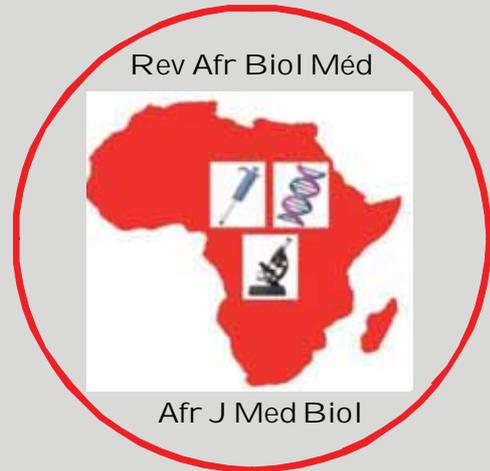


# Revue Africaine de Biologie Médicale

## African Journal of Medical Biology

**HAPPY NEW YEAR  
2023**

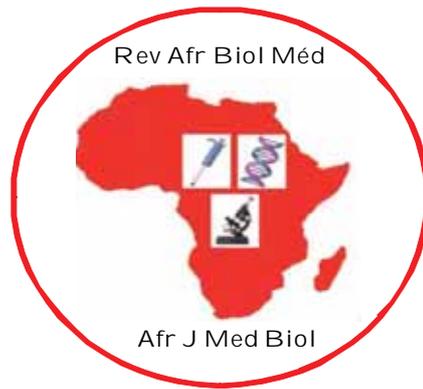


**Rev Afr Biol Med. / Afr J Med Biol.2022;7(18)**  
**ISSN : 2517-8393**

**Tome 8 - Numéro 19**  
**Janvier 2023**

**Bonne Année  
2023**

**WEBSITE / SITE WEB :**  
**[www.revafric-bm.sn](http://www.revafric-bm.sn)**



REVUE AFRICAINE DE  
BIOLOGIE MEDICALE

AFRICAN JOURNAL OF  
MEDICAL BIOLOGY

**ISSN : 2517-8393**

**Contacts :**

**Pour soumettre un article / To submit a manuscript : [profisow3@gmail.com](mailto:profisow3@gmail.com)**

**[soumission@revafric-bm.sn](mailto:soumission@revafric-bm.sn)**

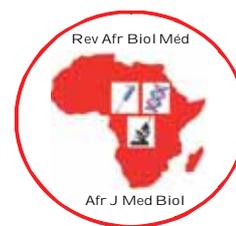
**Pour toute information / For informations :**

**[infos@revafric-bm.sn](mailto:infos@revafric-bm.sn)**

**Rédacteur en Chef / Editor in Chief :**

**[editors@revafric-bm.sn](mailto:editors@revafric-bm.sn)**

## Comité de Rédaction / Editorial board



**Rédacteur en Chef / Editor in chief :**

**Professeur Ahmad Iyane Sow (Bactériologie-Virologie) : Sénégal**

**Membres :**

<b>Professeur Roughyatou Ka (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Docteur Abdoulaye Nikiéma (Biologie) :</b>	<b>Burkina Faso</b>
<b>Professeur Awa Oumar Touré (Hématologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Docteur Abdelaye Keïta (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Mali</b>
<b>Professeur Yémou Dieng (Parasitologie-Mycologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Hugues Ahiboh (Biochimie / Biologie moléculaire) :</b>	<b>Côte d'Ivoire</b>
<b>Professeur Ahmad Iyane Sow (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Ingénieur Ibrahim Abderahim (Biologie) :</b>	<b>Tchad</b>
<b>Professeur Philomène Lopez-Sall (Biochimie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Docteur Amadou Alpha Sall (Virologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Lansana Sangaré (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Burkina Faso</b>
<b>Professeur Thérèse Dieng (Parasitologie-Mycologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Docteur Guy Olivier Mbensa (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>RDC</b>
<b>Professeur Papa Madièye Guèye (Biochimie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Chantal Akoua Koffi (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Côte d'Ivoire</b>
<b>Professeur Abibatou Sall (Hématologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Yolande Sissinto Savi de Tové (Parasito-Mycologie) :</b>	<b>Bénin</b>
<b>Professeur Daouda Ndiaye (Parasitologie-Mycologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Maguette Sylla-Niang (Immunologie)</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Fatou Diallo-Agne (Biochimie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Halimatou Diop-Ndiaye (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Mounkaïla Boutchi (Hématologie) :</b>	<b>Niger</b>
<b>Professeur Mouhamadou Lamine Dia (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Seynabou Lo (Bactériologie-Virologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Docteur Moussa Seck (Hématologie) :</b>	<b>Sénégal</b>
<b>Professeur Khadim Diongue (Parasitologie-Mycologie) :</b>	<b>Sénégal</b>



## RECOMMANDATIONS AUX AUTEURS

La Revue africaine de Biologie Médicale est une revue scientifique qui comprend différentes sections correspondant aux disciplines biologiques :

Section A : Bactériologie-Virologie

Section B : Biologie cellulaire

Section C : Biologie moléculaire

Section D : Biochimie

Section E : Génétique médicale

Section F : Hématologie Biologique

Section G : Immunologie

Section H : Parasitologie-Mycologie.

La revue publie un numéro tous les quatre mois, avec des articles dans les rubriques suivantes: des éditoriaux (sur demande de la Rédaction), des revues, des articles originaux, des résultats de recherche fondamentale et opérationnelle, des essais, des travaux en Santé Publique, sur la Qualité, la Biosécurité ou la réglementation.

### Soumission et évaluation des manuscrits

La Revue publie des articles en Français et en Anglais, avec un résumé dans les deux langues.

Les manuscrits doivent être soumis en version électronique via Internet et rédigés en double interligne, avec la police Times New Roman, taille 12.

Chaque article soumis fait l'objet d'une vérification du comité de Rédaction sur le respect des présentes recommandations avant soumission à l'évaluation de deux relecteurs selon une échelle. Après acceptation, des tirés-à-part sont remis aux auteurs après paiement de frais d'impression.

### Présentation des manuscrits

Les manuscrits ne doivent faire l'objet d'aucune soumission à un autre journal.

Ils ne doivent pas dépasser 15 pages (avec les références, les tableaux et figures) et sont présentés comme suit :

\* A la page de garde mettre :

- Les titres de l'article en français et en anglais

- Les auteurs : noms suivis de l'abréviation des prénoms, séparés par des virgules, le dernier prénom sera suivi d'un point. Ex. : Sow AI<sup>1</sup>, Guèye A<sup>2</sup>, Sall B<sup>3</sup>. Les chiffres en exposant renvoient aux institutions de rattachement des auteurs dont les adresses électroniques doivent être fournies.

- La rubrique proposée par les auteurs,

- Les noms, prénoms, adresses et contacts (téléphone, adresse E mail, boîte postale) de l'auteur correspondant à qui seront envoyés les avis des relecteurs et les tirés-à-part.

\* Les pages de résumés : ne doivent pas dépasser deux pages (une par langue)

- Mettre le titre de l'article sans les auteurs

- Présenter des résumés structurés en sous chapitres : introduction (avec les objectifs), matériels et méthodes, principaux résultats, et conclusion (sans référence).

- Donner les mots clés (entre 3 et 5), séparés par des virgules.

\* Corps du texte :

- L'introduction présente les informations de base sur le travail ainsi que les objectifs visés.

- Le reste du manuscrit comprend les chapitres sur le matériel utilisé et la méthodologie (avec précision du respect des règles éthiques), les résultats non commentés, la discussion, la conclusion, les références. Après la conclusion, les auteurs peuvent insérer quelques mots de remerciement.

- Tableaux et figures doivent être incorporés dans le corps du texte ; si nécessaire, il sera demandé aux auteurs l'original des images.

. Les figures sont numérotées en chiffres arabes (1,2,3,...) et les tableaux en chiffres romains (I,II,III,...)

. Les titres des figures sont placés en bas et les titres des tableaux en haut.

- Références :

. Elles sont appelées dans le texte par des chiffres arabes entre crochets [1] selon l'ordre chronologique de leur apparition.

. Toutes les références présentées sur la liste doivent être appelées dans le texte.

. Elles doivent répondre aux normes internationales et leur nombre doit se situer entre 15 au minimum et 20 au maximum pour un article original.

. Les rapports, thèses et travaux personnels non publiés ne doivent pas figurer sur la liste des références mais peuvent être cités dans le manuscrit avec la mention (non publié).

. Les articles « sous presse » ne sont pas admis avant leur publication.

. Pour les articles de revue, présenter comme suit: Auteurs. Titre de l'article. Nom de la revue en toutes lettres. Année ; volume (numéro) : pages séparées d'un tiret.

*Exemple* : Sow AI, Sall B, Guèye D. Résultats d'une surveillance des résistances aux antimicrobiens sur une année au Sénégal. Revue africaine de Biologie Médicale.2016;1(3):1-5.

Pour les références à des ouvrages, après les auteurs et le titre, citer l'éditeur, la ville d'édition, l'année, le tome, le numéro d'édition, les pages.

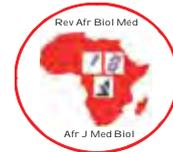
Pour les références électroniques : après les auteurs et le titre, préciser qu'il s'agit d'une référence électronique, indiquer l'année de publication, l'adresse du site et la date de consultation.

Tout manuscrit ne respectant les présentes recommandations sera retourné aux auteurs sans soumission aux relecteurs.

Adresse de soumission des articles :

profisow3@gmail.com /soumission@revafric-bm.sn

# INSTRUCTIONS FOR AUTHORS



African Journal of Medical Biology is a scientific journal which include different sections related to biological domains :

Section A : Bacteriology and Virology

Section B : Cellular Biology

Section C : Molecular Biology

Section D : Biochemistry

Section E : Medical Genetic

Section F : Biological Hematology

Section G : Immunology

Section H : Parasitology and Mycology.

The Journal publishes one number every four monthes, with editorials (asked by the editorial team), reviews, original articles, results of fundamental and operational research, essays, articles on public health, quality, Biosecurity or regulations.

## Submission and evaluation of manuscripts

The Journal publishes articles either in French or in English, with a summary in both languages.

The manuscripts must be submitted in electronic version by Internet and typewritten in double line spacing, with Times New Roman font, size 12.

Each submitted article is verified by the members of Editorial committee to see if the instructions for authors are respected. This is done before the submission of the articles to two proofreaders who will evaluate it depending on a scale.

The manuscripts accepted are printed for authors after payment of article publication fees.

## Presentation of manuscripts

The manuscripts must not be submitted to another journal; they must not exceed 15 pages (including references, tables and figures) and are presented like followed :

\* The flyleaf must include :

- The title of the article in both languages, French and English

- The authors: last names followed by the abbreviation of the first names, separated by commas. The last first name will be followed by a full stop.

Example: Sow AI<sup>1</sup>, Guèye A<sup>2</sup>, Sall B<sup>3</sup>. While presenting the numbers refer to the institutions of the authors.

- The column proposed by authors

- The name, address, e-mail, telephone of the corresponding author and the e-mail of other authors.

\* The summary pages must not exceed two

pages (one per language) and should include :

- The title of the article without the authors

- The summaries must be structured into subsections (without reference): introduction (with objectives), materials and methods, results and conclusion.

- Give 3 to 5 Keywords separated by commas

\* The text of manuscript will be divided into sections :

- The introduction presents basic informations and the objectives of the article.

- The other sections include the materials and the methodology (with precision of respect of ethical rules), the results not commented, the discussion, the conclusion and the references. The authors can use acknowledgement after conclusion.

- Tables and figures must be incorporated in the text. If necessary, the original images can be asked to the authors.

- The authors should use Arabic numbers (1,2,3) for figures and Roman numbers (I,II,III) for tables.

- The title of the figures must be put at the bottom and the title of the tables must be put above.

\* References :

- For citation of references in the text, the authors should use numbers of references between brackets [1], listed in chronologic order.

- Every reference being in the list must be cited in the text.

- References must follow the international norms and their number must be minimum 15 and maximum 20 for original articles.

- Reports, thesis and unpublished results must not be in the reference list, but can be cited in the text with the mention (unpublished).

- The articles "in Press" are not admitted before their publication.

- For the articles of journal, present like followed: Authors. Title of the article. Full name of review. Year; number of the volume (N°), pages separated by a dash. Example : Sow AI, Sall B, Guèye D. Results of a one year surveillance of the resistance to anti-microbial in Senegal. African Journal of Medical Biology.2016; 1(3):1-5.

- For the references of books : Authors. Title. Editor. Town of edition. Year; volume, N° of edition and pages

- For electronic references: After authors and Title, precise that it is an electronic reference, year of publication, website address and consulting date.

Any manuscript which does not respect these instructions will be returned to authors without correction of the reviewers.

Address for submission :

profisow3@gmail.com /soumission@revafric-bm.sn



**En Bactériologie et Virologie**  
**Bacteriology and Virology**

Pr Séverin Anagonou, Université de Cotonou, Bénin  
Pr Chantal Akoua Koffi, Université de Bouaké, RCI  
Pr Cheikh Saad Bouh Boye, UCAD, Sénégal  
Pr Makhtar Camara, UCAD, Sénégal  
Pr Mireille Prince David, Université de Lomé, Togo  
Pr Souleymane Diallo, Centre Charles Mérieux, Mali  
Pr Halimatou Diop Ndiaye, UCAD, Sénégal  
Pr Mireille Dosso, Université d'Abidjan, RCI  
Pr Hortense Faye-Kette, Université d'Abidjan, RCI  
Pr Jean Freney, CHU de Lyon, France  
Pr Aïssatou Gaye-Diallo, UCAD, Sénégal  
Pr Bréhima Koumaré, LAM EUREKA, Mali  
Pr Philippe Lanotte, Université de Tours, France  
Pr Seynabou Lo, Université Gaston Berger, Sénégal  
Dr Jean Claude Manuguerra, Institut Pasteur Paris, France  
Pr Souleymane Mboup, UCAD, Sénégal  
Dr Jalal Nourlil, Institut Pasteur, Maroc  
Dr Pascale Ondo, AIGHD, Hollande  
Pr Rasmata Ouédraogo, Université de Ouagadougou  
Pr Abdoul Salam Ouédraogo CHU Sourou Sanou de Bobo  
Pr Keira Rahal, Université 1 d'Alger, I. Pasteur, Algérie  
Dr Lila Rahalison, CDC d'Atlanta, Etats Unis  
Dr Amadou Alpha Sall, Institut Pasteur de Dakar  
Pr Mounérou Salou, Université de Lomé, Togo  
Pr Lasana Sangaré, Université de Ouagadougou  
Pr A. Iyane Sow, UCAD, Sénégal  
Pr Ndèye Coumba Touré, UCAD, Sénégal  
Pr Noël Tordo, Institut Pasteur de Guinée

**En Biochimie / Biochemistry**

Pr Hugues Ahibo, Université de Cocody, RCI  
Pr Aynina Cissé, UCAD, Sénégal  
Dr Kouassi Kafui Codjo, Université de Lomé, Togo  
Pr Fatou Diallo Agne, UCAD, Sénégal  
Pr Papa Amadou Diop, UCAD, Sénégal  
Pr Papa Madièye Guèye, UCAD, Sénégal

Pr Elie Kabré, Université de Ouagadougou, Burkina Faso  
Pr Philomène Lopez-Sall, UCAD, Sénégal  
Dr Abdoulaye Nikiéma, Université de Ouagadougou  
Pr Jean Sakandé, Université de Ouagadougou  
Pr Niama Diop Sall, UCAD, Sénégal  
Pr Daniel Sess, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire  
Pr Georges Thiahou, Université de Bouaké, RCI  
Pr Meïssa Touré, UCAD, Sénégal

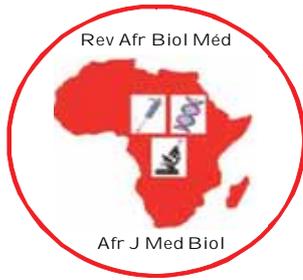
**En Hématologie et Immunologie /**  
**Hematology and Immunology**

Pr Ludovic Anani, Université de Cotonou, Bénin  
Pr Bamory Dembélé, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire  
Pr Saliou Diop, Université Cheikh Anta Diop, Sénégal  
Dr Irénée Kuéviakoe, Université de Lomé, Togo  
Pr Abibatou Sall, Université Cheikh Anta Diop, Sénégal  
Pr Duni Sawadogo, Université d'Abidjan, Côte d'Ivoire  
Dr Tidiane Siby, LBM Bio 24, Sénégal  
Pr Awa Oumar Touré, UCAD, Sénégal  
Pr Ahoefa Vovor, Université de Lomé, Togo  
Pr Alioune Dièye, UCAD, Sénégal  
Pr Bouréma Kouriba, Université de Bamako, Mali  
Dr Pascale Ondo : AIGHD, Hollande  
Pr Maguette Sylla-Niang , UCAD, Sénégal

**En Parasitologie et Mycologie /**  
**Parasitology and Mycology**

Pr Thérèse Dieng, UCAD, Sénégal  
Pr Yémou Dieng, UCAD, Sénégal  
Pr Babacar Faye, UCAD, Sénégal  
Pr Omar Gaye, UCAD, Sénégal  
Pr Robert Guiguemdé, Université de Bobo  
Pr Aurore Hounto , Université de Cotonou, Bénin  
Pr Dorothée Kinde-Gazard, Université de Cotonou  
Pr Daouda Ndiaye, UCAD, Sénégal  
Pr Jean Louis Ndiaye, UCAD, Sénégal  
Dr Yolande Sissinto Savi de Tové : Université de Cotonou





**Revue africaine de Biologie Médicale**

**African Journal of Medical Biology**

**SOMMAIRE / HEADLINE**

**Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology - Virology : P. 1307**

Infection urinaire à *Corynebacterium phoceense* : une localisation exceptionnelle.

