

## Sensibilité aux antibiotiques et supports génétiques de la résistance des souches de *Shigella flexneri* isolées à Dakar de 2001 à 2010

### Sensitivity to antibiotics and genetic support to resistance of *Shigella flexneri* strains isolated in Dakar from 2001 to 2010

B. Sambe-Ba · A. Seck · A.A. Wane · N.K. Fall-Niang · A. Gassama-Sow

Reçu le 11 novembre 2012 ; accepté le 12 février 2013  
© Société de pathologie exotique et Springer-Verlag France 2013

**Résumé** Cent quatre vingt-dix (190) souches de *Shigella flexneri* provenant du Centre national sénégalais des entérobactéries sis à l'Institut Pasteur de Dakar, isolées entre 2001 et 2010 ont été étudiées. L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a été réalisée par antibiogramme. La détection et la caractérisation des intégrons et des gènes de résistance a été faite par amplification génique en utilisant des amorces spécifiques et séquençage. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré des taux de résistance élevés vis-à-vis des cyclines 95 %, du cotrimoxazole 60 %, de l'ampicilline 55 %. Dix-neuf souches résistaient aux céphalosporines (10 %). Deux souches étaient résistantes aux quinolones et une souche résistait à l'imipénème. L'étude du support génétique de ces résistances a permis de détecter les gènes *tetB*, *dfr*, *cat*, *bla<sub>tem1</sub>*, *bla<sub>oxa30</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>*, *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*. Les intégrons de classe 1 étaient majoritaires suivis des intégrons de classe 2. Les cassettes *bla<sub>oxa30</sub>*, *aadA1/aadA2*, *dfrA1*, *dfrA7* ont été retrouvées sur les intégrons de classe 1. Les intégrons de classe 2 présentaient trois types d'organisation de cassettes. Aucun intégron de classe 3 n'a été détecté. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a montré, qu'en plus des résistances classiques observées chez les souches de *S. flexneri*, des résistances vis-à-vis des céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération et des fluoroquinolones émergent. Ces molécules doivent être utilisées avec prudence dans le traitement des shigelloses.

**Mots clés** Intégron · Multirésistant · *Shigella flexneri* · Hôpital · Dakar · Sénégal · Afrique intertropicale

**Abstract** Diarrheal diseases remain a leading cause of death with 14.7 million deaths in 2001 and 26% of global

mortality worldwide according to WHO. *Shigella* species are prevalent in tropical areas; they are present all the year, with epidemic outbreaks in rainy season. Between 2001 and 2010 one hundred ninety (190) strains of *Shigella flexneri* isolated from National Senegalese Enterobacteriaceae Center located at the Pasteur Institute in Dakar were studied. Susceptibility was performed by antibiogram following the CASFM recommendations. Detection and characterization of integrons and resistance genes was done by PCR using specific primers and sequencing. Antibiotic susceptibility showed high percentage resistance to tetracycline: 95%, cotrimoxazole 60%, ampicillin 55%. Nineteen strains were cephalosporin resistant (10%). Two isolates were resistant to quinolones and one was imipenem resistant. Genes *tet*, *dfr*, *cat*, *bla<sub>tem1</sub>*, *bla<sub>oxa30</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *bla<sub>CTX-M</sub>*, *bla<sub>kpc</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>*, *gyrA*, *gyrB*, *parC* and *parE* were detected on isolates. Integrons harbored genes resistance. The class 1 integron predominated followed by class 2 integron. Genes *bla<sub>oxa30</sub>*, *aadA1/aadA2*, *dfrA1*, *dfrA7* were found on class 1 integron. Class 2 integron showed three different types cassettes. No class 3 integron was detected. Genes *dfrA1*, *dfrA7*, *sat*, and *aadA1* were harbouring by integrons. Antibiotic susceptibility showed that *Shigella flexneri* strains are resistant to the first line drugs used to treat shigellosis in Senegal. Resistance to 3rd generation of cephalosporins and fluoroquinolones emerged and is of great concern. These molecules must be used with caution in the treatment of shigellosis.

