aux autres antibiotiques était de 16% au triméthoprime– sulfaméthoxazole, 4.8% aux fluoroquinolones et 2.5% aux tétracyclines. Aucune résistance aux céphalosporines 3^{ème} génération n'a été observée.

MOTS-CLEFS: *Haemophilus*; infections respiratoires; sensibilité.

1 INTRODUCTION

Les infections des voies respiratoires basses (IRB) sont des maladies très fréquentes avec une incidence annuelle estimée à 44 pour 1 000 adultes [1]. Si on ne prend en compte que celles qui ont donné lieu à un recours aux soins ou à une interruption d'activité on observe, 12,5 IRB pour 100 adultes par an, soit 44,8% de l'ensemble des IRB [2]. Elles demeurent ainsi en dépit des progrès de l'antibiothérapie, un problème de santé publique majeur, par leur fréquence, leur morbidité, leur mortalité et leur coût socioéconomique. La prise en charge de ces infections est très difficile à cause d'une part, des nombreux facteurs de risque et d'autre part, de l'absence de corrélation entre la symptomatologie clinique et le germe en cause [3]. L'*Haemophilus* est au premier rang des agents pathogènes en cause. Ce bacille à Gram négatif, polymorphe, souvent coccobacillaire, aérobic et anaérobic facultatif, non sporulé et parfois capsulé, exige comme facteurs de croissance l'hémine et le NAD. C'est une espèce dont la présence normale au niveau des voies respiratoires supérieures conditionne le pouvoir pathogène. Cette bactérie, qui existe sous une forme capsulée et non capsulée, est responsable de différentes infections plus particulièrement localisées au niveau des voies respiratoires supérieures et inférieures et de la sphère ORL tant chez l'enfant que chez l'adulte, pouvant être responsable de manifestations invasives et non invasives. Ce travail a pour but d'apprécier les caractéristiques épidémiologiques des souches d'*Haemophilus* isolées lors des infections broncho-pulmonaires et de déterminer la sensibilité de ces souches à différentes familles d'antibiotiques.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 SOUCHES BACTÉRIENNES

Notre étude a porté sur cent vingt-trois souches non répétitives d'*Haemophilus* isolées au laboratoire de microbiologie du CHU Hassan II de Fès durant une période de cinq ans (Septembre 2011 - Septembre 2016) et issues de divers prélèvements pulmonaires (examen cyto bactériologique des crachats, prélèvement distal protégé et lavage broncho-alvéolaire). Ces souches provenaient de patients hospitalisés et consultants à l'hôpital.

2.2 IDENTIFICATION DES SOUCHES

Elle était fondée sur l'aspect des colonies sur gélose chocolat enrichie en Polyvitex, les caractères biochimiques (galerie API NH) et l'exigence en deux facteurs de croissance: Facteur V et Facteur X.

2.3 ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

L'antibiogramme a été réalisé par la technique de diffusion sur gélose au sang cuit. L'inoculum utilisé était équivalent à 10^6 UFC/ml selon les recommandations du CA-SFM [4]. Les résultats ont été interprétés selon les diamètres critiques préconisés par le CA-SFM [4]. La production de bêta lactamases a été recherchée systématiquement pour toutes les souches en utilisant le disque de céfinase (BioMérieux1).

3 RESULTATS

Nous avons travaillé sur un collectif de 123 souches d'*Haemophilus*. L'espèce *H. influenzae* a dominé le profil épidémiologique avec 91% tandis que 9% des souches appartenaient à l'espèce *H. parainfluenzae*. La répartition des souches en fonction de la nature du prélèvement est présentée dans le (Tableau I).

Nous avons observé que les services de Pneumologie et de Réanimation ont généré plus des deux tiers des demandes d'analyses ayant un résultat positif représentant respectivement 40% et 35% (figure 1).