*Corynebacterium phoceense* urinary tract infection: an exceptional location.

Merhari F, Douge R, El Fegigi M, Nasfi A, Jalili L, Er-rabhi C, El Azhari Y, Bahyat K, Rissoul K.

**Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology - Virology : P. 1317**

Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

Tadet JON, Monémo P, Etilé A, Touré SF, Traoré A, Wayoro O, N'Guessan AM, Gawa KJ, Kouakou AS, Tuo NM, Karidioula YL, Soundélé MA, N'dri C, Adakanou A, Cissé A, Akoua-koffi C.

**Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology - Virology : P. 1331**

Surveillance épidémiologique des bactéries multi-résistantes (BMR) au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis au Sénégal entre 2016 et 2020.

Epidemiological surveillance of multidrug-resistant bacteria (MDR) at the Bacteriology Laboratory at the Regional Hospital Center of Saint–Louis in Senegal between 2016 and 2020

Kane A, Lo S, Diallo OF, Doupa D, Makalou D, Diakhaby MELB, Guèye S, Diatta GC.

**Section A : Bactériologie - Virologie / Bacteriology - Virology : P. 1341**

Aspects épidémiologiques et bactériologiques des méningites communautaires de l'enfant à Bouaké en 2020

Epidemiological and bacteriological aspects of community meningitis in children in Bouaké in 2020

Tadet JON, Akanji IA, Gawa KJ, Monémo P, Touré SF, N'Guessan AM, Traoré A, Konan AS, Sahi LJ, Koffi MS, Adou LR, Akoua-koffi C.

**Section G : Immunologie / Immunology : P. 1353**

Immune parameters in subjects diagnosed COVID-19+ and incidence in HIV-positive patients in Bangui, Central African Republic.

Paramètres immunitaires chez les sujets diagnostiqués COVID-19+ et incidence chez les patients VIH à Bangui, en République centrafricaine.

Nambei WS, Nembi G, Gbangbangai E, Kodia-Lenguetama RE, Rafai C, Rawago-Mandja D, Longo JDD, Balekouzou A, Gamba ED, Grésenguet G.

**Section G : Immunologie / Immunology : P. 1365**

Immunological outcomes of Tenofovir-based regimens among people living with HIV/AIDS in Bangui, Central African Republic

Réponses immunologiques aux traitements à base de ténofovir chez les personnes vivant avec le VIH/sida à Bangui, en République centrafricaine

Nambei WS, Gbangbangai E, Ouefio-Nguerenam JR, Lenguetama Kodia RE, Nguerepayo Koacketcheu P.

## Infection urinaire à *Corynebacterium phoceense* : une localisation exceptionnelle

### *Corynebacterium phoceense* urinary tract infection: an exceptional location

Merhari F, Douge R, El Fegigi M, Nasfi A, Jalili L, Er-rabhi C, El Azhari Y, Bahyat K, Rissoul K.

Laboratoire de Microbiologie, CHU Tanger Tétouan Al Hoceima, Tanger, Maroc.

Département de Biologie médicale de la faculté de médecine et de pharmacie, université Abdelmalek Essadi, Tanger, Maroc.

#### Section A : Bactériologie

#### Rubrique : Cas clinico-biologique

##### Résumé

**Introduction :** Les bactéries du genre *Corynebacterium* sont des bacilles Gram positifs, ayant une morphologie corynéforme. Certaines espèces ont été décrites dans des infections des voies urinaires. Dans cet article, nous documentons un épisode d'infection urinaire causé par *Corynebacterium phoceense*.

**Observation :** la bactérie a été isolée dans l'urine chez une femme sous chimiothérapie ayant des symptômes urinaires (dysurie et incontinence). La culture de la souche sur une gélose au sang de mouton à 5% a montré une croissance monobactérienne pure avec une bactériurie de  $10^6$  UFC/ml faite de colonies convexes, non hémolytiques, de 1 à 1,5 mm de diamètre. Les tests biochimiques et la Spectrométrie de masse (MALDI-TOF MS) version 10.0, nous ont permis d'identifier la souche comme étant de l'espèce *Corynebacterium phoceense*. Les résultats de l'antibiogramme ont montré une sensibilité à la vancomycine, linézolide, gentamicine, ciprofloxacine, tétracycline, triméthoprime + sulfaméthoxazole, clindamycine, et une résistance à la pénicilline G. La patiente a été traitée par la ciprofloxacine avec une bonne évolution clinique.

**Conclusion :** Grâce à l'identification par MALDI-TOF, l'isolement de *Corynebacterium phoceense* a été réalisé avec un score d'identification excellent, ce qui nous a permis d'incriminer ce germe dans cette infection urinaire, et de suggérer ainsi la relation de cette espèce avec les infections des voies urinaires

**Mots clés :** *Corynebacterium phoceense*, infection urinaire, immunodépression, MALDI-TOF, antibiogramme

##### Summary

**Introduction :** *Corynebacterium spp* are Gram-positive bacilli with a coryneform morphology. Some species have been described in urinary tract infections. In this article, we document an episode of urinary tract infection caused by *Corynebacterium phoceense*.

**Case report :** The bacterium was isolated from the urine of a woman undergoing chemotherapy with urinary symptoms (dysuria and incontinence). Culture of the strain on 5% sheep blood agar showed pure monobacterial growth with bacteriuria of  $10^6$  CFU/ml made up of convex, non-hemolytic colonies 1 to 1.5 mm in diameter. Biochemical tests and mass spectrometry (MALDI-TOF MS) version 10.0 allowed us to identify the strain as the strain of *Corynebacterium phoceense*. The results of the antibiogram showed sensitivity to vancomycin, linezolid, gentamicin, ciprofloxacin, tetracycline, trimethoprim + sulfamethoxazole, clindamycin, and resistance to penicillin G. The patient was treated with ciprofloxacin, showed a good clinical outcome.

**Conclusion:** Thanks to the identification by MALDI-TOF, the isolation of *Corynebacterium phoceense* was achieved with an excellent identification score, which allowed us to incriminate this germ in this urinary tract infection, and to suggest the relationship of this species with urinary tract infections.

**Keywords:** *Corynebacterium phoceense*, urinary tract infection, immunosuppression, MALDI-TOF, antibiogram

**Correspondance :** Merhari Fouzia  
E-mail : merhari.fouzia@gmail.com  
Téléphone : 00 212 649 976 668

## INTRODUCTION

Le genre *Corynebacterium* a été découvert en 1896 par Lehmann et Neumann [1]. Il appartient à la famille des *Corynebacteriaceae*. C'est un bacille à Gram positif, en forme de bâtonnet, sporogènes [2].

Le genre *Corynebacterium* comporte de nombreuses espèces qui constituent en majorité la flore normale de la peau et des muqueuses, tandis que d'autres espèces sont impliquées dans des maladies humaines et animales [3]. Les corynébactéries sont présentes aussi dans l'environnement comme les sols et les eaux usées [4, 5].

Parmi les corynébactéries, l'espèce la plus pathogène chez l'homme est le *Corynebacterium diphtheriae*, agent de la diphtérie dans le monde entier, actuellement disparue dans les pays développés grâce à la vaccination [6]. Certaines espèces de corynébactéries ont été décrites dans les infections des voies urinaires, à savoir *Corynebacterium*

*urealyticum* et *Corynebacterium riegelii* [7,8].

Dans cet article, nous rapportons un cas exceptionnel d'infection urinaire causée par *Corynebacterium phoceense*.

L'objectif de ce travail est mettre en évidence cette espèce bactérienne dont rare sont les scientifiques qui s'y intéressent malgré son importance dans l'infectiologie surtout des immunodéprimés.

## OBSERVATION

Il s'agit d'une patiente âgée de 67 ans, suivie au service d'hématologie clinique pour lymphome hodgkinien associé à la maladie de Castelman, sous corticothérapie et chimiothérapie à base de 6 cures de Doxorubicine, Bléomycine, Vinblastine et Dacarbazine deux fois par mois à J1 et J15. A l'admission, la patiente se plaint de dysurie avec douleurs pelviennes et incontinence urinaire, sans fièvre. L'examen clinique de la patiente était sans particularité.

Le bilan biologique a montré un taux de globules blancs normal à 6450 éléments/mm<sup>3</sup> avec un taux de polynucléaires neutrophiles à 5330 éléments/mm<sup>3</sup>, le taux d'hémoglobine été de 11,8 g/ dl, avec une CCMH à 22,3 % et un VGM à 84,5 fl montrant une légère anémie hypochrome microcytaire. L'évaluation de la fonction rénale est revenue normale, le dosage de l'urée était de 0,30 g/l et celui de la créatinine de 5,84mmol /l.

Devant la symptomatologie urinaire, et dans un souci de soulager la patiente, un examen cytobactériologique des urines (ECBU) a été réalisé et une antibiothérapie probabiliste à base d'amoxicilline+ acide clavulanique en raison de 2 g par jour a été démarré en attendant le résultat de l'antibiogramme.

L'examen microscopique à l'état frais par cellule de comptage Malassez a mis en évidence une leucocyturie négative, inférieure à 10<sup>4</sup> éléments / ml. Le frottis coloré avec la coloration de Gram a montré la présence de

bacilles à Gram positifs groupés en palissade et en lettres. La culture sur une gélose CLED (cystine-lactose-électrolyte-déficient) à 37 °C et sur une gélose au sang du mouton incubée sous une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> pendant 24 heures a montré une croissance monobactérienne de colonies blanchâtres, non hémolytiques, convexes et à bords réguliers, de 1 à 1,5 mm de diamètre avec une bactériurie de 10<sup>6</sup> UFC/ ml (Figure 1). L'isolat était constitué de bacilles à Gram positifs, non mobiles, en forme de bâtonnets courts et présentant une morphologie corynéforme. Les tests biochimiques ont révélé une catalase positive, une oxydase négative, une capacité de fermenter le glucose, le ribose, le maltose, le saccharose, arbutine, esculine, la pyrrolidonylaryl-amidase.

L'identification de la souche bactérienne a été ensuite réalisée par l'automate MALDI-TOF MS Biotyper smart10.0: les colonies ont été appliquées directement sur la

plaque métallique MALDI et recouvertes de la matrice. Après séchage, la plaque est ensuite chargée dans l'instrument MALDI-TOF MS. Nous avons utilisé le logiciel MALDI Biotyper pour comparer le spectre obtenu avec les spectres de référence de la base de données. Le résultat de l'identification apparaît sous la forme d'un score de corrélation entre le spectre obtenu et le spectre de référence le plus proche identifié. Dans notre étude, elle a permis d'identifier puissamment l'espèce de notre isolat. La souche a été identifiée comme étant la souche

*Corynebacterium phoceense* MC\_24 SOMB/ 901 400 365 LBK/ 901600 604 LBK (premier, deuxième et troisième excellente : 2,39/2,29/ 2,28 respectivement) selon la base de données MALDI TOF MS (Tableaux I et II) (Figure 2).

L'antibiogramme a été réalisé selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CASFM) d'avril 2021. Le test de sensibilité aux antibiotiques a été effectué en utilisant la méthode par diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de



**Figure 1** : Morphologie des colonies de *C. phoceense* isolées sur une gélose au sang (à gauche) et sur gélose CLED (à droite)

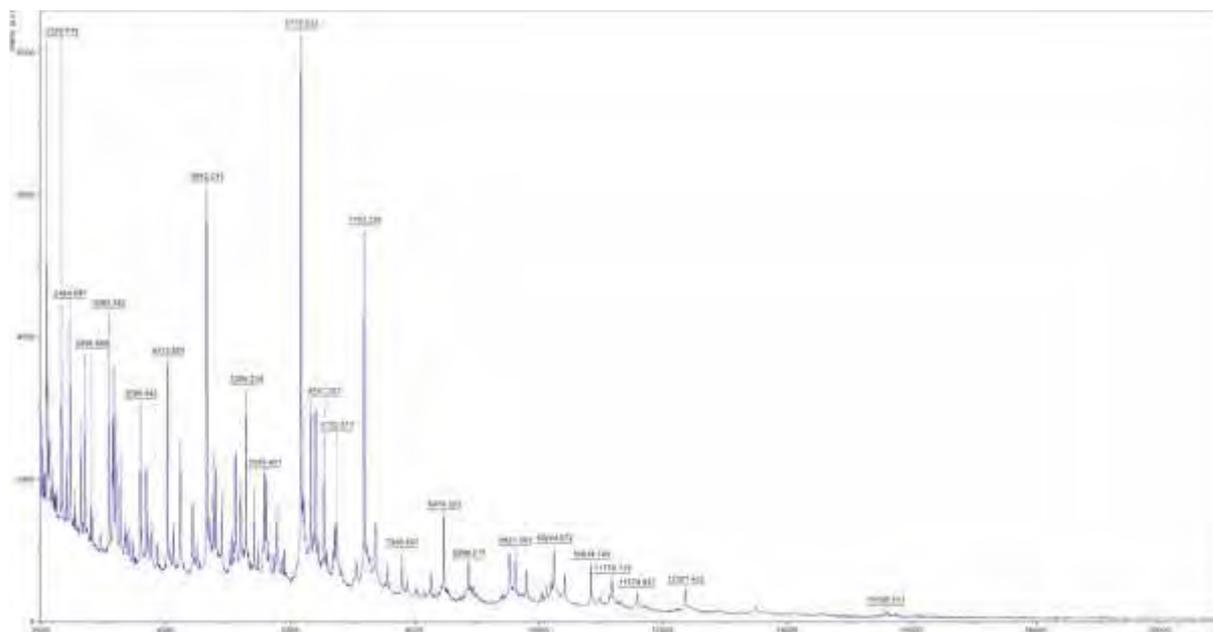


Figure 2 : Spectre de masse de *Corynebacterium phoceense*

Tableau I : Tableau des résultats d'identification de la souche obtenus par MALDI-TOF

Classement (Qualité)	Profil correspondant	Score Valeur	NCBI Identifiant
1 (+++)	<i>Corynebacterium phoceense</i> MC_24 SOMB	2.39	<a href="#">1716</a>
2 (+++)	<i>Corynebacterium phoceense</i> 901400365 LBK	2.39	<a href="#">1716</a>
3 (+++)	<i>Corynebacterium phoceense</i> 901600604 LBK	2.28	<a href="#">1716</a>
4 (-)	<i>Corynebacterium flavescens</i> IMET 11080T HKJ	1.11	<a href="#">28028</a>
5 (-)	<i>Paraburkholderia phymatum</i> LMG 21445T HAM	1.11	<a href="#">148447</a>
6 (-)	<i>Sphingomonas trueperi</i> DSM 7225T DSM	1.10	<a href="#">53317</a>
7 (-)	<i>Paraburkholderia caledonica</i> LMG 19076T HAM	1.09	<a href="#">134536</a>
8 (-)	<i>Kocuria flava</i> DSM 22142T DSM	1.07	<a href="#">57493</a>
9 (-)	<i>Pseudomonas tolaasii</i> LMG 2342T HAM	1.06	<a href="#">29442</a>

Tableau II : Tableau interprétatif des scores de corrélation.