**Keywords** Integron · Multidrug resistant · *Shigella flexneri* · Hospital · Dakar · Sénégal · Sub-Saharan Africa

## Introduction

Les shigelloses sont répandues dans toutes les régions du globe, mais elles sévissent à l'état quasi-endémique dans

B. Sambe-Ba · A. Seck · A.A. Wane · N.K. Fall-Niang · A. Gassama-Sow (✉)  
Institut Pasteur de Dakar, 36, avenue Pasteur,  
BP 220, Dakar, Sénégal  
e-mail : gassama@pasteur.sn

les régions intertropicales (Asie du Sud-Est, Afrique équatoriale, occidentale et Amérique centrale). Selon l'OMS, environ 250 millions de cas de shigellose sont déclarés annuellement causant 600 000 décès [21]. En Afrique, 15 pays connaissent des flambées de shigellose qui touchent 30 % de la population et 50 % des enfants [21]. En Afrique subsaharienne, les infections à *Shigella* occupent une place prépondérante dans les étiologies des diarrhées et gastroentérites : elles représentent 46 % au Gabon [2], 42 % au Burkina-Faso, 13 % au Mali. Au Sénégal, les infections à *Shigella* s'observent chez les patients de tout âge, mais le plus grand nombre de cas concerne les enfants de 1 à 5 ans [28]. A Dakar, les shigelles représentent 24,8 % des agents entéropathogènes et 4,3 % des causes de diarrhées [6]. *S. flexneri* est l'espèce la plus fréquente dans les pays en développement [22] ; elle est responsable de la forme endémique de la maladie, alors que *Shigella dysenteriae* sérotype 1 cause des épidémies brutales. Cette espèce réputée très virulente engendre des symptômes graves à l'origine du fort taux de mortalité. La première vague d'épisodes épidémiques de *Shigella dysenteriae* sérotype 1 signalée en Afrique a été notée dans la région des Grands Lacs en 1993-1994, suivie de l'épidémie de Côte d'Ivoire en 1998 [2]. L'espèce *Shigella sonnei* est prévalente dans les pays industrialisés [18]. Dans les pays en développement, l'épidémiologie de *Shigella* s'est modifiée au cours de cette dernière décennie. Ainsi, au Sénégal, on note une prédominance de *Shigella flexneri*, aussi bien en zone rurale qu'en zone urbaine [6], tandis que *Shigella dysenteriae* est en recul. *Shigella flexneri* apparaît le plus souvent résistant à tous les antibiotiques dits de première ligne : ampicilline, tétracycline, triméthoprim-sulfaméthoxazole, chloramphénicol [7]. L'acide nalidixique et la ciprofloxacine constituent à ce jour les antibiotiques recommandés pour le traitement des shigelloses chez l'adulte [16]. Cependant, on note une résistance croissante des souches de *Shigella flexneri* aux antibiotiques fréquemment prescrits à Dakar [23]. Cette résistance peut être liée à l'acquisition de plasmides ou de nouveaux éléments génétiques appelés intégrons. Les intégrons sont des éléments génétiques susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques. Ils sont constitués d'une région 5' conservée contenant un gène *intI* qui code une intégrase, d'une région variable qui héberge une ou plusieurs cassettes et d'une région 3' qui n'est pas présente chez toutes les classes d'intégrons. Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes sous forme de cassettes. Les cassettes sont des éléments mobiles capables d'être intégrés ou excisés par un mécanisme de recombinaison de site spécifique médié par une intégrase [25,29].

L'objectif de cette étude est d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de *S. flexneri* isolées sur une période de dix ans, de rechercher et de caractériser les supports génétiques des résistances observées.

## Matériels et méthodes

### Souches bactériennes

Notre étude a porté sur 190 souches de *Shigella flexneri* isolées entre 2001 et 2010 (109 souches de 2001 à 2003, 34 souches de 2004 à 2006, 26 souches de 2007 à 2008 et 21 souches de 2009 à 2010) provenant du Centre national sénégalais des entérobactéries (CNSE) sis à l'Institut Pasteur de Dakar.

### Étude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a été réalisée par la technique de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CASFM 2010) [3].

Les critères d'interprétation ont été déterminés en mesurant les diamètres d'inhibition de la souche testée et suivant les normes du CASFM.