Tableau 1: Répartition des prélèvements positifs

Type d'examen	Nombre de prélèvements positifs	%
ECBC	75	61%
Lavage broncho-alvéolaire	8	7%
Prélèvement distal protégé	40	32%

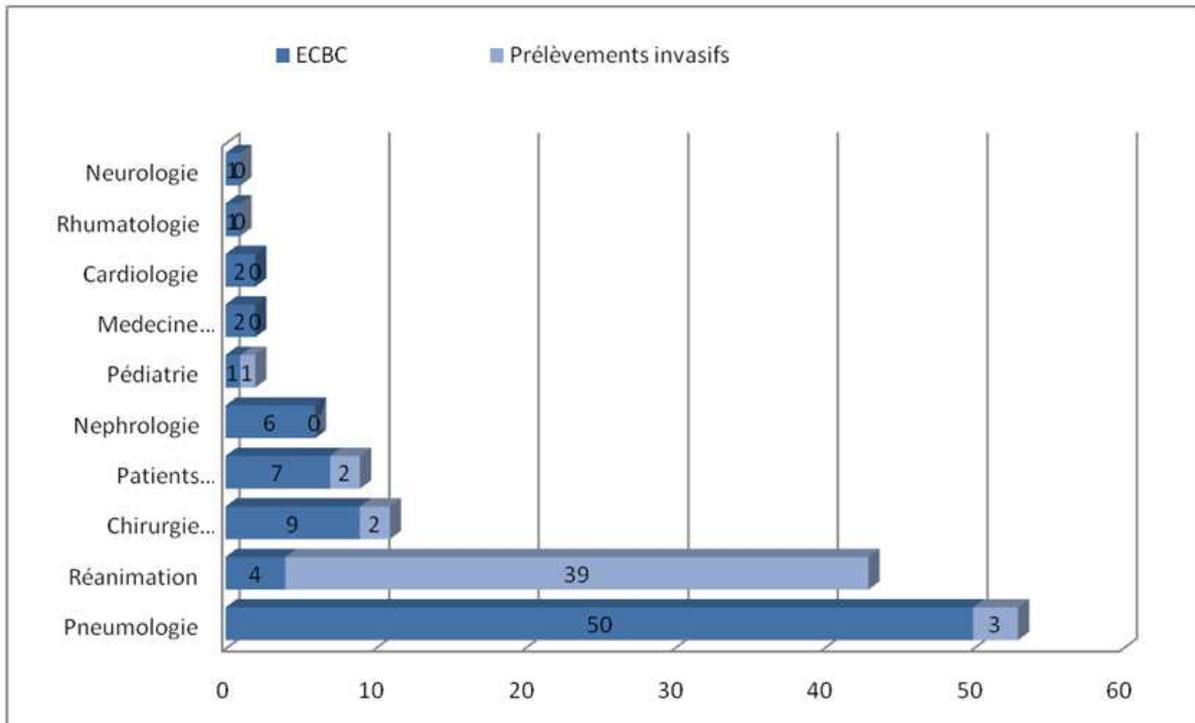


Figure 1: Taux de positivité des prélèvements respiratoires en fonction du service prescripteur

L'âge moyen de la population étudiée était de 49.6 ans avec une prédominance masculine.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré que 31% des souches étaient résistantes à l'amoxicilline par production de pénicillinases. L'activité de l'amoxicilline a été restaurée en présence d'acide clavulanique dans 28% des cas. Les céphalosporines de 3e génération étaient actives sur la totalité des isolats. En ce qui concerne les autres familles d'antibiotiques, la résistance au triméthoprime– sulfaméthoxazole, aux fluoroquinolones et aux tétracyclines était respectivement : 16%, 4.8 % et 2.5% (Figure2).