Plage	Interprétation	Symboles	Couleur
2.00 - 3.00	Identification avec un degré de confiance élevé	(+++)	vert
1.70 - 1.99	Identification avec un faible degré de confiance	(+)	jaune
0.00 - 1.69	Aucune identification d'organisme possible	(-)	rouge

mouton. La suspension bactérienne (0,5 McFarland standard) est réalisée dans 2 mL d'eau physiologique puis ensemencée par écouvillonnage dans les boîtes de Pétri Mueller-Hinton + 5% de sang de mouton. Les Différents disques d'antibiotiques sont distribués sur ces boîtes, puis les plaques ont été incubées sous 5% de CO<sub>2</sub> à 37°C pendant 24 heures.

Les antibiotiques testés comprenaient: La pénicilline 1UI, la vancomycine 30 µg, linézolide 30 µg, gentamicine 30 µg, ciprofloxacine 5 µg, tétracycline 30 µg, triméthoprime + sulfaméthoxazole 25 µg et clindamycine 2 µg.

Les résultats ont montré une sensibilité à : la ciprofloxacine 5 µg, la vancomycine 30 µg, linézolide 30 µg, gentamicine 30 µg, tétracycline 30 µg, triméthoprime + sulfaméthoxazole 25 µg,

clindamycine 2 µg, et une résistance à pénicilline G 1UI (Figure 3).

La patiente a été traitée avec la ciprofloxacine avec une bonne évolution clinique.

## DISCUSSION

L'infection urinaire à *Corynebacterium phoceense* est exceptionnelle. Cette bactérie est un bacille à Gram positif, fermentative, non mobile, en forme de bâtonnet court, ayant une morphologie corynéforme [9].

Les résultats de l'identification biochimique de notre isolat ont montré des similitudes avec ceux décrits par Cresci et al. [10], à l'exception de la fermentation du lactose qui est positive avec notre isolat, alors qu'elle est négative dans l'étude précédente. Cependant, ces

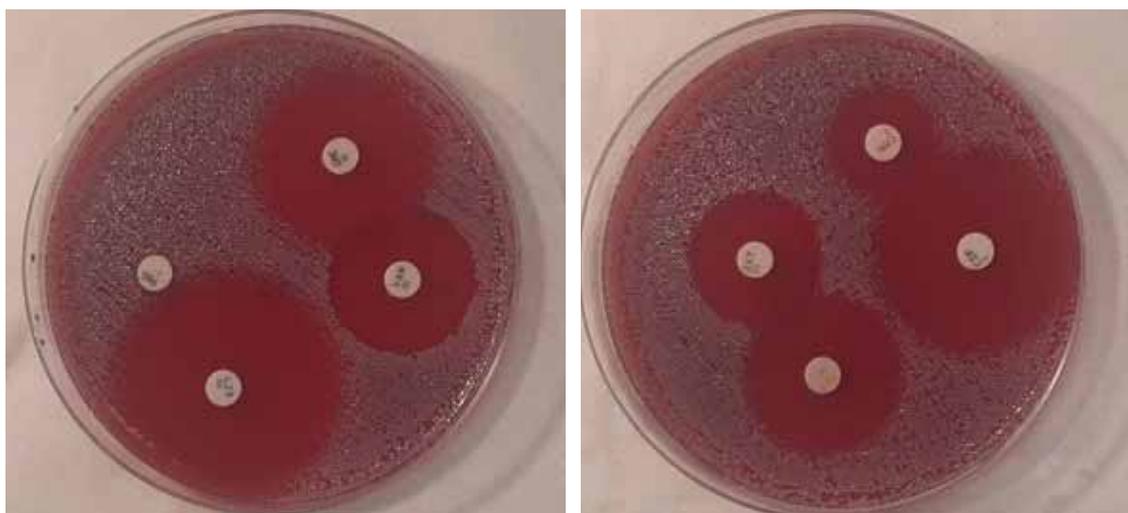


Figure 3 : Antibiogramme de *Corynebacterium phoceense* sur gélose au sang

résultats ont montré des similitudes avec ceux décrits par Claudia M. Barberis et al. [9].

L'intégration du MALDI-TOF MS dans les laboratoires de biologie a révolutionné la microbiologie médicale, son utilisation nous a aidé à identifier notre isolat. L'intérêt de la spectrométrie de masse MALDI-TOF a été examiné dans de nombreuses études et s'est révélée être une méthode précise et fiable pour l'identification des isolats bactériens et fongiques les plus pertinents dans le laboratoire clinique [11,12], c'est une technologie innovante avec un délai d'exécution rapide et précise en

quelques minutes à partir d'une seule colonie isolée [13].

Le résultat de l'identification apparaît sous la forme d'un score de corrélation entre le spectre obtenu et le spectre de référence le plus proche identifié, lorsque ce score est  $\sim^* 1,9$  (système Bruker) indique l'identification de l'espèce [11]. Ces spectres obtenus permettent d'identifier des micro-organismes de différents genres, de différentes espèces et de différentes souches d'une même espèce [14]. Malgré son coût d'investissement élevé, cette technique permet la facilité d'utilisation, la rapidité d'obtention

des résultats et des coûts de réactifs modestes [13], et surtout une optimisation de la prise en charge du patient, une réduction de la prescription empirique des antibiotiques à large spectre, ce qui permet de lutter contre l'émergence des résistances [15].

Les résultats de l'identification de notre isolat par MALDI TOF 10.0 a montré une parité avec ceux décrits par Claudia M. Barberis [9] qui a identifié la souche à l'aide du MALDI Biotyper 3.1 (Bruker, Daltonics) comme étant la souche de *Corynebacterium phoceense* 901400365 LBK/901600604LBK (premier et deuxième top 10 : 2,355/2,242 respectivement) selon la base de données MALDI TOF MS 3.1 et qui contient 8468 MSP, alors que Cresci et al. [9] en utilisant le MALDI-TOF MS pour l'identification n'ont obtenu aucun score significatif pour la souche.

Les résultats de l'antibiogramme différent d'un article à l'autre. Selon

Claudia M. Barberis et al [9], la souche était sensible à la pénicilline, à la ceftriaxone, au triméthoprimé/sulfaméthoxazole (TMS) et à la vancomycine, et résistante à la ciprofloxacine. Alors que Cresci et al. [10] ont constaté une sensibilité à la vancomycine, la rifampicine, la doxycycline, l'érythromycine, l'amoxicilline, la nitrofurantoïne, la gentamicine, la ciprofloxacine, la ceftriaxone, l'amoxicilline + acide clavulanique, pénicilline G, triméthoprimé + sulfaméthoxazole, oxacilline, imipénème, tobramycine, métronidazole, amikacine, linézolide, clindamycine, daptomycine et chloramphénicol. Alors que notre étude a montré une concordance en ce qui concerne la sensibilité pour la vancomycine et triméthoprimé/sulfaméthoxazole (TMS) dans l'étude de Claudia M. Barberis et al. [9] et pour la vancomycine et la ciprofloxacine dans l'étude de Cresci et al. [10].

## CONCLUSION

Notre cas est un exemple d'infection urinaire documentée due à une bactérie fréquemment considérée comme peu incriminée dans le processus infectieux. Grâce à l'identification par MALDI TOF, l'isolement de *Corynebacterium phoceense* a été réalisé avec un score d'identification excellent, ce qui nous a permis d'incriminer ce germe dans cette infection urinaire, et de suggérer ainsi la relation de cette espèce avec les infections des voies urinaires.

**Conflit d'intérêt : aucun**

## REFERENCES

- [1]- Lehman KB, Neumann R. Atlas und grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speciell en bakteriologischen Diagnostik. 1st ed. JF Lehmann, München ; Speciell en bakteriologischen Diagnostik. 1st ed. JF Lehmann, München;1896: 1-448.
- [2]- Aravena-Román M, Spröer C, Siering C, Inglis T, Schumann P, Yassin AF. *Corynebacterium aquatimens* sp. nov., a lipophilic *Corynebacterium* isolated from blood cultures of a patient with bacteremia. *Syst Appl Microbiol.*2012;35(6):380-4.
- [3]- Bernard K. The genus *Corynebacterium* and other medically relevant coryneform-like bacteria. *J Clin Microbiol.*2012;50(10):3152-8.
- [4]- Chen HH, Li WJ, Tang SK, Kroppenstedt RM, Stackebrandt E, Xu LH, Jiang CL. *Corynebacterium halotolerans* sp. nov. isolated from saline soil in the west of China. *Int J Syst Evol Microbiol.*2004;54:779-782.
- [5]- Du ZJ, Jordan EM, Rooney AP, Chen GJ, Austin B. *Corynebacterium marinum* sp. nov. isolated from coastal sediment. *Int J Syst Evol Microbiol.*2010;60:1944-1947.
- [6]- Wagner KS, White JM, Lucenko I, Mercer D, Crowcroft NS, Neal S, Efstratiou A. Diphtheria Surveillance Network. Diphtheria in the postepidemic period, Europe, 2000-2009. *Emerg Infect Dis.*2012; 18:217-25.
- [7]- Costales J, Alsyouf M, Napolitan P, Wang S, Hu B. *Corynebacterium urealyticum*: rare urinary tract infection with serious complications. *Can J Urol.* 2019;26(1):9680-9682.
- [8]- Pichon M, Micaelo M, Longuet P, Plantefève G, Abderrahmane M, Wifaq B, Menn AM. A rare case of *Corynebacterium riegellii*urosepsis: Role of the MALDI-TOF mass spectrometry in the identification of emerging pathogens. *Med Mal Infect.*2019;49(6):474-477.
- [9]- Barberis CM, Traglia GM, Almuzara MN, Rocha DJPG, Santos CS, Aguiar ERGR, Pacheco LGC, Vay CA. *Corynebacterium phoceense* - a rare *Corynebacterium* species isolated from a urine sample. *Access Microbiol.* 2021.27;3(2):000197

**Merhari F et coll.** Infection urinaire à *Corynebacterium phoceense* : une localisation exceptionnelle

[10]- **Cresci M, Ibrahima Lo C, Kelaifia S, Mouelhi D, Delerce J, Di Pinto F, Michelle C, Fournier PE, Raoult D, Lagier JC, Moal V.** *Corynebacterium phoceense* sp. nov., strain MC1<sup>T</sup> a new bacterial species isolated from human urine. *New Microbes New Infect.* 2016;14:73–82.

[11]- **Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier PE, Rolain JM, Raoult D.** Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis.* 2009;49: 543-51.

[12]- **Eigner U, Holfelder M, Oberdorfer K, Betz-Wild U, Bertsch D, Fahr AM.** Performance of a matrix-assisted laser desorption ionization-time-of-flight mass spectrometry system for the identification of bacterial isolates in the clinical routine laboratory. *Clin Lab.* 2009; 55:289-296.

**Merhari F et al.** *Corynebacterium phoceense* urinary tract infection: an exceptional location.

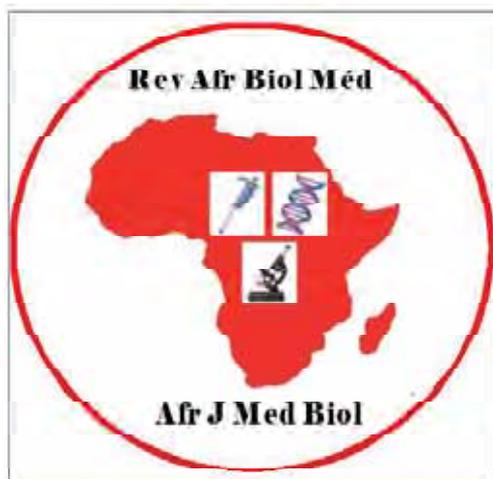
[13]- **Tran A, Alby K, Kerr A, Jones M, Gilligan PH.** Cost Savings Realized by Implementation of Routine Microbiological Identification by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2015; 53:2473–9.

[14]- **Claydon MA, Davey SN, Edwards-Jones V, Gordon DB.** The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nat Biotechnol.* 1996;14: 1584-6

[15] **Trémolières F.** Quand le miracle antibiotique vire au cauchemar. *Med Sci, Paris,* 2010.26:925-9.

# LABIZY

## Logiciel de gestion des données de Laboratoire



**Bonne Année  
2023**

**LABIZY**  
LOGICIEL DE GESTION  
DE LABORATOIRE  
MÉDICAL

- Optimisez votre production <
- Réduisez les délais d'exécution <
- Validez les résultats des analyses à distance <
- Suivez les activités de votre laboratoire en temps réel <

Contactez-nous :  
+221-781809437

contact@labizy.com

## Section A : Bactériologie - Virologie

### Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

### Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

Tadet JON<sup>1,2</sup>, Monémo P<sup>1,2</sup>, Etilé A<sup>3</sup>, Touré SF<sup>2</sup>, Traoré A<sup>2</sup>, Wayoro O<sup>2,3</sup>, N'Guessan AM<sup>2</sup>, Gawa KJ<sup>2</sup>, Kouakou AS<sup>2</sup>, Tuo NM<sup>3</sup>, Karidioula YL<sup>2,3</sup>, Soundélé MA<sup>2,3</sup>, N'dri C<sup>2</sup>, Adakanou A<sup>2</sup>, Cissé A<sup>2</sup>, Akoua-koffi C<sup>1,2,3</sup>.

1. UFR Sciences Médicales Bouaké, Université Alassane Ouattara
2. Laboratoire de Microbiologie, CHU de Bouaké
3. Laboratoire de Biologie Moléculaire, CHU de Bouaké

#### Section A : Bactériologie

#### Rubrique : Article original

##### Résumé

**Introduction :** La surveillance de l'antibiorésistance constitue un atout majeur dans la prise en charge des entérobactéries productrices de BLSE. Cette étude avait pour objectif de contribuer à l'identification moléculaire des EBLSE au CHU de Bouaké.

**Matériel et méthodes :** Une étude transversale a été menée au laboratoire du CHU de Bouaké de septembre à décembre 2019 et a porté sur 30 souches d'EBLSE identifiées par des techniques de bactériologie classique. Ces souches ont été soumises à un test de confirmation par le test de double synergie, conformément aux recommandations EUCAST 2019. La détection des gènes de résistance à partir de ces souches a été réalisée par des techniques PCR.

**Résultats :** Les EBLSE étaient majoritairement isolées à partir de prélèvements de pus (33,3%), d'urines (30,0%) et de sang (26,7%), et provenaient principalement des services de Traumatologie (33,3%), de Médecine interne (33,3%), et de Pédiatrie (20,0%). Le portage des gènes cibles (CTX-M, TEM, SHV, OXA) était de 93%. Les principaux gènes détectés étaient CTX-M (singulièrement ; n = 8/28 ou en association ; n = 10/28), et TEM (en association ; n = 17/28). Le portage unique du gène CTX-M était fréquent chez l'espèce *Escherichia coli* (37,6%), tandis qu'une association des 4 gènes ciblés était majoritairement observée chez *Klebsiella spp* (27,3%).