### Extraction d'ADN génomique

Il s'agit d'une extraction chimique utilisant un kit (Qiamp DNA Mini Kit Cat. 51304 Qiagen) prêt à l'emploi. C'est une méthode rapide et fiable. L'ADN obtenu est visualisé sur gel d'agarose à 1 % avant d'être conservé à -20°C.

### Détection des gènes de résistance

A partir des différents phénotypes observés, des gènes de résistance ont été recherchés. Il s'agit des gènes *bla<sub>TEM</sub>*, *bla<sub>OXA</sub>*, *bla<sub>SHV</sub>* codant la résistance aux aminopénicillines, *bla<sub>CTX-M</sub>* codant la résistance aux céphalosporines, *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>* et *bla<sub>IMP</sub>* codant la résistance aux carbapénèmes, *tet* codant la résistance aux tétracyclines, *cat* au chloramphénicol [17], *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE* [12] codant la résistance aux fluoroquinolones.

L'amplification génique s'est faite dans un thermocycleur (2720 thermal Cycler Applied Biosystems). La mise en évidence des amplicons a été réalisée après migration électrophorétique sur gel d'agarose à 1 %.

### Détection et caractérisation des intégrons

La détection des intégrons a été réalisée par la technique d'amplification génique [25] avec des amorces spécifiques des gènes de l'intégrase des différentes classes d'intégrons 1, 2 et 3. La caractérisation des intégrons de classe 1 a été réalisée par amplification génique et par séquençage [10]. Le séquençage a été fait avec le protocole Big Dye terminator sur le séquenceur ABI PRISM 3100-Avant Genetic Analyser et la recherche d'homologie des séquences réalisée grâce au

programme de recherche BLASTN et BLASTX au National Center for Biotechnology Information (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

La caractérisation des intégrons de classe 2 a été faite essentiellement par amplification génique de la région variable de l'intégron, ce qui a permis d'identifier les différentes cassettes.

## Résultats

### Sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité a montré que les souches avaient des taux de résistance différents vis-à-vis des antibiotiques. Les bactéries étaient résistantes principalement à la tétracycline (95 %), au chloramphénicol (61 %) et au cotrimoxazole (52 %). Les souches présentaient des taux de résistance élevés aux aminopénicillines (55 %). Certaines d'entre elles étaient résistantes aux céphalosporines de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> génération mais à de faibles pourcentages (Fig. 1). Nous avons noté des résistances aux quinolones, aux fluoroquinolones (deux souches isolées en 2008 et en 2010) et aux carbapénèmes (une souche résistante à l'imipénème isolée en 2009). Trois grands phénotypes de résistance ont été observés (Tableau 1).

Une augmentation du nombre de souches résistantes a été notée de 2001 à 2007 avec des pics en 2004, 2005 et 2006. En 2007, il y a une diminution de la résistance des souches au chloramphénicol et à l'ampicilline. De 2009 à 2010, on note une résistance élevée et stable au cotrimoxazole et une diminution de la résistance au chloramphénicol (Fig. 2). A partir de 2007, la diminution de la résistance aux antibiotiques classiques pourrait être due aux faibles effectifs annuels de souches de *Shigella flexneri* obtenus.

### Détection des intégrons

Sur les 190 souches étudiées, 131 avaient un intégron soit un pourcentage de 69 %, avec une majorité d'intégrons de classe 1 (55,2 %). Les intégrons de classe 2 ont été détectés chez 24 souches soit un pourcentage de 12,6 %. Quatorze souches hébergeaient à la fois les intégrons de classe 1 et 2 et représentaient un pourcentage de 7,4 % ; cependant nous avons noté des souches multirésistantes et chez lesquelles aucun intégron n'a été détecté (29 %). Aucun intégron de classe 3 n'a été détecté.