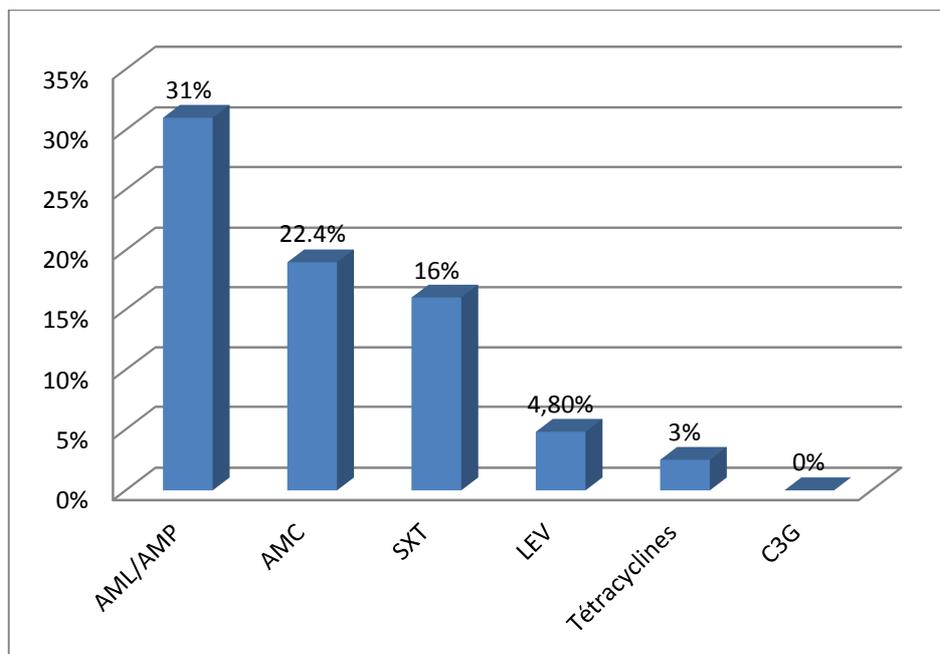


Figure 2: Résistance aux antibiotiques des souches d'Haemophilus

4 DISCUSSION

Les prélèvements pulmonaires malgré leur variété, peuvent intéresser différentes catégories de patients, quelque soit leur âge et leur sexe. Ainsi notre étude rétrospective rapporte 123 prélèvements respiratoires positifs à *Haemophilus* émanant essentiellement des services de pneumologie (43%) et de réanimation (35%). Ceci s'explique par le profil de recrutement des patients qui y sont pris en charge. Dans le cas de la pneumologie, il s'agit potentiellement de patients atteints d'infections respiratoires sévères ou non, aiguës ou chroniques. Dans le cas de la réanimation, il s'agit de patients hospitalisés pour des infections respiratoires sévères ou de patients sujets à des complications respiratoires infectieuses de la prise en charge telles que les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique. Ces patients sont en leur majorité du sexe masculin (65%) et la moyenne d'âge est de 49.6 ans, ce qui reflète les résultats de Luong DC et coll., (59,8%) et Puig C et coll., (69,6%) [5,6].

H.influenzae est une des espèces bactériennes les plus fréquemment impliquées dans les infections broncho-pulmonaires. Les bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus souvent utilisés dans le traitement de ces infections. Cependant, différents mécanismes de résistance à ces derniers ont été décrits [24] dont le plus fréquent est la production de bêta-lactamases. La première souche d'*H.influenzae* productrice de ces enzymes a été décrite en 1972. Depuis, ces souches se sont multipliées et ont posé des problèmes thérapeutiques [7]. Dans notre étude, le taux de souches productrices de bêta-lactamases est resté stable durant les cinq ans d'étude à environ 30%. Ce taux de résistance est nettement plus élevé que ceux rapportés en Allemagne (0%) [8], au Japon (12 à 13%) [9], en Italie (12,5%), en Angleterre (16%) [8,10] ou en Chine (<20%) [11] et rejoint les taux rapportés en Espagne (plus de 30%)[8, 10,12]. Par ailleurs, l'adjonction d'inhibiteur des β -lactamases, tel que l'acide clavulanique, à certaines aminopénicillines rend très actives ces molécules contre les souches productrices de β -lactamases. L'efficacité de cette association est confirmée par nos résultats, avec 77.6% de sensibilité des souches d'*H. influenzae* à l'association amoxicilline+acide clavulanique contre 69% de sensibilité pour l'amoxicilline seule. C'est le cas de l'étude menée par KARLOWSKY et coll. qui avaient trouvé 9 souches β -lactamases positives, résistantes à l'amoxicilline mais toutes sensibles à l'association amoxicilline + acide clavulanique [13]. Les céphalosporines de 3^e génération testées ont donné les meilleurs résultats avec 100% de souches sensibles. Ces résultats viennent confirmer les résultats théoriques des études menées par DAGNRA, AKOUA qui attestent que les souches d'*H. influenzae* sont plus sensibles aux céphalosporines de 3^e génération [14,15]. Ces mêmes résultats ont été trouvés dans les études de SY en 1996 et ZAOUÏ en 1998 qui ont montré une excellente activité de la céfotaxime avec 100% de sensibilité [16,17]. Selon une étude française [18], l'activité de l'amoxicilline/acide clavulanique et des céphalosporines de 2^e et 3^e génération n'était pas affectée par la production de β -lactamases. La résistance aux quinolones est restée très faible (4.8%). Au Canada, sur 7566 souches isolées de 1997 à 2002, la sensibilité aux fluoroquinolones est proche de 99,9 %, tout comme sur le continent américain et en Europe, indépendamment de la présence d'un mécanisme de résistance aux β -lactamines [19,20]. A propos de la tétracycline, les résultats que nous avons obtenus sont comparables à ceux de JORGENSEN [21] qui a trouvé un taux de sensibilité de 86%.