**Conclusion :** Les gènes CTX-M et TEM étaient les principaux gènes détectés dans notre étude. *E. coli* et *Klebsiella spp* représentaient les principales espèces bactériennes porteuses de gène de résistance. Cette étude sera étendue à un plus grand nombre de souches d'EBLSE, avec plus de gènes de résistance à cibler et sera également complétée par le séquençage des gènes en vue de connaître l'épidémiologie moléculaire des EBLSE.

**Mots clés :** EBLSE, gènes de résistance, CHU de Bouaké

##### Summary

**Introduction :** Surveillance of antibiotic resistance is a major asset in the management of ESBL-producing enteric bacteria. The objective of this study was to contribute to the molecular identification of EBLSE at the University Hospital of Bouaké.

**Material and methods :** A cross-sectional study was conducted at the laboratory of the University Hospital of Bouaké from September to December 2019 and included 30 EBLSE strains identified by conventional bacteriology techniques. These strains were subjected to confirmatory testing by the double synergy test, according to EUCAST 2019 recommendations. Detection of resistance genes from these strains was performed by PCR techniques.

**Results :** EBLSE were mainly isolated from pus (33.3%), urine (30.0%), and blood (26.7%) samples, and were mainly from Trauma (33.3%), Internal Medicine (33.3%), and Pediatrics (20.0%) departments. The carriage of target genes (CTX-M, TEM, SHV, OXA) was 93%. The main genes detected were CTX-M (singly; n= 8/28 or in combination; n= 10/28), and TEM (in combination; n= 17/28). Single carriage of the CTX-M gene was common in *Escherichia coli* species (37.6%), while a combination of the 4 target genes was predominantly observed in *Klebsiella spp* (27.3%).

**Conclusion :** CTX-M and TEM were the main genes detected in our study. *E. coli* and *Klebsiella spp* represented the main bacterial species carrying resistance genes. This study will be extended to a larger number of EBLSE strains, with more resistance genes to target and will also be completed by gene sequencing in order to know the molecular epidemiology of EBLSE.

**Key words :** EBLSE, resistance genes, Bouaké University Hospital

**Correspondance :** Tadet Juste Olivier Nekker (CHU de Bouaké)- Tél. : +225 0709008160 /+225 0143056338, Email : jontadet@yahoo.fr, BP V11Abidjan 01

**Tadet JON et coll.** Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

---

**Tadet JON et al.** Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

---

## INTRODUCTION

Les bêta-lactamines constituent l'une des familles les plus couramment utilisées dans le traitement des infections bactériennes en milieu de soins [1]. L'efficacité de ces molécules a été ralentie par l'usage abusif et l'émergence de bactéries capables d'hydrolyser ces antibiotiques. Cette diminution de l'efficacité des bêta-lactamines surtout chez les entérobactéries s'explique par la production d'une enzyme hydrolysant toutes les bêta-lactamines à l'exception des carbapénèmes d'où l'appellation de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) [2,3]. Les BLSE ont été décrites pour la première fois au début des années 1980 en Allemagne [3], et les premières revues sur la problématique des BLSE ont vu le jour en 2001 [4]. Plusieurs gènes ont été décrits à cet effet dans le monde, dont les principaux codant pour ce phénotype de résistance sont les gènes

SHV, TEM, CTX-M et OXA, définissant chacun un mode de propagation particulier pour un type de gènes de résistances. [3-7]. En Afrique sub-saharienne, des données récentes sur les BLSE ont permis de relever un fort taux d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) allant de 30 à 50% [6 ; 8]. En Côte d'Ivoire, une étude réalisée en 2006 sur des souches communautaires à Abidjan, avait noté la présence d'EBLSE, avec une prévalence de 9% [9]. L'hospitalisme infectieux lié à la fréquence élevée de ces souches bactériennes multi résistantes responsables d'infections graves est l'un des déterminants majeurs dans la lutte contre les infections nosocomiales. A Bouaké, une étude phénotypique réalisée en 2019 dans les services chirurgicaux du CHU de Bouaké, a permis de comprendre la situation dans l'hôpital, avec 100% de souches BLSE détectées [10]. A ce jour, peu d'études ont été menées

en Côte d'Ivoire (plus précisément à Bouaké), sur la détection des gènes de résistance des EBLSE en milieu hospitalier. Il nous est donc paru pertinent d'initier la présente étude afin de détecter les gènes BLSE associés à la résistance des entérobactéries isolées au CHU de Bouaké.

## **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

### **Type d'étude**

Il s'agissait d'une étude transversale menée à la plateforme de biologie moléculaire du laboratoire de bactériologie-virologie du CHU de Bouaké, de septembre à octobre 2019.

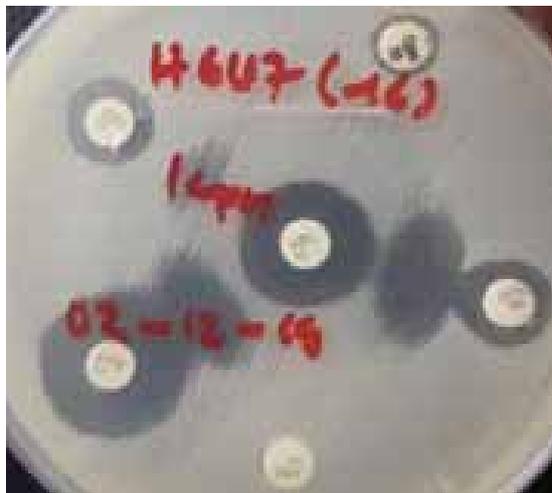
### **Sélection des souches**

Cette étude a porté sur 30 souches d'entérobactéries identifiées comme productrices de BLSE (EBLSE), à la suite d'un antibiogramme réalisé conformément aux recommandations EUCAST 2019. Les souches BLSE sélectionnées, conservées initialement à +4°C dans la souchothèque du Laboratoire de Bactériologie, ont été réactivées par ajout de 1 mL de bouillon nutritif type Bouillon Cœur-

Cerveille (BCC) dans la gélose profonde les contenant. Ce mélange a été mis en incubation dans une étuve pendant 24 heures à 37°C. La subculture obtenue le lendemain a été mise en culture à l'aide d'une anse calibrée, sur une gélose Mac Conkey puis incubée pendant 24 heures à 37°C afin d'obtenir des souches pures. Ensuite une seconde culture a été réalisée sur une gélose nutritive pendant 24 heures à 37°C. Les colonies fraîches obtenues après ces 72 heures de cultures ont fait l'objet d'une confirmation du phénotype BLSE par un test de double synergie (TDS) avant l'analyse moléculaire. Ce test consistait à placer côte à côte des disques de 30 µg de C3G (céfotaxime et ceftazidime) et/ou d'aztréonam à une distance de 20 à 30 mm, centre à centre, d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique (10 µg). La production de BLSE s'est traduite par des images de synergie très caractéristiques entre les C3G ou l'aztréonam et l'acide clavulanique (disque d'Augmentin® ou de

**Tadet JON et coll.** Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

Claventin® 20/10 µg) : images dites en bouchon de champagne (figure 1)



**Figure 1.** TDS : images de « bouchon de champagne » [Laboratoire CHU Bouaké]

## Analyse moléculaire

### 1. Extraction des ADN bactériens des souches EBLSE

L'extraction de l'ADN bactérien à partir des isolats a été réalisée par la méthode du choc thermique qui consistait tout d'abord à prélever une colonie bactérienne bien isolée, provenant d'une souche pure, à l'aide d'un ensemencement à usage unique, puis à l'homogénéiser dans 500 µL l'eau distillée stérile. Ce mélange a été incubé au bain-Marie à 95°C pendant une durée de 30 minutes.

**Tadet JON et al.** Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

Cette phase était suivie d'une centrifugation à vitesse maximale (14000 tours/min) pendant 05 minutes. Puis le surnageant a été récupéré dans des tubes Eppendorf de 1,5 mL et conservé au réfrigérateur à +4°C pour leur utilisation immédiate.

### 2. Amplifications génomiques par PCR classique

La seconde étape de l'analyse moléculaire visait à détecter par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) les gènes CTX-M, TEM, SHV, et OXA, qui sont les principaux gènes de résistances aux bêta-lactamines décrits chez les EBLSE selon les données de la littérature [4,8]. L'amplification génomique a été réalisée dans un mélange réactionnel « mix » composé de 12,5 µL de tampon 2X, 1 µL de Enhancer, 1,25 µL de chaque amorce sens et anti sens du gène à amplifier, 3 µL d'H<sub>2</sub>O de PCR, 1 µL d'enzyme mix et 5 µL d'ADN (*Tableau I*).

Les tubes contenant le mélange réactionnel ont été centrifugés pendant 5 secondes à l'aide d'un agitateur de type Vortex. Ces tubes ont été ensuite transférés dans un thermocycleur de marque VERITI (Applied Biosystem, Germany) en suivant le programme d'amplification spécifique à chaque gène (*Tableau II*).

### 3. Migration électrophorétique et révélation des gènes cibles

Après amplification, 5 µL de chaque amplicon mélangé à 1 µL de bleu de bromophénol ont été analysés dans un gel d'agarose à 1,5% coloré au gel RED nucleic acid 10000X (agent intercalant), dans le tampon Tris borate EDTA concentré à 1X.

**Tableau I :** Protocole de préparation du mélange réactionnel

Composants	Concentration solution mère	Concentration finale	Volume à prélever par réaction (µL)
Tampon	2X	1X	12,5
Enhancer	2-5%	2-5%	1
Amorce sens	100 µM	10 µM	1,25
Amorce anti sens	100 µM	10 µM	1,25
Enzyme mix	5U/µL	2U/µL	1
Eau			3
Extrait d'ADN			5
<b>Volume réactionnel</b>			<b>25</b>

**Tableau II :** Programme d'amplification des gènes recherchés

Nombre de cycle	Etapes de la PCR	Gène / Condition / durée			
		BlaTEM	BlaSHV	blaCTX-M	BlaOXA
1	Dénaturation initiale	95°C/10mn	95°C/10mn	95°C/10mn	95°C/10mn
35	Dénaturation	95°C/30s	95°C/30s	95°C/30s	95°C/30s
	Appariement	57°C/30s	57°C/30s	56°C/30s	50°C/30s
	Elongation	72°C/1mn	72°C/1mn	72°C/1mn	72°C/1mn
1	Terminaison	72°C/5mn	72°C/5mn	72°C/5mn	72°C/5mn

**Tadet JON et coll.** Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

**Tadet JON et al.** Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

Le mélange a été soumis à la migration électrophorétique pendant une durée de 30 minutes à 80 volts dans une cuve d'électrophorèse raccordée à un générateur électrique. Lors de la préparation du gel, l'agent intercalant (gel RED) a été ajouté à l'agarose en surfusion à raison de 4 µL pour 100 ml de gélose. Cet agent intercalant a permis de révéler et de visualiser l'ADN sous illumination UV et des photographies des gels ont été effectuées à l'aide d'un appareil photo numérique afin de fournir un enregistrement permanent du résultat

de l'expérimentation. Un marqueur de poids moléculaire a été utilisé afin de déterminer avec précision la taille des fragments amplifiés (*Tableau III*). La présence d'une bande témoigne de celle du fragment amplifié. La taille de cette bande a été mesurée à partir d'une échelle de poids moléculaire, en se servant d'un marqueur de poids moléculaire. Cette bande a ensuite été comparée à celle du témoin positif. Si les tailles sont identiques, le résultat est dit positif, sinon il est qualifié de négatif (*Figures 2, 3, 4, et 5*).

**Tableau III.** Tableau des amorces utilisées pour la PCR [3; 6; 8; 11]

Amorces	Gènes	Séquences des amorces (5' → 3')	Taille (pb)	Type de PCR	Références
OT1-For	TEM	TTGGGTGCACGAGTGGGTTA	445	PCR classique	Piebogi JG, 2007
OT2-Rev		TAATTGTTGCCGGGAAGCTA			
SHV-For	SHV	ATT TGT CGC TTC TTT ACT CGC	747		Yao KR, et al., 2018
SHV-Rev		TTT ATG GCG TTACCT TTG ACC			
CTX-M-For	CTX-M	ACCGCCGATAATTCGCAGAT	593		Bajpai T et al., 2017
CTX-M-Rev		GATAATCGTTGGTGGTGCCATAA			
OXA-For	OXA	TATCAACTTCGCTATTTTTTTTA	800		Diagne R. et al., 2018
OXA-Rev		TTTAGTGTGTTTAGAATGGTGA			

Les amplicons obtenus ont été conservés à  $-80^{\circ}\text{C}$  en vue de leur utilisation ultérieure pour le séquençage.

### Aspect éthique

Le démarrage de l'enquête s'est fait après validation du protocole de recherche et autorisation du comité d'éthique institutionnel du CHU de Bouaké. L'anonymat et la confidentialité ont été respectés par l'attribution d'un numéro d'anonymat à chaque fiche d'enquête.

## RESULTATS

Pendant la période d'étude, 93 souches cliniques d'entérobactéries ont été isolées. Parmi celles-ci, 30 souches ont été identifiées comme productrices de BLSE, soit une prévalence hospitalière de 32,2%. Ces souches EBLSE étaient isolées majoritairement à partir d'échantillons de pus (33,3%), d'urines (30,0%) et de sang (26,7%), et provenaient de patients hospitalisés principalement dans les services de traumatologie

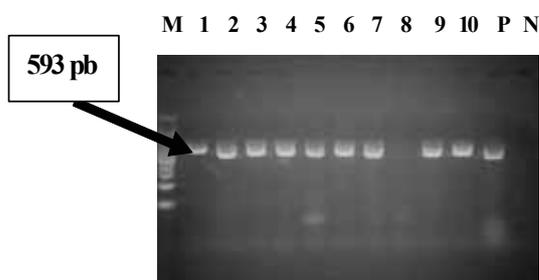


Figure 2: Profil électrophorétique du gène CTX-M



Figure 3: Profil électrophorétique du gène OXA

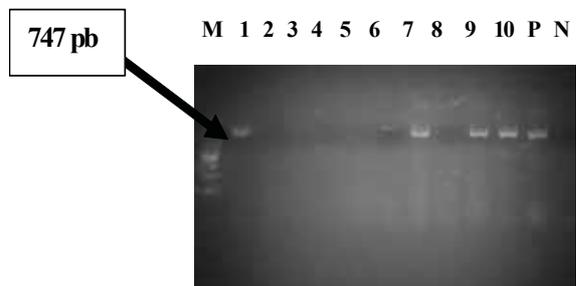


Figure 4: Profil électrophorétique du gène SHV



Figure 5: Profil électrophorétique du gène TEM

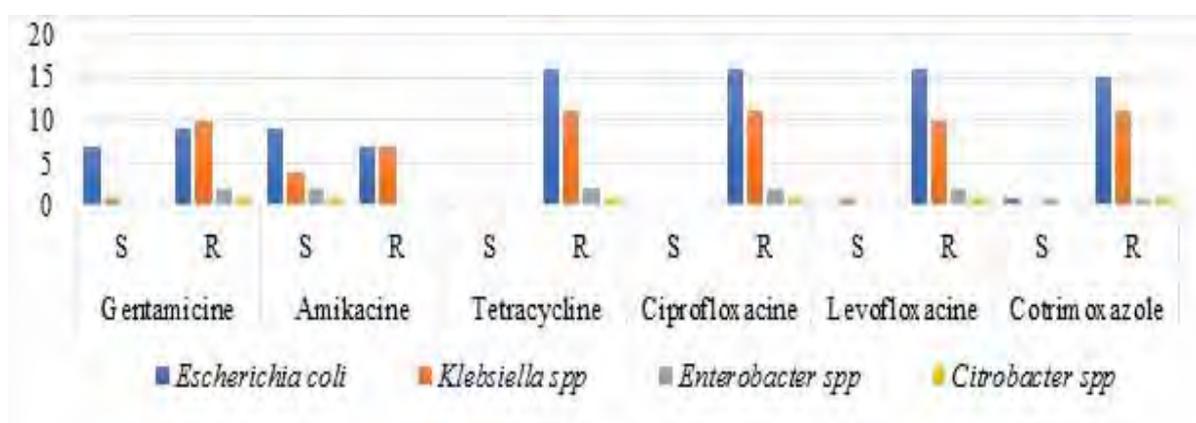
**Tadet JON et coll.** Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

(33,3%), de médecine interne (33,3%) et de pédiatrie (20,0%). Il s'agissait de sujets adultes (43,3%), de vieillards (30%), d'enfants (16,7%), et de nouveau-nés (10%), d'âge moyen de 35+/- 24 ans [0-80] et un sex-ratio (H/F) égal à 2. Ces patients avaient reçu dans 46,1% des cas une antibiothérapie préalable avant le prélèvement, menée en monothérapie (52,9%) ou en association (47,1%). Cette antibiothérapie était faite à majorité de bêta-lactamines (céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (50%), aminopénicillines (33,3%), d'imidazolés (11,1%), et de fluoroquinolones (5,6%) pour la monothérapie, puis de bêta-lactamines combinées aux aminosides (68,7%) pour l'antibio-

**Tadet JON et al.** Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

thérapie associative. Parmi les 30 souches EBLSE isolées, *E. coli* (53,3%) et *Klebsiella* spp. (36,7%) avaient un fort taux d'expression du phénotype BLSE (figure 6).