### Détection des gènes de résistance

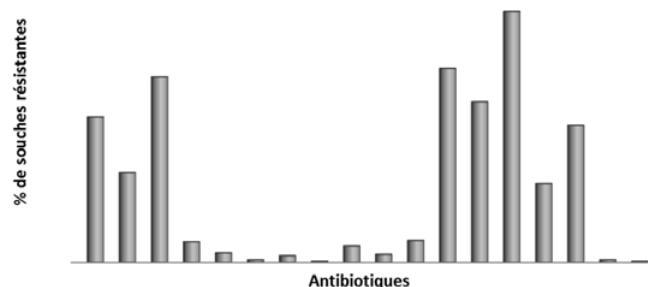
L'analyse des antibiogrammes a permis de mettre en évidence une augmentation du nombre de souches résistantes à la tétracycline, au chloramphénicol, aux pénicillines, aux aminosides, aux céphalosporines de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> générations. Les

gènes *bla<sub>oxa30</sub>*, *bla<sub>tem1</sub>* et *bla<sub>shv</sub>* codant la résistance aux aminopénicillines ont été retrouvés chez 86 % des souches. Le gène du groupe *bla<sub>CTX-MI</sub>* a été retrouvé chez 4 % des souches. Deux souches hébergeant à la fois les gènes *bla<sub>CTX-MI</sub>* et *bla<sub>KPC</sub>* codant respectivement la résistance aux céphalosporines de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> générations et aux carbapénèmes ont fait leur apparition en 2010. Une souche isolée en 2009 était résistante à l'imipénème et les gènes *bla<sub>CTX-MI</sub>*, *bla<sub>KPC</sub>* et *bla<sub>IMP</sub>* étaient retrouvés sur cette souche en plus du gène *dfrA7* porté par l'intégron de classe 1. Le gène *bla<sub>VIM</sub>* n'a pas été retrouvé. Le gène *cat* codant la résistance au chloramphénicol a été retrouvé chez 45 souches (24 %). Les gènes *tetB* ont été retrouvés chez 107 souches soit un pourcentage de 56 %. Les gènes *tetA*, *tetC*, *tetG* n'ont pas été retrouvés. Les gènes *gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE* ont été retrouvés chez les deux souches résistantes aux quinolones. Par contre les gènes *qnr* et *qep* codant la résistance par transfert plasmidique n'ont pas été retrouvés. La caractérisation des intégrons de classe 1 a permis d'identifier les gènes *bla<sub>oxa30</sub>*, *aadA1/aadA2*, *dfr* (*dfrA1*, *dfrA7*) codant la résistance aux aminopénicillines, à la streptomycine et spectinomycine et au triméthoprime. Pour les intégrons de classe 2 nous avons retrouvé trois types : l'intégron de classe 2 classique (*dfrA1-sat-aadA1-orfX*), et deux autres types d'intégrons avec des délétions de la cassette *aadA1* ou *sat* (Tableau 1).

La cassette *dfrA1* a été retrouvée en majorité dans les intégrons. Les cassettes *dfrA1* et *aadA1* étaient retrouvées aussi bien chez les intégrons de classe 1 que de classe 2.

## Discussion

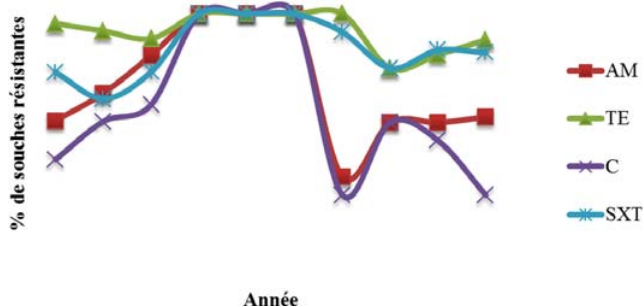
La surveillance de la résistance de *Shigella flexneri* à l'ampicilline, au cotrimoxazole, à la tétracycline et au



**Fig. 1** Profil de résistance des souches de *Shigella flexneri* vis-à-vis des antibiotiques testés / Resistance profile of *Shigella flexneri* strains in regard to tested antibiotics AM : ampicilline ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; CEF : céfotaxime ; FOX : céfoxitine ; CTX : céfotaxime, CAZ : ceftazidime ; IMP : imipénème ; AN : amikacine ; GM : gentamicine ; TM : tobramycine ; S : streptomycine ; C : chloramphénicol ; TE : tétracycline ; SSS : sulfamides forts ; SXT : triméthoprime-sulfaméthoxazole ; NA : acide nalidixique ; CIP : ciprofloxacine