Le sulfaméthoxazole-triméthoprimes est non réactif sur les souches puisque 84 % étaient inhibées. Une étude multicentrique réalisée en Europe et aux USA a observé une résistance de 2,5 % au cotrimoxazole [22]. Ce même taux a été observé par HERODIAS [23].

5 CONCLUSION

H influenzae reste toujours une bactérie d'actualité. Sa présence normale au niveau de la flore des muqueuses des voies respiratoires le met en bonne place pour passer du stade de colonisation à celui d'infection lorsque les défenses locales sont affaiblies de façon aiguë ou chronique. Les résultats de cette étude permettent de fournir des données épidémiologiques récentes sur *H. influenzae* ainsi que sur la sensibilité d'un grand nombre de souches isolées aux différentes classes d'antibiotiques. La production de bêta-lactamases, qui inactive principalement les aminopénicillines, est le mécanisme de résistance le plus fréquent chez *H. influenzae* d'où la nécessité de surveiller en permanence l'évolution de la sensibilité ce germe aux antibiotiques les plus fréquemment utilisés ainsi que de prendre des mesures capables de freiner, voire d'inverser la progression des résistances bactériennes aux antibiotiques.

REFERENCES

- [1] Macfarlane J, Holmes W, Gard P, Macfarlane R, Rose D, Weston V, Leinonen M, Saikku P, Myint S : Prospective study of the incidence, etiology and outcome of adult lower respiratory tract illness in the community. *Thorax* 2001, 56: 109-14.
- [2] Le Fur P, Serment C : Broncho-pneumopathies aiguës et antibiothérapie en 1992. CREDES Mars 1995.
- [3] CHIDIAC C.- Révision de la IV^e conférence de consensus en thérapeutique anti-infectieuse de la société de pathologie infectieuse de langue française (SPILF) *Méd. Mal. Infect.*, 2001, 31 : 269-301.
- [4] Soussy C, Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie. Communiqué. 2003.
- [5] Luong DC, Ishiwada N, Takeda N, Kohno Y. Serotypes of *Haemophilus influenzae* strains isolated from pediatric patients with respiratory tract infections. *Tohoku J Exp Med.* 2004; 202:245–54.
- [6] Puig C, Calatayud L, Marti S, Tubau F, Garcia-Vidal C, Carratala J, et al. Molecular epidemiology of nontypeable *Haemophilus influenzae* causing community-acquired pneumonia in adults. *PLoS One.* 2013;8:e82515.
- [7] Cohn R, Dabernat H, Varon E, Bingen E, Geslin P. Résistance de *H. influenzae* responsable d'infections des voies respiratoires. *Med Mal Infect* 1992;22:87–94.
- [8] The European Antimicrobial Resistance Surveillance System. www.rivm.nl/earss/database/.
- [9] Song JH, Oh WS, Kang CI, et al; Asian Network for Surveillance of Resistant Pathogens Study Group. Epidemiology and clinical outcomes of community-acquired pneumonia in adult patients in Asian countries: a prospective study by the Asian network for surveillance of resistant pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;31(2):107-14.
- [10] Gracia M, Díaz C, Coronel P, et al. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* isolates in eight Central, East and Baltic European countries in 2005-06: results of the Cefditoren Surveillance Study. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61(5):1180-1.