La détection des gènes de résistance aux bêta-lactamines ciblés dans cette étude était positive dans 93% des cas. Le taux de portage des gènes comparé de façon individuelle était élevé pour les gènes CTX-M (86,7%) et TEM (56,7%). Le gène CTX-M avait un portage singulier de 28,6%, contre 71,4 % en association avec d'autres gènes. Dans ce travail, nous avons pu noter également que certaines souches d'EBLSE (7%), précisément des souches de *Klebsiella* spp. étaient dépourvues des gènes ciblés.



**Figure 6 :** Résistance associée des souches EBLSE analysées

*E. coli* portait principalement les gènes CTX-M (93,7%) et TEM (50%) tandis que *Klebsiella* spp. portait à des taux élevés les quatre gènes ciblés. Le gène CTX-M était retrouvé chez toutes les souches de *Enterobacter* spp. et alors que seulement 50% des isolats exprimaient le gène SHV. En revanche, les gènes TEM et OXA avaient été détectés chez toutes les souches de *Citrobacter* spp. testées (Tableau IV).

## DISCUSSION

Durant une période de quatre mois, une étude transversale a été menée au laboratoire de Bactériologie-Virologie, à la plateforme de biologie moléculaire du CHU de Bouaké. Celle-ci visait à détecter par des techniques moléculaires, notamment par des techniques de PCR, les principaux gènes de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE).

**Tableau IV :** Gènes *bla* détectés selon l'isolat bactérien et le mode d'expression.

Types de Gènes	Effectifs (n = 30)	Pourcentage (%)	<i>E. coli</i> n=16 (%)	<i>Klebsiella</i> n= 11 (%)	<i>Enterobacter</i> n =2 (%)	<i>Citrobacter</i> n = 1 (%)
CTX-M	26	86,7	93,7%	81,8%	100,0%	0,0%
TEM	17	56,7	50,0%	72,7%	0,0%	100,0%
SHV	12	40	25,0%	63,6%	50,0%	0,0%
OXA	10	33,3	31,2%	36,4%	0,0%	100,0%
Aucun	2	6,7	0,0%	18,2%	0,0%	0,0%

Gènes	Effectifs (n=28)	Pourcentage (%)	<i>E. coli</i> n=16 (%)	<i>Klebsiella</i> n = 9 (%)	<i>Enterobacter</i> n = 2 (%)	<i>Citrobacter</i> n = 1 (%)
<b>Expression Unique</b>						
CTX-M	8	28,6	37,6	9,1	50,0	0,0
<b>Expressions Associées</b>						
CTX-M/TEM/SHV	6	21,4	12,5	36,4	0,0	0,0
CTX-M/TEM/SHV/OXA	4	14,3	6,2	27,3	0,0	0,0
CTX-M/TEM	3	10,7	18,8	0,0	0,0	0,0
CTX-M/TEM/OXA	2	7,1	6,2	9,1	0,0	0,0
CTX-M/OXA	2	7,1	12,5	0,0	0,0	0,0
TEM/SHV/OXA	1	3,6	6,2	0,0	0,0	0,0
CTX-M/SHV	1	3,6	0,0	0,0	50,0	0,0
TEM/OXA	1	3,6	0,0	0,0	0,0	100,0

Au cours de cette étude, un fort taux d'expression du phénotype BLSE a été observé chez des bactéries appartenant aux genres *Escherichia* (*E. coli* :  $n = 16$  ; 53,3%) et *Klebsiella* (*Klebsiella* spp. :  $n = 11$  ; 36,7%). En effet d'autres études similaires avaient rapporté parmi les entérobactéries, une fréquence élevée d'expression du phénotype BLSE chez ces bactéries [12 ; 13]. Cette prédominance de *E. coli* pourrait s'expliquer par la nature du produit biologique d'origine dont étaient issus ces isolats bactériens (urines (30%)). En effet le fait que *E. coli* soit l'entérobactérie par excellence responsable d'infections du tractus urinaire (ITU) [12 ; 13], justifierait leur taux élevé au cours de cette étude. De plus, *E. coli* est décrite comme étant l'espèce ayant le taux d'expression du phénotype [12 ; 14]. Ces données sont sensiblement différentes de celles de l'étude menée en France en 2009 par Zahar et coll.,

qui présentaient l'espèce *Klebsiella* spp. comme la principale EBLSE en milieux hospitalier et l'espèce *E. coli* comme l'EBLSE majeure en milieu communautaire [15]. Notons également dans ce travail que 93% des 30 souches d'EBLSE, portaient au moins un des 4 gènes cibles tandis que 7% en étaient dépourvues (notamment 2 souches de *Klebsiella* spp.). Ce constat présente des similitudes avec d'autres études qui décrivent en effet les gènes CTX-M, TEM, SHV, OXA détectés dans ce travail, comme les gènes les plus fréquents [14]. Par contre, les résultats négatifs obtenus à partir des 7% d'EBLSE pourraient faire supposer l'existence d'autres gènes non recherchés dans cette étude. Le portage des gènes CTX-M (86,7%), TEM (56,7%) étaient les plus rapportés dans ce travail. Les résultats concernant la prédominance des gènes CTX-M et TEM dans cette étude présentent des similitudes avec les

données rapportées par plusieurs travaux scientifiques [11 ; 12 ; 15]. Parmi ces travaux, ceux réalisés au Bénin en 2018, avaient cependant noté des tendances plutôt inversées avec une prédominance de *bla*TEM (57%) et *bla*CTX-M (26%). Aussi, force a été de constater dans cette étude que les souches d'EBLSE portaient le gène CTX-M soit singulièrement (28,6%), soit en association avec d'autres gènes (CTX-M/TEM/SHV à 21,4%, CTX-M/TEM/SHV/OXA à 14,3% et CTX-M/TEM à 10,7%). En effet, les souches de *E. coli* et *Klebsiella* spp. étaient dans l'ensemble les deux espèces bactériennes porteuses des 4 gènes (CTX-M à 93,7%, TEM à 50%, SHV à 50%, OXA à 31,2% pour *E. coli*; CTX-M à 81,8%, TEM à 72,7%, SHV à 63,6%, OXA à 36,4% pour *Klebsiella* spp.), tandis que les souches de *Enterobacter* spp. et *Citrobacter* spp. portaient en général deux des quatre gènes de résistance étudiés (CTX-M à 100%,

SHV à 50% pour *Enterobacter* spp.; TEM à 100%, OXA à 50% pour *Citrobacter* spp.). Ces données sont sensiblement différentes de celles des travaux de Bora et coll. Dans leur étude, ils avaient noté un portage de CTX-M/TEM par *E. coli* (39,21%), de CTX-M/TEM/SHV par *K. pneumoniae* (42,6%). L'absence de gène OXA dans leur travail contrairement au notre pourrait peut-être se justifier par le peu d'intérêt accordé à ce gène.

## CONCLUSION

Les résultats obtenus dans cette étude pourraient être influencés par la taille réduite de l'échantillon, qui pourrait entraîner une sous-estimation des gènes de résistance détectés. Cependant, ce travail a permis de retenir *E. coli* et *Klebsiella* spp. comme les principales entérobactéries productrices de BLSE isolées au CHU de Bouaké. Le gène de résistance porté majoritairement par ces souches était le gène CTX-M soit singulièrement,

**Tadet JON et coll.** Détection moléculaire des gènes CTX-M, TEM, SHV et OXA à partir de souches cliniques d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) au CHU de Bouaké en 2019.

soit en association. *E. coli* constituait la principale espèce porteuse de gène CTX-M (portage singulier pour les souches urinaires et portage en association pour les autres produits biologiques) tandis que *Klebsiella* spp. constituaient les principales espèces porteuses des quatre gènes de résistance ciblés dans notre étude. L'inexpression des quatre gènes ciblés chez deux souches de *Klebsiella* spp. dans cette étude, pourrait faire évoquer la présence d'autres gènes de résistance. Nous nous proposons de poursuivre ce travail, en l'étendant sur un plus grand nombre de souches, avec un champ plus large des gènes de résistance à cibler. Cette étude sera également complétée par le séquençage des gènes en vue de connaître l'épidémiologie moléculaire de ces gènes.

## REFERENCES

1. **Cattoir V.** Les nouvelles beta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Pathologie infectieuse en réanimation. MAPAR.2008;1:203-9.

**Tadet JON et al.** Molecular detection of CTX-M, TEM, SHV and OXA genes from ESBL-producing enterobacteria (ESBL-E) clinical isolates at the Bouaké University Hospital in 2019.

2. **Pitout JDD, Laupland KB.** Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infectious Diseases 2008;8(3):159–66.

3. **Bajpai T, Pandey M, Varma M, Bhatambare GS.** Prevalence of TEM, SHV, and CTX M Beta Lactamase genes in the urinary isolates of a tertiary care hospital. *Avicenna Journal of Medicine.* 2017;7:12-6.

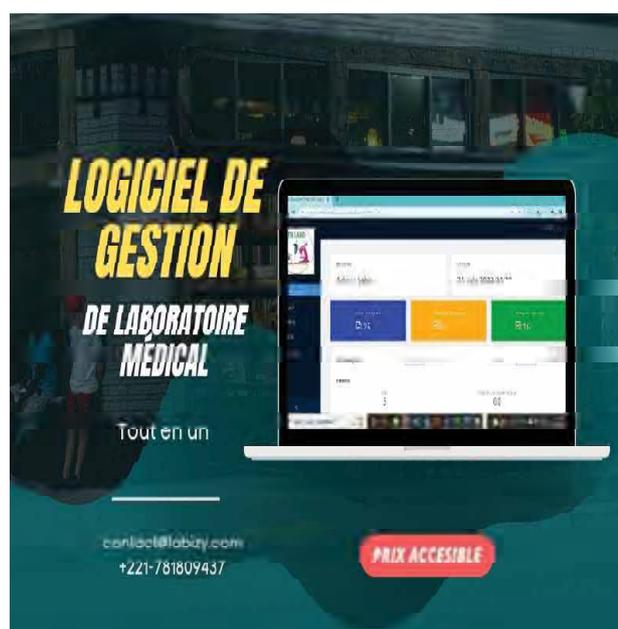
4. **Ehlers MM, Veldsman C, Makgotlho EP, Dove MG, Hoosen AA, Kock MM.** Detection of *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>TEM</sub> and *bla*<sub>CTX-M</sub> antibiotic resistance genes in randomly selected bacterial pathogens from the Steve Biko Academic Hospital. FEMS Immunology and Medical Microbiology.2009;56: 191-6.

5. **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases : a Clinical Update. Clinical Microbiology Reviews.2005;18(4):657–686.

6. **Diagne R, Ngom B, Ngom M, Ka R, Lo S, Dia ML, Sarr A, Niang AA, Sow AI.** Recherche de gènes BLSE de type TEM, SHV, et OXA-1 sur des souches de *E. coli* isolées au laboratoire de Bactériologie de Fann, Sénégal. Revue Africaine et Malgache de Recherche Scientifique/Sciences de la Santé.2018;1(1):8 p.

7. **Elhani D.** Les bêta-lactamases à spectre étendu: le défi s'accroît. Annales de Biologie Clinique 2012;70(2):117-40. Consulté le 29/07/2022 sur <https://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/article.phtml>.

- 8. Piebogi JG.** Caractérisation des bêta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. Thèse biochimie Novembre 2007, Université de Liège, 127p. [Internet] disponible sur <http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-10172007-110129/>
- 9. Guessennnd N, Gbonon V, Ouattara N D, Kacou N'douba A, Ekaza E, Yapi D, et al.** Entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) d'origine communautaire à Abidjan de 2005 à 2006 : prévalence et niveau de résistance aux antibiotiques. *Revue Bio-Africa*. 2011;9:7-13.
- 10. Diarrassouba A, Traoré A, Monemo P, N'guessan AM, Tadet JON, Cissé A, Akoua-Koffi C.** Caractérisation phénotypique des souches bactériennes isolées au service de chirurgie orthopédique et traumatologique du CHU de Bouaké. *African Journal of Medical Biology / Revue africaine de Biologie Médicale*. 2020. 5(10):783-792.
- 11. Yao KR, Coulibaly JK, Tiekoura BK, Yapi FH, Djaman JA.** Molecular Characterisation of Extended-Spectrum Beta-lactamase Producing *Escherichia coli* Isolated from Cattle Faeces in Abidjan District. *Ivory Coast Microbiology Research Journal International*. 2018;25(5):1-10.
- 12. Koudokpon H, Dougnon V, Hadjadj L, Kissira I, Fanou B, Loko F, et al.** First Sequence Analysis of Genes Mediating Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) bla-TEM, SHV and CTX-M Production in Isolates of Enterobacteriaceae in Southern Benin *International Journal of Infection*. 2018;5(4):e83194.
- 13. Vora S, Auckenthaler R.** Que signifie « bêtalactamases à spectre élargi » en pratique ? *Revue Médicale Suisse* 2009;5:991-4.
- 14. Bora A, Hazarika NK, Shukla SK, Prasad KN, Sarma JB, Ahmed G.** Prevalence of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes in clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Northeast India. *Indian Journal of Pathology and Microbiology* 2014;57:249-254.
- 15. Zahar J-R, Bille E, Schnell D, Lanternier F, Mechai F, Masse V, et al.** Diffusion communautaire des entérobactéries sécrétrices de b-lactamase à spectre élargi (EBLSE) *Médecine/Sciences* 2009;11(25):939-44.



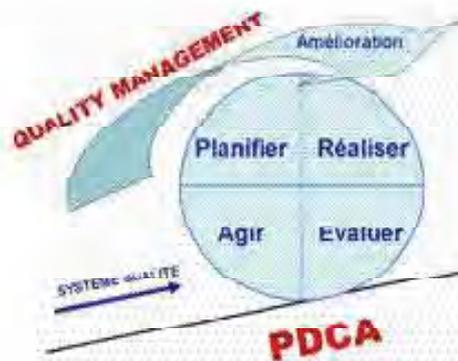


Institut Privé de Formation  
et de Recherches Médicales  
IPFORMED – Dakar, Sénégal



# MASTER EN

## *Management de la Qualité au Laboratoire - Année 2023*



**Formation  
EN LIGNE**

### PEUVENT S'INSCRIRE

- . Titulaires de Licence Qualité
- . Biologistes
- . Médecins
- . Vétérinaires
- . Pharmaciens
- . Ingénieurs
- . Techniciens supérieurs de Laboratoire

### Inscriptions

Inscription : 250.000 FCFA  
Mensualités (10 mois): 200.000 FCFA

### Informations ... Contacts

Institut Privé de Formation et de  
Recherches Médicales - IPFORMED  
E-Mail : [ipformed@ipformed.edu.sn](mailto:ipformed@ipformed.edu.sn)  
Téléphone : +221 33 860 86 86

### CONTENU DE LA FORMATION

#### ANNEE 1 :

- . UE 1 : Démarche Qualité
- . UE 2 : Laboratoire de Biologie
- . UE 3 : Autres Laboratoires (Essai, Recherche, Agro-alimentaires)
- . UE 4 : Informatique & Anglais (I)
- . UE 5 : Norme ISO 9001
- . UE 6 : Norme ISO 15 189 (I)
- . UE 7 : Norme ISO 17 025
- . UE 8 : Informatique & Anglais (II)

#### ANNEE 2 :

- . UE 9 : Biostatistique & Rédaction scientifique
- . UE 10 : Norme ISO 15 189 (II)
- . UE 11 : Autres Normes
- . UE 12 : Hygiène & Sécurité
- . UE 13 : Maintenance & Métrologie
- . UE 14 : Stages
- . UE 15 : Mémoire de fin d'études

## Section A : Bactériologie - Virologie

### Surveillance épidémiologique des bactéries multi-résistantes (BMR) au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis au Sénégal entre 2016 et 2020.