<b>Tableau 1</b> Résultat du phénotype de résistance, type d'intégrons et gènes de résistance / <i>Result of resistance phenotype, type of integrons and resistance genes.</i>						
Nombre de souches (N)	Phénotype de résistance	Gène <i>intI</i> région 5'CS	Région 3'CS (taille en pb)	Déterminants génétiques de la résistance		
				Intégrons	Gènes de résistance	
N= 49	AM <sup>R</sup> AMC <sup>R</sup> TIC <sup>R</sup> sss <sup>R</sup>	<i>Int1</i>	700	<i>dfrA7</i>	<i>bla<sub>oxa30</sub></i> , <i>aadA1</i> ,	
N= 92	SXT <sup>R</sup> TE <sup>R</sup>	<i>Int2</i>	2500	<i>dfrA1-sat- aadA2-orfx</i>	<i>bla<sub>tem1</sub></i>	
		<i>Int1</i>	700	<i>dfrA1</i>	<i>bla<sub>oxa30</sub></i> , <i>aadA1</i>	
N= 13	AM <sup>R</sup> AN <sup>R</sup> TM <sup>R</sup> GM <sup>R</sup>	<i>Int2</i>	1500	<i>dfrA1-sat-aadA2</i>	<i>tetB</i> , <i>catA1</i>	
		<i>Int1</i>	700	<i>dfrA1</i>	<i>bla<sub>oxa30</sub></i> , <i>aadA1</i>	
N=11	AM <sup>R</sup> CEF <sup>R</sup> FOX <sup>R</sup> CTX <sup>R</sup> CAZ <sup>R</sup>	<i>Int2</i>	1000	<i>dfrA1-sat-orfx</i>	<i>bla<sub>tem1</sub></i> , <i>bla<sub>shv</sub></i>	
		<i>Int 1</i>	700	<i>dfrA1</i>	<i>aadA2</i> , <i>bla<sub>tem1</sub></i>	
N=8	AM <sup>R</sup> CEF <sup>R</sup> FOX <sup>R</sup> CTX <sup>R</sup> CAZ <sup>R</sup>	<i>Int 1</i>	700	<i>dfrA1</i>	<i>bla<sub>CTX-M1</sub></i>	
N=1	AM <sup>R</sup> AMC <sup>R</sup> TIC <sup>R</sup> IMP <sup>R</sup>	<i>Int2</i>	700	<i>dfrA7</i>	<i>bla<sub>oxa30</sub></i> , <i>aadA1</i> , <i>bla<sub>tem1</sub></i> , <i>bla<sub>CTX-M1</sub></i> , <i>bla<sub>KPC</sub></i> , <i>bla<sub>IMP</sub></i>	
		<i>Int1</i>				
N=2	sss <sup>R</sup> SXT <sup>R</sup> TE <sup>R</sup> S <sup>R</sup> C <sup>R</sup>	<i>Int2</i>	2500	<i>dfrA1-sat- aadA2-orfx</i>	<i>tetB</i> , <i>catA1</i>	
N=1	AM <sup>R</sup> AMC <sup>R</sup> TIC <sup>R</sup> NA <sup>R</sup> CIP <sup>R</sup>	<i>Int1, Int2</i>	2500	<i>dfrA1-sat- aadA2-orfx</i>	<i>gyrA</i>	
N= 11	AM <sup>R</sup> AMC <sup>R</sup> TIC <sup>R</sup> sss <sup>R</sup> SXT <sup>R</sup> TE <sup>R</sup> C <sup>R</sup> S <sup>R</sup> TM <sup>R</sup> GM <sup>R</sup>	<i>Int1, Int2</i>	2500	<i>dfrA1-sat- aadA2-orfx</i>	<i>bla<sub>tem1</sub></i> , <i>catA1</i>	

R: phénotype résistant ; *Int1*: intégron de classe 1 ; *Int2*: intégron de classe 2 ; Colonne intégrons : *dfrA1*, *dfrA7*, *sat*, *aadA2*, *orfx*: gènes portés par les intégrons (séquençage des cassettes) ; Colonne gènes de résistance : gènes non portés par les intégrons et présents chez *Shigella flexneri* (PCR classique).