- [11] Wang A, Yu S, Yao K, Zhang W, Yuan L, Wang Y, Wei J, Shen X, Yang Y. Antimicrobial susceptibility of *Haemophilus influenzae* strains and antibiotics usage patterns in pediatric outpatients: results from a children's hospital in China (2000-2004). *Pediatr Pulmonol.* 2008;43(5):457-62.
- [12] Srifuengfung S, Chayakulkeeree M, Chokeyphaibulkit K, Tribuddharat C. Five-year study of antimicrobial susceptibility and beta-lactamase production in *Haemophilus influenzae*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2007;38(4):732-6.
- [13] KARLOWSKY J.A., CRITCHLEY IAN A., BLOSSERMIDDLEYTON. Antimicrobial surveillance of *Haemophilus influenzae* in the United States during 2000-2001 leads to detection of clonal dissemination of a betalactamase negative and ampicillin resistant strain. *JCM*, Vol. 40 ; N°3 ; 2002, p 1063-1066.
- [14] Dagnra Ay., Tigousson S., Prince David M. Prévalence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des méningites. *Méd. Mal. Infect.* 2000; 30 291-294.
- [15] Akoua Koffi C., Anghui H., Faye-Kette H., Eholie S., Trimite M., Dosso M., Kodio A. Aspects bactériologiques des méningites purulentes au CHU de Youpouguon 1995-1998. *Méd. Mal. Infect.* 2001; 31 : 475-481.
- [16] SY K.T. Souches bactérienne et résistance aux antibiotiques. Données actuelles au CHU A. Le DANTEC de Dakar. *Th. Pharm*;1996, N°55, p154.
- [17] ZAOUÏ N. Etude comparée de la sensibilité aux antibiotiques de souches d'*Haemophilus influenzae* et de *Streptococcus pneumoniae* isolées au Maroc et au Sénégal. *Th. Pharm.* 1998, N°29, p101.
- [18] Goldstein (F.W.), Pean (Y.) L Guerrier (M.L.) et al.- Activité des antibiotiques sur *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Branhamellacatarrhalis* isolés d'infections respiratoires et ORL en France: résultats d'une enquête multicentrique. *Méd. Mal. Infect.*, 1998, 28: 253-257.
- [19] Zhanel GG, Palatnick L, Nichol KA, Low DE, Hoban DJ, CROSS Study Group. Antimicrobial resistance in *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* respiratory tract isolates: results of the Canadian respiratory organism susceptibility study, 1997 to 2002. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1875–81.
- [20] Johnson DM, Sader HS, Fritsche TR, Biedenbach DJ, Jones RN. Susceptibility trends of *Haemophilus influenzae* and *Moraxella catarrhalis* against orally administered antimicrobial agents: five-year report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 47:373–6.
- [21] Jorgensen (J.H.), Howell (A.W.), Maher (L.A.). Quantitative antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae* by using E-test. *J. Clin. Microbio/.*, 1991, 29 (10) : 109-114.
- [22] DOERN (G.V.) And The Alexander Project Collaborative Group. Antimicrobial resistance among lower respiratory tract isolates of *Haemophilus influenzae*: results of a 1992-93 Western Europe and USA collaborative surveillance study. *J. Antimicrob. Chemother.*, 1996, 38 suppl. A: 59-69.
- [23] Herodias (N.D.H.). Détermination de la sensibilité de souches d'*Haemophilus influenzae* par E-test et étude des variations de la sensibilité à l'association Amoxicilline + Acide clavulanique. *Th. Pharm.*: Dakar, 1996; 56.