### Epidemiological surveillance of multidrug-resistant bacteria (MDR) at the Bacteriology Laboratory at the Regional Hospital Center of Saint – Louis in Senegal between 2016 and 2020

Kane A<sup>1,2</sup>, Lo S<sup>2,3</sup>, Diallo OF<sup>2</sup>, Doupa D<sup>2,3</sup>, Makalou D<sup>2,3</sup>, Diakhaby MELB<sup>3</sup>, Guèye S<sup>2</sup>, Diatta GC<sup>2</sup>.

1. Ecole Doctorale Sciences et Technologies, Université Gaston Berger de Saint-Louis

2. Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis

3. UFR-2S, Université Gaston Berger de Saint-Louis

## Section H : Bactériologie - Virologie

## Rubrique : Article original

### Résumé

**Introduction :** Les bactéries multi-résistantes « BMR », problématique dans la surveillance de la résistance aux antibiotiques, touchent les entérobactéries fréquemment isolées au laboratoire. L'objectif de ce travail était d'évaluer le système de surveillance des BMR mis en place au Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis après 5 années d'activités. Les objectifs spécifiques consistaient à :

- Collecter toutes les données épidémiologiques relatives aux BMR durant les cinq années,

- Répartir ces BMR selon le statut hospitalisé ou externe des patients, les services, produits pathologiques et les espèces concernées,

- Comparer l'évolution de ces BMR au cours de ces cinq années de surveillance.

**Matériels et méthodes :** Il s'agissait d'une étude rétrospective sur une période de 5 ans allant de janvier 2016 à décembre 2020. La collecte des données était effectuée à partir du registre des BMR du laboratoire sur lequel étaient mentionnées les données de patients (âge, sexe, diagnostic, statut hospitalisé ou externe, nature du produit pathologique, espèce isolée). L'identification bactérienne était faite par l'étude des caractères morphologique, culturels et biochimiques. L'antibiogramme était réalisé par la méthode de diffusion selon la procédure du CA-SFM/EUCAST incluant la recherche de résistances particulières (BLSE, SARM). Étaient définies comme BMR, toute bactérie présentant une résistance au moins à 3 familles d'antibiotiques. Les données étaient saisies sur Excel et analysées par le logiciel whonet V. 5.6.

**Résultats :** Sur 5 ans, 651 patients étaient inclus et près des 2/3 (67%) hospitalisés. Le sexe masculin représentait 443 avec un sex-ratio de 2,12. L'âge des patients variait entre 3 jours et 95 ans et ceux âgés de plus de 65 ans prédominaient. Les BMR étaient isolées de loin avec les échantillons urinaires (64,98%), suivis des pus (21,35 %) et des hémocultures (7,53%). *Escherichia coli* était en tête (53,61 %), suivie de *Klebsiella spp* (25,81%) et d'*Enterobacter spp* (6,45%). L'urologie hébergeait 25,65% des patients porteurs de BMR, ensuite venait la chirurgie générale (9,68%), la pédiatrie (4,61%) et la maternité (4%). Une progression des BMR était notée de 2016 à 2019 puis une baisse en 2020 due probablement à une réduction des hospitalisations liée à la pandémie à la Covid-19.

**Conclusion :** Ces résultats relatent une fréquence élevée des BMR dans les services chirurgicaux et prouvent la nécessité de renforcer le système de prévention et de surveillance existant. Ces informations capitales devront permettre d'orienter les stratégies pour la réduction des BMR et leur dissémination dans la communauté.

**Mots clés :** Bactéries multi-résistantes, surveillance, CHR Saint-Louis, Sénégal.

### Summary

**Introduction:** Multidrug-resistant bacteria (MDR) is a problem in the surveillance of antibiotic resistance and concern enterobacteria frequently isolated in the laboratory. The objective of this work was to evaluate MDR surveillance system implemented at the Regional Hospital of Saint-Louis after 5 years of activity. The specific objectives were to:

- Collect epidemiological data related to MDR during the five years,

- Distribute these MDR according to the inpatient or outpatient status, the services, pathological products and species concerned,

- Compare the evolution of these MDR during these five years of surveillance.

**Materials and methods:** This was a retrospective study over a 5 year period from January 2016 to December 2020. Data were collected from the laboratory by the MDR register on which patient data were reported (age, sex, diagnosis, inpatient or outpatient status, nature of the pathological product, species isolated). Bacterial identification was done by studying morphological, cultural and biochemical characteristics. The antibiogram was performed by diffusion method according to the CA-SFM/EUCAST procedure including the search for specific resistances (ESBL, MRSA). Bacterial presenting a resistance to at least third families of antibiotics was defined as MDR. Data were entered in Excel and analyzed by the whonet version 5.6 software.

**Results:** Over 5 years, 651 patients were included and almost 2/3 (67%) were hospitalized. The male sex represented 443 with a sex ratio of 2.12. The age of the patients ranged from 3 days to 95 years, with a predominance of those older than 65 years. MDR were isolated by far with urinary samples (64.98%), followed by pus (21.35%) and blood cultures (7.53%). *Escherichia coli* led the way (53.61%), followed by *Klebsiella spp* (25.81%) and *Enterobacter spp* (6.45%). Urology was home to 25.65% of MDR patients, followed by general surgery (9.68%), pediatrics (4.61%) and maternity (4%). An increase of MDR was noted from 2016 to 2019 and then a decrease in 2020 probably due to a reduction of hospitalizations caused by the pandemic of Covid-19.

**Conclusion:** These results show a high frequency of MDR in surgical services and demonstrate the need to strengthen the existing prevention and surveillance system. This vital information should help guide strategies for the reduction of MDR and their dissemination in the community.

**Key words :** multidrug-resistant bacteria, surveillance, Saint-louis hospital.

Correspondance : Dr Amadou Kane,  
kaneamadou5@gmail.com

## **INTRODUCTION**

Les bactéries multi-résistantes (BMR) sont définies comme présentant une résistance à au moins trois familles différentes d'antibiotiques. Elles constituent une problématique dans la surveillance de la résistance aux antibiotiques. Elles touchent toutes bactéries y compris les entérobactéries fréquemment isolées au laboratoire surtout les souches productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (E-BLSE) [1, 2, 3]. Ces dernières années, on note une recrudescence mondiale des BMR associée à une multitude de facteurs de risque d'acquisition de gènes de résistance. La dissémination des BMR entre patients hospitalisés, souvent fragilisés, est à l'origine d'une augmentation considérable de la mortalité, de la morbidité ainsi que du coût d'hospitalisation. De plus en plus, ces BMR sont aussi isolées chez des patients en traitement ambulatoire justifiant de leur présence dans la communauté. Ainsi, la surveillance de ces BMR est un indicateur fiable pour évaluer l'ampleur du problème afin

d'instaurer des stratégies d'intervention et de lutte adaptées dans nos hôpitaux [1,4,5].

Le Centre européen de contrôle et de prévention des maladies (ECDC) évaluait en 2015 à 33000 le nombre de décès résultants d'infections à bactéries résistantes aux antibiotiques. De même, une surmortalité équivalente est observée aux Etats Unis par le CDC d'Atlanta [6-7].

En Afrique de l'Ouest, y compris au Sénégal, la résistance aux antibiotiques concerne principalement les bactéries produisant des BLSE avec émergence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes ainsi que la résistance de *Staphylococcus aureus* à la méticilline (SARM) [16]. Au Sénégal, plusieurs stratégies ont été adoptées pour la surveillance des infections associées aux soins. Le programme de lutte contre les infections nosocomiales (PRONALIN), devenue la direction de la qualité, de la sécurité et de l'hygiène hospitalière, travaille en étroite collaboration avec les comités locaux (CLIN) au sein des structures de santé

**Kane A et coll.** Surveillance épidémiologique des bactéries multi-résistantes (BMR) au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis au Sénégal entre 2016 et 2020.

qui participent activement dans cette lutte contre les BMR [8].

La résistance aux antimicrobiens (RAM) a de nombreuses conséquences économiques, sanitaires et politiques. Selon une étude britannique publiée en 2016, d'ici 2050, la RAM pourrait être à l'origine de quelques 10 millions de décès par an dans le monde, soit plus que le cancer aujourd'hui, et coûter jusqu'à 100.000 milliards de dollars à l'économie mondiale [9].

Dans nos pays, de nombreuses politiques de surveillance ont été initiées et au niveau du CHR de Saint-Louis, le laboratoire a été mis à contribution pour collecter les données de BMR. L'objectif de ce travail était d'évaluer le système de surveillance des BMR mis en place au Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis après 5 années d'activités.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Il s'agissait d'une étude rétrospective sur une période de 5 ans allant de janvier 2016 à décembre 2020. Les

**Kane A et al.** Epidemiological surveillance of multidrug-resistant bacteria (MDR) at the Bacteriology Laboratory at the Regional Hospital Center of Saint – Louis in Senegal between 2016 and 2020

analyses bactériologiques étaient effectuées au Laboratoire de Bactériologie du CHR Saint-Louis quel que soit le produit pathologique (hémoculture, urines, génitaux, pus et liquides biologiques). Les échantillons provenaient des services d'hospitalisation et aussi à titre externe. La collecte des données était effectuée à partir du registre des BMR du laboratoire sur lequel étaient mentionnés les éléments suivants : identifiant, âge, sexe, diagnostic, statut hospitalisé ou externe, la nature du produit pathologique, l'espèce isolée. L'identification bactérienne était faite par l'étude des caractères morphologiques, culturels et biochimiques. L'antibiogramme était réalisé par méthode de diffusion selon la procédure du CA-SFM/EUCAST. La recherche de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) a été réalisée par la méthode classique basée sur la détection de la synergie entre un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) et trois disques de céphalosporine de troisième

génération (céfotaxime, céftazidime et céftriaxone) et de l’aztréonam. L’interprétation était faite après mesure des diamètres d’inhibition et les profils de résistance naturelle.

Etait définie comme BMR, toute bactérie présentant une résistance au moins à 3 familles d’antibiotiques. Les données étaient saisies sur Excel et analysées par le logiciel whonet version 5.6.

## RÉSULTATS

Sur 5 ans, 18035 échantillons étaient reçus au laboratoire et parmi eux 2830 étaient positifs soit près de 16%. La fréquence des BMR était de 23 % (n = 651) et près des 2 / 3 (67 %)

provenaient de patients hospitalisés.

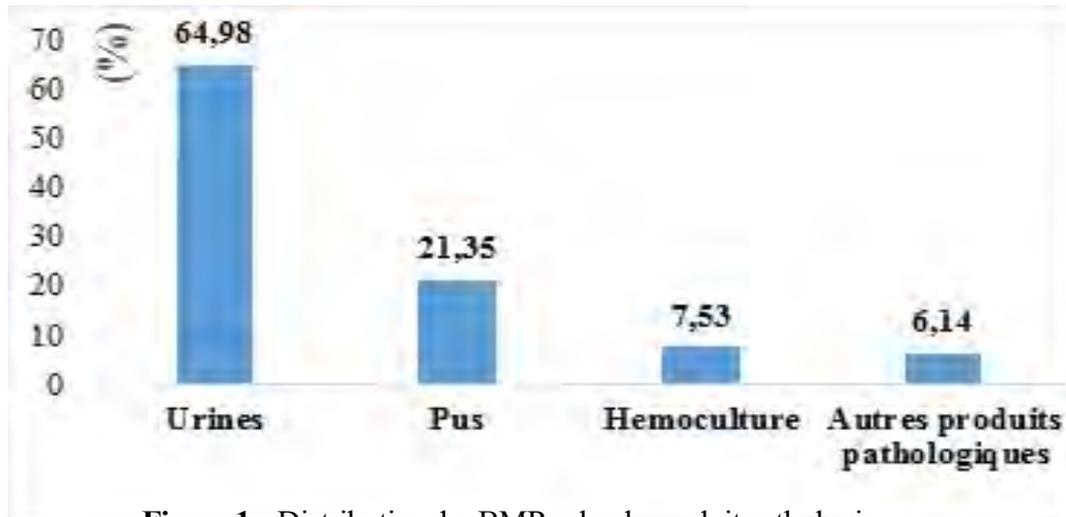
Les patients de sexe masculin représentaient 443 contre 208 de sexe féminin soit un sex-ratio de 2,12. L’âge était renseigné chez 620/641 patients, il variait de 3 jours à 95 ans avec une prédominance de ceux âgés de plus de 65 ans et la médiane d’âge était de 60,3 ans (tableau I).

La prévalence des BMR était de loin plus élevée pour les échantillons urinaires (64,98%), suivis des pus (21,35 %) et des hémocultures (7,53%) (Figure 1).

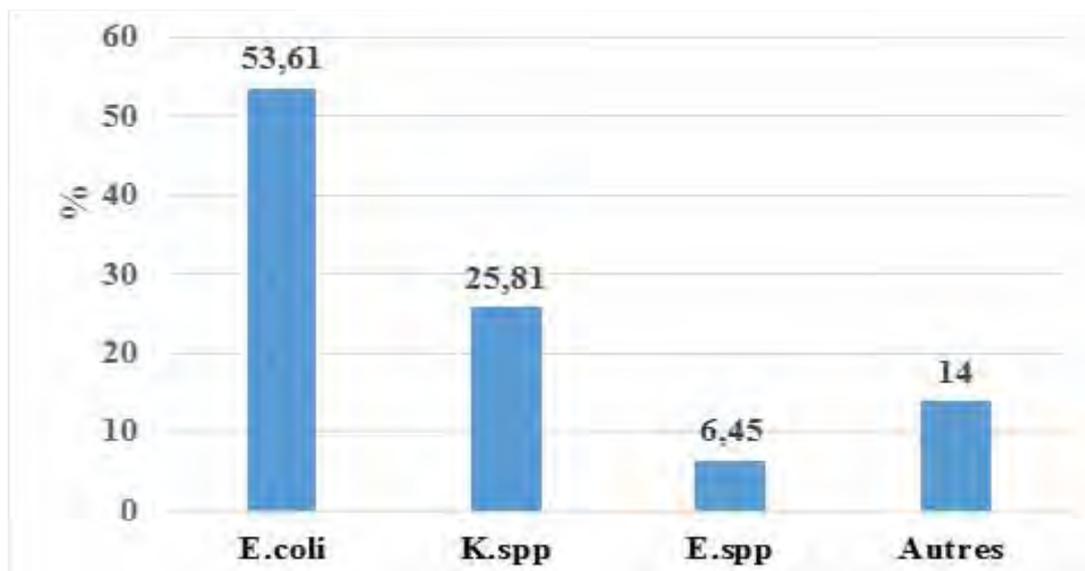
Concernant les espèces, *Escherichia coli* était en tête avec 53,61 % suivie de *Klebsiella spp*(25,81%) (Figure 2).