**Fig. 2** Évolution de la résistance des souches de *Shigella flexneri* vis-à-vis des antibiotiques les plus utilisés / *Evolution of the resistance of Shigella flexneri* strains in regard to the most commonly used antibiotics

chloramphénicol dans les pays subtropicaux est toujours d'actualité. L'étude des phénotypes de résistance a permis d'identifier des souches pentarésistantes pour la plupart à l'instar de ce qui est observé dans les autres parties du monde [5]. Nous avons aussi retrouvé des souches non résistantes. Les souches étaient en majorité résistantes au cotrimoxazole, à l'ampicilline et aux tétracyclines. Cette forte multirésis-

tance serait due à une forte pression de sélection antibiotique liée à une utilisation très large de ces antibiotiques au Sénégal, à la vente de ces produits en dehors des structures légales et aussi à une automédication anarchique [10]. Quarante vingt quinze pour cent des souches étaient résistantes à la tétracycline. Seul le gène *tetB* était retrouvé. Il a été décrit que les gènes *tetB* étaient prédominants chez les entérobactéries [15]. La résistance simultanée à plusieurs antibiotiques, en particulier l'ampicilline, le chloramphénicol, la tétracycline, et la streptomycine a déjà été décrite chez *Shigella*. Une étude réalisée en Tanzanie a montré que la résistance à l'ampicilline est généralement due à la présence du gène *bla<sub>oxa-1</sub>* [20]. Dans notre étude, nous avons retrouvé le gène *bla<sub>oxa30</sub>* qui dérive du gène *bla<sub>oxa1</sub>* suite à une mutation au niveau de la séquence d'acides aminés du gène, plus précisément du codon 131 (codon AGA remplacé par le codon GGA : Arg / Gly) [27]. L'émergence de la résistance aux céphalosporines de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> génération et aux fluoroquinolones ces trois dernières années serait due à une prescription massive et incontrôlée de ces molécules. Les résultats du séquençage ont montré des mutations chromosomiques uniquement au niveau du gène *gyrA*. Ces mutations seraient à l'origine de ces résistances [19]. Il n'y a pas eu de mutations



au niveau des gènes *gyrB*, *parC* et *parE*. Il a été décrit que les mutations de ces gènes chez les entérobactéries étaient rares [12]. Les quinolones sont des molécules efficaces préconisées dans le traitement de multiples maladies infectieuses. En cas de diarrhée, les céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération et la ciprofloxacine sont les molécules les plus prescrites respectivement chez les enfants et les adultes. L'émergence de la résistance à ces antibiotiques serait due aux utilisations irrationnelles des antibiotiques dans la médecine humaine, mais aussi animale.

Depuis plus d'une décennie, l'utilisation des fluoroquinolones dans le domaine vétérinaire [24] à la fois pour traiter les infections et comme promoteur de croissance expliquerait en partie l'émergence de la résistance. La résistance aux quinolones a été déjà décrite en Asie et dans quelques pays d'Afrique centrale [9]. Au Sénégal, il s'agit d'un phénomène nouveau observé pour la première fois chez des souches de shigelles. Les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être localisés sur le chromosome, mais aussi sur des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les transposons ou les cassettes d'intégrons. Les intégrons de classe 1 étaient prédominants avec un pourcentage de 55,2 % et les souches de *Shigella flexneri* porteuses de l'intégron *intI1* disposaient d'une extrémité 3' conservée. Les intégrons de classe 2 étaient faiblement représentés avec un pourcentage de 12,6 %. Nous n'avons pas détecté d'intégrons de classe 3. Ces résultats viennent confirmer ceux d'études antérieures qui montrent que les intégrons de classe 1 sont majoritairement représentés chez les entérobactéries suivi des intégrons de classe 2 [1,10]. Des souches multirésistantes chez lesquelles aucun intégron n'a été détecté ont été retrouvées (24 %). Ces souches étaient résistantes à l'ampicilline, à la tétracycline et au cotrimoxazole. Les intégrons sont impliqués dans la résistance aux antibiotiques des souches de *Shigella flexneri*, mais la présence des souches résistantes dépourvues d'intégron laisse supposer qu'il existe d'autres mécanismes de dissémination de la résistance [26]. La caractérisation des intégrons de classe 1 a permis de détecter trois types de cassettes : *dfr* (*dfrA1* et *dfrA7*), *bla<sub>oxa30</sub>* et *aadA1/aadA2* retrouvées chez les autres espèces de *Shigella* [9,11]. Des intégrons de classe 1 délétés de la région 3' étaient largement retrouvés (34 souches) ; la plupart d'entre eux étaient associés aux intégrons de classe 2. Ce type d'intégron est localisé sur le transposon Tn 404 [13]. Les intégrons de classe 2 présentaient trois types d'organisation de cassettes : le premier type était l'intégron classique retrouvé sur le transposon Tn7 avec les cassettes *dfrA1-sat-aadA1-orfx* [14]. Le deuxième type d'intégron de classe 2 était *dfrA1-sat-aadA1* ; il a été retrouvé chez 25 % des souches. Ce type d'intégron a été décrit sur le transposon Tn7 et ses dérivés Tn1826 et Tn4132 [11]. Le troisième type était un intégron de classe 2 sur lequel soit la cassette *aadA1* ou *sat* était délétée ; il est donc probable que cette absence soit momentanée et dès que la bactérie est réexposée à nouveau à l'antibiotique, la cassette