**Tableau I: Répartition des BMR par tranche d’âge**

Années/Age (ans)	0-20	21-40	41-60	+ de 60	Total
2016	14	22	22	54	112
2017	21	30	32	59	142
2018	10	13	16	78	117
2019	11	27	27	69	134
2020	29	18	19	49	115
<b>Total (%)</b>	85 (13,26)	110 (17,16)	116 (18,09)	309 (48,20)	620 (100)



**Figure 1 :** Distribution des BMR selon le produit pathologique



**Figure 2 :** Distribution des BMR selon l'espèce isolée

*E. coli*= *Escherichia coli* ; *K. spp*= *Klebsiella spp*, *E. spp*= *Enterobacter spp*

Les autres bactéries étaient réparties entre les espèces suivantes : *Proteus spp*, *Citrobacter spp*, *Morganella spp*, *Acinetobacter spp*.

L'urologie hébergeait 25,65% des patients porteurs de BMR, ensuite venait la chirurgie générale (9,68%), la pédiatrie (4,61%) et la maternité (4%).

Les autres services représentaient 27% des cas (tableau II).

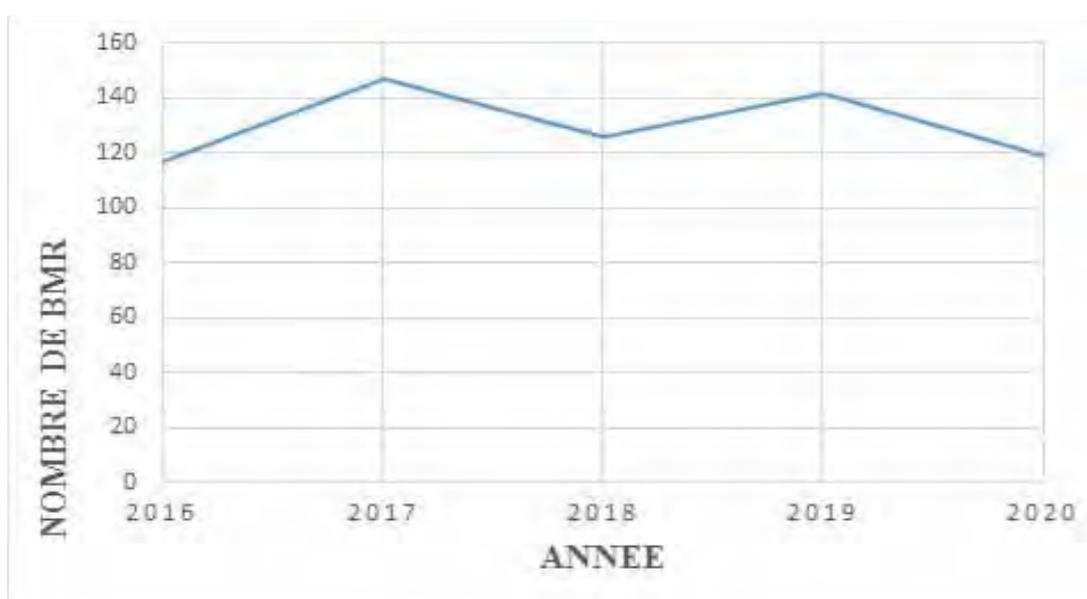
Les autres services étaient : Médecine interne, Hémodialyse, Réanimation, Urgences.

Une évolution en dent de scie des

BMR a été notée au cours des cinq années de surveillance. En revanche, une baisse des BMR était observée en 2020 due probablement à une réduction des hospitalisations liée à la pandémie à Covid-19 (figure 3).

**Tableau II** : Répartition des BMR selon l'année et selon les services

Années	Externe	Urologie	Chirurgie générale	Maternité	Pédiatrie	Autres
2016	15	42	15	16	07	22
2017	30	41	06	05	09	56
2018	52	38	08	00	04	24
2019	46	33	24	02	02	35
2020	46	13	10	03	08	39
<b>Total</b>	189	167	63	26	30	176



**Figure 3** : Evolution des BMR en fonction des années

## DISCUSSION

Ce travail a été réalisé dans le but d'évaluer la surveillance des BMR au niveau du laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis. Toutes les souches de BMR isolées chez les patients hospitalisés ou reçus en consultation externe durant la période de l'étude ont été étudiées. La fréquence des BMR était de 23% (n=651) et près des 2/3 (67%) provenaient de patients hospitalisés. Une prévalence de 22,44 % était obtenue au Togo sur une période de deux ans [10].

Les BMR étaient plus retrouvées chez les patients de sexe masculin. Une prévalence de 63 % de BMR pour le sexe masculin était obtenue au Maroc entre juillet 2006 et octobre 2008 [11]. Nous avons obtenu pour notre étude une sex-ratio de 2,12. A l'Hôpital Principal de Dakar un sex-ratio de 1,70 était obtenue en 2013 [12].

Le sexe Masculin était majoritaire et les patients âgés de plus de 65 ans

étaient plus concernés. Un résultat similaire était également noté au Mali (sexe masculin à 72,5%) [13].

Les BMR provenaient majoritairement des patients externes avec 29,03% (n=189) suivis du service d'urologie avec 25,65 % (n=167). Au Maroc, une prévalence de 79 % était obtenue au service d'urologie pour une durée de 19 mois d'étude [14].

*E. coli* était l'espèce la plus fréquente quel que soit le service d'hospitalisation et même pour les patients non hospitalisés.

Les deux espèces majoritairement concernées par la multirésistance étaient *Escherichia coli* et *Klebsiella spp* avec respectivement 53,61% (n=349) 25,81% (n= 168) entre 2016 et 2020. Au Togo, des chiffres similaires de BMR étaient obtenus en juin 2017 pour *E. coli* (51,13%) et *Klebsiella spp* (30,10%) [15].

Une étude de ce genre menée à l'Hôpital Principal de Dakar en 2012 avait donné des prévalences plus

élevées pour *Klebsiella spp* (59 %) contre 24% pour *E. coli* [12].

Dans plusieurs pays africains, cette tendance était notée pour ces deux entérobactéries [14, 16, 17, 18].

Par contre des prévalences plus basses étaient notées en 2014 en Tunisie avec 16,2 % pour *E. coli* et 29 % pour *K. pneumoniae* et en Mauritanie avec 10,4 % pour *E. coli* et 20,4 % pour *K. spp* en 2016 [16].

Les BMR provenaient dans la majorité des cas d'urines avec une prévalence de 64,98 % (n = 423). Le même constat était fait au niveau de l'Hôpital Principal de Dakar avec 30% [12] ; et en (Tunisie) avec 62,12% (n = 41) [19].

Ensuite venaient les suppurations avec 21,35 % (n=139) et les hémocultures avec 7,52 % (n=49).

Contrairement aux travaux menés en Tunisie où les hémocultures venaient en tête avec 36% [5].

Ailleurs, à Marrakech (Maroc), on note une prévalence de 20,29 % au service de réanimation en 2009.

Le pourcentage des BMR chez les patients externes n'était pas négligeable (29,03%) et ceci peut avoir des conséquences dans la dissémination des résistances au sein de la communauté. Les services chirurgicaux étaient plus concernés par les BMR avec l'urologie (25,65%) et la chirurgie générale (9,68 %).

Par rapport à l'évolution du nombre de BMR par année, une augmentation importante passant de 117 à 142 était notée. Cette augmentation était aussi notifiée dans les différents services d'hospitalisation. Cependant pour l'année 2020, une baisse était observée due probablement à une réduction des hospitalisations liée à la pandémie à la Covid-19.

## CONCLUSION

Ce phénomène de multi-résistance aux antibiotiques est un problème majeur de santé publique dans le monde, inquiétant et alarmant du fait des risques potentiels (surcoûts

**Kane A et coll.** Surveillance épidémiologique des bactéries multi-résistantes (BMR) au Laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Régional de Saint-Louis au Sénégal entre 2016 et 2020.

économiques et installation de bactéries hautement résistantes dans les services hospitaliers).

Ces résultats relatent une fréquence élevée des BMR dans les services chirurgicaux et prouvent la nécessité de renforcer le système de prévention et de surveillance existant. La prévention de la transmission croisée des BMR et le bon usage des antibiotiques sont les composantes essentielles. Cette prévention doit passer par une meilleure vulgarisation de l'hygiène des mains et un usage adéquat des antibiotiques.

Une meilleure maîtrise en termes de respect strict des mesures d'hygiène, l'isolement des porteurs, l'utilisation raisonnée des antibiotiques et définir les stratégies thérapeutiques et prophylactiques adaptées à l'épidémiologie locale sont les actions clés pour ralentir leur émergence et leur dissémination. Par ailleurs, le respect des règles de bonne

**Kane A et al.** Epidemiological surveillance of multidrug-resistant bacteria (MDR) at the Bacteriology Laboratory at the Regional Hospital Center of Saint – Louis in Senegal between 2016 and 2020

pratique officinale pour la délivrance des médicaments, le rôle majeur que doivent remplir les pharmaciens de ville comme conseillers en antibiothérapie sont autant d'éléments à promouvoir dans le contrôle de la diffusion de la multi-résistance dans la communauté. La diffusion intra- et extrahospitalière des EBLSE dans les infections bactériennes impose à tous les établissements de santé de surveiller toutes les EBLSE.

#### REFERENCES

- 1- **Vodovara D, Marcadé G, Raskine L, Malissin I, Megarban B.** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de médecine interne.*2013; 34(11):687-693.
- 2- **Delphine H, Wayne L, Clément L, Zahar JR, Grall I.** *Escherichia coli* sécréteur de bêta-lactamase à spectre élargi, quelles mesures faut-il prendre pour maîtriser le risque. *Revue francophone des laboratoires.*2016;2016(486):3-90.
- 3- **Durand A, Dupré C, Robriquet L.** Faut-il isoler les patients porteurs de BMR ? *Réanimation.* 2016;25:318-327.
- 4- **De Vallière S.** Multidrug-resistant bacteria and travel. *Revue médicale suisse.*2017;561(13):944-947.

- 5- Clouzeau B, Boyer A, M'Zali F, Kann M, Gruson D.** Nouvelles stratégies thérapeutiques contre les entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. *Réanimation*.2015; 24(3):270-277.
- 6- Touat M, Opatowski M, Brun-Buisson C, Tuppin P, De Lagasnerie G, Watier L.** Coût hospitalier de l'antibiorésistance à partir du PMSI selon la perspective de l'Assurance maladie. *Revue d'épidémiologie et de santé publique*.2019;67(2):91-92.
- 7- Coignard B.** Santé publique France. Antibiorésistance : la situation en France et dans le monde. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*.2019;203(3-4):159-169.
- 8- Ndoye B, Massenet B.** Le Sénégal face aux infections associées aux soins : actualités et perspectives. *Hygiènes*.2008;16(1):76-79.
- 9- Silvia G-C, Preciado JIS, Morfin-Otero MDR, Torres-Lopez FJ, Alcantar-Curiel MD.** Antimicrobial resistance. Its importance and efforts to control it. *Pathogens*.2020;156(2):171-178.
- 10- Akouétévi GT, Djeri B, Karou SD, Ameyapoh STY, Souza D.** Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*.2017;11(3):924-946.
- 11- Lahlou Amine I, Chegri M, L'Kassmi H.** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques*. 2009;11(2):90-96.
- 12- Fall B, Ndiaye KS, Diawara S, Niang B, Seye MN, Dieme E, Ba Fall K, Dieme Y, Wade B.** Surveillance des Bactéries Multi résistantes (BMR) à l'Hôpital Principal de Dakar : Bilan sur 1 an. *International Journal of Infectious Diseases*.2014;21(1):99.
- 13- Aime K, Gaudré N, Drame BS, Poudiougou A, Kassogué A, Koné H, Diarra A.** Profil de résistance aux  $\beta$ -lactamines des entérobactéries isolées des prélèvements urinaires à l'Hôpital du Mali. *Revue malienne d'infectiologie et de microbiologie*.2019;14(2):39-47.
- 14. Fouquet M, Morange V, Bruyère F.** Évolution sur cinq ans des infections à germes produisant une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu. *Prog Urol*.2017; 22(1):17-21.
- 15- Akouétévi G T, Bouraïma D, Simplicite D K, Ségla T, Yaovi A, Comlan S.** Prévalence des souches d'entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi isolées au Togo et de leur sensibilité aux antibiotiques. *Int. J Biol Chem Sci*. 2017;11(3):1165-1177.
- 16. Hailaji NSM, Ould Salema ML, Ghabera SM.** La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott-Mauritanie. *Progrès en Urologie*.2016;26(6):346-352.
- 17- Touré A, Sy D, Tangara M, Fongoro S.** Profil épidémiologique et bactériologique des infections urinaires à entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (E-BLSE) dans le service de néphrologie du CHU du Point G, Bamako, Mali. *RAMReS sciences de la santé*.2020; 2(2):28-29.
- 18- Djahida S, Imane S, Mourad D.** Résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes (Algérie). *MHA*.2011;23(67):37-41.
- 19- Saada L, Kooli I, Kadria Y, Abdejlil M, Marrakchib W, Aouamb A, Loussaief C, Toumib A, Ben Brahim H, Mastouri M, Chakroun M.** Les bactéries multi résistantes (BMR) chez le diabétique : étude épidémiologique. *Annales d'Endocrinologie*.2020;(81)4:408-456.

## Section A : Bactériologie - Virologie

### Aspects épidémiologiques et bactériologiques des méningites communautaires de l'enfant à Bouaké en 2020

### Epidemiological and bacteriological aspects of community meningitis in children in Bouaké in 2020

Tadet JON<sup>1,2</sup>, Akanji IA<sup>3</sup>, Gawa KJ<sup>2</sup>, Monémo P<sup>1,2</sup>, Touré SF<sup>2</sup>, N'Guessan AM<sup>2</sup>, Traoré A<sup>2</sup>, Konan AS<sup>2</sup>, Sahi LJ<sup>3</sup>, Koffi MS<sup>2</sup>, Adou LR<sup>3</sup>, Akoua-koffi C<sup>1,2</sup>.

1- UFR Sciences Médicales Bouaké, Université Alassane Ouattara

2- Laboratoire de Bactériologie-Virologie, CHU de Bouaké

3- Service de pédiatrie, CHU de Bouaké

#### Section A : Bactériologie - Virologie

#### Rubrique : Article original

##### Résumé

**Introduction :** Les méningites bactériennes sont responsables de mortalité infantile. Cette étude visait à actualiser les données épidémiologiques, bactériologiques et thérapeutiques sur les méningites communautaires de l'enfant à Bouaké.

**Matériel et méthodes :** Il s'est agi d'une étude transversale à visée descriptive menée au Laboratoire de Bactériologie du CHU de Bouaké sur 12 mois, incluant 620 échantillons de LCR provenant du service de pédiatrie et analysés selon les techniques de Bactériologie classique. L'antibiogramme et la détermination des phénotypes de résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon les critères CASFM/EUCAST 2020.

**Résultats :** Ces échantillons provenaient d'enfants (47,8%), de nourrissons (27,7%) et de nouveau-nés (26,5%), admis pour des convulsions fébriles (61,5%). L'analyse bactériologique du LCR trouble dans 8,5% des cas, a permis d'identifier principalement *Streptococcus pneumoniae* (69,8%), et *Haemophilus influenzae b* (12,1%). Les enfants non correctement vaccinés contre les méningites étaient plus exposés aux méningites à pneumocoque (37%) et à *Haemophilus influenzae b* (7%). Les méningites à pneumocoque étaient également observées chez des enfants correctement vaccinés. *Streptococcus pneumoniae* était sensible à la pénicilline G (66,7%), à la ceftriaxone (100%) et à la gentamicine (100%). *Haemophilus influenzae b* était sensible à la pénicilline A et à la cefotaxime (100%), mais résistante à la ceftriaxone (100%).