est repositionnée par l'intégrase près du promoteur [4]. Quatorze souches hébergeaient à la fois des intégrons de classe 1 et 2. Il a été décrit que la coexistence de ces deux classes d'intégrons laisse supposer qu'ils ont intégré un même gène et confère à ces souches un niveau de résistance élevé [10]. Chez les souches hébergeant les intégrons de classe 1 et 2, la cassette *aadA1* était retrouvée sur les deux intégrons.

## Conclusion

Les résistances sont multiples chez les souches de *Shigella flexneri* et concernent différentes classes d'antibiotiques. Les souches, dans leur majorité (90 %) sont résistantes aux antibiotiques de première ligne utilisés dans le traitement des diarrhées. L'étude des supports génétiques de la résistance aux antibiotiques montre que les intégrons sont largement représentés et jouent un rôle important dans la dissémination de la résistance chez *Shigella flexneri*. La présence des gènes *dfr* et *aadA1*, *cat1*, *bla<sub>oxa30</sub>*, *bla<sub>tem1</sub>*, *bla<sub>shv</sub>*, *tet* montre que les souches sont résistantes à des classes d'antibiotiques variées. La forte multirésistance vis-à-vis de la tétracycline et du cotrimoxazole permet de conclure que ces classes d'antibiotiques ne doivent plus être utilisées dans le traitement de la shigellose au Sénégal. Les quinolones et les céphalosporines restent efficaces dans le traitement des diarrhées, mais l'émergence de la résistance observée au cours de cette étude est préoccupante et nécessite une utilisation rationnelle de ces antibiotiques.

**Conflit d'intérêt :** les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt et reconnaissent tous avoir participé pleinement à ce travail.

## Références

1. Barlow RS, Pemberton JM, Desmarchelier PM, Gobius KS (2004) Isolation and characterization of integron-containing bacteria without antibiotic selection. *Antimicrob Agents Chemother* 48(3):838–42
2. Bonfiglio G, Simporé J, Pignaletti S, et al (2002) Epidemiology of bacterial resistance in gastro-intestinal-pathogens in a tropical area. *Int J Antimicrob Agents* 20(5):387–9
3. Cavallo JD, Chardon H, Chidiac C, et al (2010) Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
4. Collis CM, Hall RM (1995) Expression of antibiotic resistance genes in the integrated cassettes of integrons. *Antimicrob Agents Chemother* 39(1):155–62
5. DeLappe N, O'Halloran F, Fanning S, et al (2003) Antimicrobial resistance and genetic diversity of *Shigella sonnei* isolates from Western Ireland, an area of low incidence of infection. *J Clin Microbiol*. 41(5):1919–24
6. Diallo A, Diop MB, Guèye MM, Etard JF (2001) Investigation d'une épidémie de shigellose en zone rurale au Sénégal. *Cahiers Santé* 11:217–9

7. Dromigny JA, Nabeth P, Juergens-Behr A, Perrier-Gros-Claude JD (2005) Risk factors for antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections in Dakar, Senegal. *J Antimicrob Chemother* 56(1):236–9. Epub 2005 May 12
8. Dubois V, Parizano MP, Arpin C, et al (2007) High genetic stability of integrons in clinical isolates of *Shigella* spp. of worldwide origin. *Antimicrob Agents Chemother* 51(4):1333–40. Epub 2007 Jan 22
9. Frank T, Mbecko JR, Misatou P, Monchy D (2011) Emergence of quinolone resistance among extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the Central African Republic: genetic characterization. *BMC Res Notes* 4:309
10. Gassama-Sow A, Aidara-Kane A, Barraud O, et al (2010) High prevalence of trimethoprim-resistance cassettes in class 1 and 2 integrons in Senegalese *Shigella* spp isolates. *J Infect Dev Ctries* 4(4):207–12.
11. Gassama-Sow A, Diallo MH, Boye CS, et al (2006) Class 2 integron-associated antibiotic resistance in *Shigella sonnei* isolates in Dakar, Senegal. *Int J Antimicrob Agents* 27(3):267–70. Epub 2006 Feb 7
12. Gunell M, Webber MA, Kotilainen P, et al (2009) Mechanisms of resistance in nontyphoidal *Salmonella enterica* strains exhibiting a nonclassical quinolone resistance phenotype. *Antimicrob Agents Chemother* 53(9):3832–6. Epub 2009 Jul 13.
13. Hall RM, Collis CM (1998) Antibiotic resistance in gram-negative bacteria: the role of gene cassettes and integrons. *Drug Resist Updat* 1(2):109–19
14. Hansson K, Sundström L, Pelletier A, Roy PH (2002) IntI2 integron integrase in Tn7. *J Bacteriol* 184(6):1712–21.
15. Hartman AB, Essiet II, Isenbarger DW, Lindler LE (2003) Epidemiology of tetracycline resistance determinants in *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli*: characterization and dissemination of tet(A)-1. *J Clin Microbiol* 41(3):1023–32
16. Haukka K, Siitonen A (2008) Emerging resistance to newer antimicrobial agents among *Shigella* isolated from Finnish foreign travellers. *Epidemiol Infect* 136(4):476–82. Epub 2007 Jun 20
17. Jacoby GA, Munoz-Price LS (2005) The new  $\beta$ -lactamases. *N Engl J Med* 352(4):380–91
18. Kotloff KL, Winickoff JP, Ivanoff B, et al (1999) Global burden of *Shigella* infections: implications for vaccine development and implementation of control strategies. *Bull World Health Organ* 77(8):651–66
19. Lunn AD, Fàbrega A, Sánchez-Céspedes J, Vila J (2010) Prevalence of mechanisms decreasing quinolone-susceptibility among *Salmonella* spp. clinical isolates. *Int Microbiol* 13(1):15–20
20. Navia MM, Capitano L, Ruiz J, et al (1999) Typing and characterization of mechanisms of resistance of *Shigella* spp. isolated from feces of children under 5 years of age from Ifakara, Tanzania. *J Clin Microbiol* 37(10):3113–7
21. OMS (1997) *Weekly Epidemiology Records*. 72:73–8
22. Pan JC, Ye R, Meng DM, et al (2006) Molecular characteristics of class 1 and class 2 integrons and their relationships to antibiotic resistance in clinical isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri*. *J Antimicrob Chemother* 58(2):288–96. Epub 2006 Jun 9
23. Perrier Gros-Claude JD, Dromigny JA, et al (2002), Centre National Sénégalais des Entérobactéries. Rapport d'activité. 22-5.
24. Piddock LJ (2002) Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from humans and food animals. *FEMS Microbiol Rev* 26(1):3–16
25. Ploy MC, Denis F, Courvalin P, Lambert T (2000) Molecular characterization of integrons in *Acinetobacter baumannii*: description of a hybrid class 2 integron. *Antimicrob Agents Chemother* 44(10):2684–8
26. Roy PH (1997) Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries. *Médecine Sciences* 13(8-9): 927–933
27. Siu LK, Lo JY, Yuen KY, et al (2000)  $\beta$ -Lactamases in *Shigella flexneri* isolates from Hong Kong and Shanghai and a novel oxa-1-Like  $\beta$ -Lactamase, oxa-30. *Antimicrob Agents Chemother* 44(8):2034–8
28. Sow AI, Cisse MF, Deggla C, Samb A (1992) Bactériologie des shigelles isolées dans un CHU en zone tropicale. *Dakar Méd* 37(2):127–30.
29. Stockes HW, Hall RM (1989) A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Mol Microbiol* 3(12):1669–83