**Conclusion :** *Streptococcus pneumoniae* était l'agent causal majeur de méningites bactériennes de l'enfant non vacciné. Les cas de méningite à pneumocoque observés chez l'enfant vacciné, imposent un sérotypage des souches de pneumocoque pour en identifier les sérotypes circulant à Bouaké et un renforcement des mesures préventives.

**Mots-Clés :** Méningites, Bactéries, Pédiatrie, Bouaké

##### Summary

**Introduction :** Bacterial meningitis is responsible for infant mortality. This study aimed to update epidemiological, bacteriological and therapeutic data on community meningitis in children in Bouaké.

**Material and methods :** This was a descriptive cross-sectional study conducted at the Bacteriology Laboratory of the University Hospital of Bouaké over a period of 12 months, including 620 CSF samples from the pediatric department and analyzed according to classical bacteriology techniques. Antibiotic susceptibility testing and determination of antibiotic resistance phenotypes were performed according to CASFM/EUCAST 2020 criteria.

**Results :** These samples came from children (47.8%), infants (27.7%) and newborns (26.5%), admitted for febrile convulsions (61.5%). Bacteriological analysis of CSF disturbed in 8.5% of cases, identified mainly *Streptococcus pneumoniae* (69.8%), and *Haemophilus influenzae b* (12.1%). Children not properly vaccinated against meningitis were at greater risk for pneumococcal (37%) and *Haemophilus influenzae b* (7%) meningitis. Pneumococcal meningitis was also observed in properly vaccinated children. *Streptococcus pneumoniae* was susceptible to penicillin G (66.7%), ceftriaxone (100%) and gentamicin (100%). *Haemophilus influenzae b* was susceptible to penicillin A and cefotaxime (100%), but resistant to ceftriaxone (100%).

**Conclusion :** *Pneumococcus* was the main causative agent of meningitis, primarily affecting unvaccinated children. The cases of pneumococcal meningitis observed in the vaccinated subjects in this study require serotyping of the pneumococcal strains that escape vaccination. In addition, preventive measures against meningitis should be strengthened.

**Keywords :** Meningitis, Bacteria, Pediatrics, Bouaké

**Correspondance :** Tadet Juste Olivier Nekker (CHU de Bouaké)- Téléphone : +2250709008160 /+2250143056338, Email : jontadet@yahoo.fr - BP V11 Abidjan 01

## INTRODUCTION

Les méningites purulentes représentent un réel problème de santé publique dans le monde du fait de leur morbi-mortalité élevée [1]. En 2017, on dénombrait environ 5.045.400 nouveaux cas de méningite dans le monde occasionnant 288 000 décès dont la majorité sont survenus dans les pays pauvres [2]. Aussi en Afrique l'incidence de la maladie était de 1000 cas pour 100000 habitants en 2017 et les enfants constituaient la population la plus exposée [1,2]. Ainsi, la Côte d'Ivoire qui fait partie de la ceinture méningitique de poirier est de plus en plus touchée par les épidémies de méningites dans les régions du Nord, en témoigne l'épidémie de février 2007 à Bouaké ayant occasionné trente-six cas dont six mortels [3]. En effet, malgré les réformes entamés par les autorités sanitaires du pays par l'introduction de nouveaux vaccins contre la méningite, l'accentuation des campagnes de vaccinations, une persistante des

méningites communautaires est constatée tout le long de l'année, surtout dans le territoire quart Nord-Est, proche de la ville de Bouaké [3]. Cette étude menée au CHU de Bouaké visait donc à actualiser les données sur l'identité des principales bactéries responsables de méningites communautaires à Bouaké et de déterminer leur niveau de sensibilité vis-à-vis des antibiotiques usuels.

## MATERIELE ET METHODES

### 1. Type et cadre d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale rétrospective réalisée sur dossiers de patients entre le laboratoire de Bactériologie Virologie et le service de Pédiatrie Médicale du Centre Hospitalier et Universitaire durant un an (janvier à décembre 2020). La population d'étude était représentée par tous les enfants référés ou admis en hospitalisation au service de Pédiatrie pour une suspicion de méningite non associée aux soins et pour qui un prélèvement de liquide

cérébro-spinal (LCS) avait été réalisé. Les prélèvements de LCS étaient réalisés avec aseptie, recueillis dans des tubes rouges sans activateurs et acheminés immédiatement au laboratoire.

## **2. Analyse bactériologique**

Les échantillons de liquide cérébro-spinal (LCS) ont été analysés selon les techniques de bactériologie classiques comportant un examen macroscopique qui permet d'apprécier la limpidité du LCS, un examen microscopique direct à l'état frais et après la coloration de Gram. La recherche d'antigène soluble à l'aide du kit Pastorex méningitidis®. Une analyse cytologique (qualitative et quantitative) a été réalisée pour apprécier la leucorachie dont la valeur normale est inférieure à 5 éléments leucocytaires/mm<sup>3</sup>. La culture des échantillons de LCS a été effectuée sur un bouillon nutritif type Bouillon Cœur-Cerveille (BCC) et sur les géloses au sang frais (GSF) et les géloses au sang cuit (GSC) avec ajout de facteurs de croissance en cas de

suspensions de bactérie appartenant aux genres *Haemophilus* et *Neisseria*. L'identification des souches bactériennes a été réalisée sur la base de l'aspect à la coloration de Gram, la présence ou non de catalase (test à l'eau oxygéné), l'aspect culturel des colonies bactériennes, le type d'hémolyse, la sensibilité à l'optochine à l'antibiogramme et les tests d'agglutination de Lancefield avec le kit kit Pastorex méningitidis®.

## **3. Test de sensibilité**

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de disques imprégnés d'antibiotiques. L'interprétation des diamètres d'inhibition a été faite selon les recommandations du CASFM/EUCAST 2020. La recherche de résistance aux bêta-lactamines a été réalisée grâce au disque d'oxacilline 1ug pour *Streptococcus pneumoniae*, le disque de Pénicilline G 1ug pour les autres *Streptocoques* et la Pénicilline G 1UI pour *Haemophilus*

*influenzae b.* La recherche de la résistance aux fluoroquinolones a été déduite du disque de norfloxacin (10ug) pour les Streptocoques et du disque d'acide nalidixique (30ug) pour *Haemophilus influenzae b.* Les souches résistantes à l'oxacilline et à la pénicilline G ont été soumises à un test de confirmation par la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des autres bêta-lactamines telles que l'amoxicilline, le ceftriaxone, le céfotaxime.

#### **4. Analyse statistique des données**

Les variables étudiées étaient les données épidémiologiques : sexe, âge, les données bactériologiques, la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Les données étudiées ont été analysées à l'aide du logiciel Excel 2013 et le test de Chi<sup>2</sup> a été utilisé pour comparer les variables qualitatives au seuil de moins de 5%.

#### **5. Aspect éthique**

La Direction Scientifique Médicale (DMS) du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bouaké faisant office de Comité d'Ethique a approuvé cette étude (Réf N° 181 MSHP/CHU-B/DG/CE/ONAR/21).

### **RESULTATS**

#### **1. Aspects épidémiologiques**

Au cours de notre période d'étude 620 échantillons de liquide cébrospinal (LCS) ont été analysés et provenaient d'enfants (age > 2 ans) (47%), de nourrissons (29 jours à 2 ans) (27%) et de nouveau-nés (0 à 28 jours) (26%), avec un sex-ratio H/F à 1,2. L'analyse bactériologique du LCS était prescrite pour un trouble neurologique (convulsions fébriles (61,5%), coma (13,6%) ou pour une fièvre isolée (8,9%).

#### **2. Aspects bactériologiques**

La proportion de LCR ayant un aspect trouble était de 8,5% (N= 53/620)

avec une leucorrhachie moyenne à prédominance polynucléaire de 1327 éléments/mm<sup>3</sup> [100 - 2500] La coloration de Gram avait permis de noter la présence de bactéries dans 64,15% des cas (34/53), dont 58,8 de diplocoques Gram positif (20/34), 14,7% de Cocci à Gram positif en chainettes (5/34) et 26,5% de Bacilles à Gram négatif (9/34). La détection d'antigènes solubles réalisée dans 54,7% des cas (N= 29/53), était positive dans 86,2% (25/29). Ainsi l'analyse bactériologique avait permis d'identifier au total 33 souches bactériennes (*Streptococcus pneumoniae* (69,8% ; 23/33), *Streptococcus du groupe B* (12,1% ; 4/33), *Haemophilus influenzae b* (12,1% ; 4/33) et *Streptococcus* des groupes A et C (6% ; 2/33)). *Streptococcus pneumoniae* suivi des Streptocoques groupables A et C étaient retrouvée respectivement à 65,21% (15/23) et 50% (1/2) chez les enfants, puis 27,3% (6/22) et 50% (1/2) chez les nourrissons. Chez les nouveau-nés, *Streptococcus* du

groupe B (50% ; 2/4) et *Streptococcus pneumoniae* (4,34% ; 1/23) étaient les bactéries identifiées. *Haemophilus influenzae* (100% ; 4/4) était retrouvée essentiellement chez les nourrissons. Les cas de méningite de notre étude étaient majoritairement observés chez l'ensemble des enfants non correctement vaccinés contre le pneumocoque (35,8% ; 19/53) et *Haemophilus influenzae* (7,5% ; 4/53). Aussi, des cas de méningites surtout à pneumocoque (7,5% ; 4/53) avaient été également observés chez des enfants de tout âge ayant un carnet vaccinal à jour (Tableau I).

Dans ce travail, des cas de méningites purulentes ont été notifiés majoritairement aux cours des quatre premiers mois de l'année, avec un pic au mois de janvier (figure 1).

### **3. Sensibilité aux antibiotiques usuels**

Dans cette étude 31 souches bactériennes ont pu être isolées et soumises à un test de sensibilité aux antibiotiques (*Streptococcus pneumoniae* (69,8% ; 23/33),

*Streptococcus* du groupe B (12,1% ; 4/33), *Haemophilus influenzae b* (12,1% ; 4/33). Les souches de *Streptococcus pneumoniae* étaient de sensibilités diminuées à la pénicilline (33,3%) mais sensibles à 100% respectivement à la ceftriaxone, à la gentamicine et à la norfloxacine (Tableau I).

*Haemophilus influenzae b* présentait une sensibilité de 100% aux bêta-lactamines. Les streptocoques groupables plus particulièrement *Streptococcus* du groupe B présentaient une sensibilité à la pénicilline G, à la ceftriaxone, à la gentamicine et à l'erythromycine à fréquences égales de 100%.

**Tableau I :** Bactéries isolées selon le statut vaccinal contre les méningites et la classe d'âge

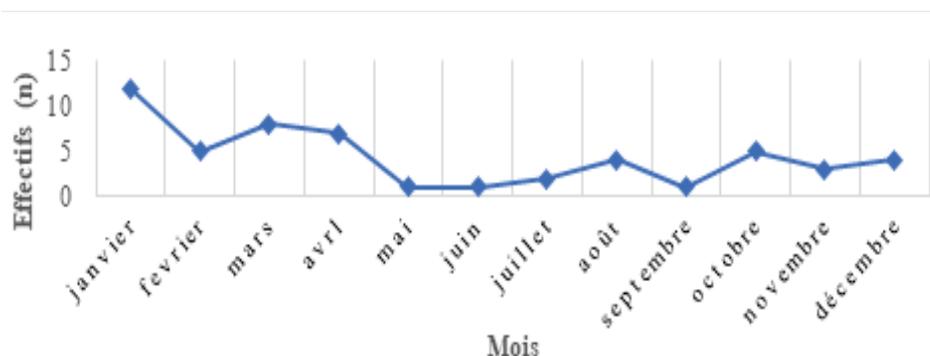
Classe d'âge	Statut vaccinal	Effectifs	Bactéries				
			S. pneum.	H.ib	S. agalactiae	S. groupables A, C	Non identifiées
Nouveau-né (0-28 jours)	N/A*	9	1	0	2	0	6
Nourrisson (1mois-2 ans)	A jour	3	2	0	0	0	1
	Non à jour	19	5	4	2	1	7
Enfant (> 2 ans)	A jour	1	1	0	0	0	0
	Non à jour	21	14	0	0	1	6
Total	53	23	4	4	2	20	

**S. pneum.:** *Streptococcus pneumoniae* -  
**S. agalactiae:** *Streptococcus agalactiae*

**H.ib :** *Haemophilus influenzae b* -

**S. groupables :** streptocoques groupables

\*N/A : non applicable (car aucune dose vaccinale recommandée à cet âge contre les méningites)



**Figure 1:** Répartition des méningites aiguës selon le mois

**Tableau II : Bactéries isolées et niveau de sensibilité aux antibiotiques usuels**

Antibiotiques	Bactéries isolées et niveaux de sensibilité					
	<i>S. pneumoniae</i> (N = 23)		<i>H. influenzae b</i> (N = 4)		<i>S. groupable B</i> (N= 4)	
	Sensible n (%)	Resistant n (%)	Sensible n (%)	Resistant n (%)	Sensible n (%)	Resistant n (%)
<b>B-lactamines</b>						
<i>Pénicilline G</i>	15 (66,7)	8 (33,3)	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<i>Oxacilline</i>	15 (66,7)	8 (33,3)	Non testé		Non testé	
<i>Amoxicilline</i>	15 (66,7)	8 (33,3)	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<i>Cefotaxime</i>	23 (100)	0,0	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<i>Ceftriaxone</i>	23 (100)	0,0	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<b>Aminosides</b>						
<i>Gentamycine</i>	23 (100)	0,0	Non testé		4 (100)	0,0
<i>Streptomycine</i>	23 (100)	0,0	Non testé		4 (100)	0,0
<b>Phénicolés</b>						
<i>Chloramphénicol</i>	18 (77,8)	5 (22,2)	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<b>Macrolides</b>						
<i>Erythromycine</i>	15 (66,7)	5 (33,3)	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<b>fluoroquinolones</b>						
<i>Norfloxacin</i>	23 (100)	0,0	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0
<i>Acide nalidixique</i>	23 (100)	0,0	4 (100)	0,0	4 (100)	0,0

## DISCUSSION

Durant une période d'un an, l'étude transversale axée sur les méningites communautaires de l'enfant a été réalisée au Laboratoire de Bactériologie - virologie du CHU de Bouaké. Cette étude monocentrique a permis d'identifier des pathogènes bactériens représentants dans une certaine mesure la situation locale au cours de la période d'étude. Au plan

épidémiologique, le taux d'incidence des méningites purulentes était de 8,5% (53/620). Le taux d'incidence relativement élevé dans cette étude pourrait être en lien avec le lieu de l'étude [3]. En ce qui concerne l'âge, les populations atteintes de méningites étaient majoritairement les enfants de plus de deux ans. Cet âge correspond selon le calendrier vaccinal ivoirien à celui indiqué pour le programme de

vaccination dit Hors-PEV (programme de vaccination n'étant pas subventionné par les fonds publics et donc à la charge des parents) [4]. Ainsi, le facteur coût de certains vaccins comme le pneumo 23 administré à cet âge, auquel s'ajoutent le manque d'information et d'accessibilité aux soins, et la négligence parfois des parents contribueraient sans doute à la flambée des cas de méningite dans cette frange de la population cible [5]. S'agissant du sexe, une prédominance observée chez la gente féminine a été rapportée dans notre travail. Berthe en 2020 à Bamako, avaient retrouvé des tendances inversées par rapports aux nôtres [6]. Par contre, une étude réalisée dans le quart Nord Est de la Côte d'Ivoire avait retrouvé des résultats similaires aux nôtres [3]. Selon cette étude, la prédominance féminine était due aux habitudes inculquées dès le bas âge aux jeunes filles dans la gestion des tâches ménagères. En effet le balayage du sol

nu sans aucune mesure de protection contre la poussière et l'assistance assez fréquente des malades par la gente féminine justifieraient la connotation féminine attribuée aux cas de méningite tels que rapportés dans cette étude. Pour ce qui est du statut vaccinal de nos enquêtés, nous avons noté que la plupart d'entre eux n'étaient pas correctement vaccinés contre les méningites. Un tel constat dans ce travail pourrait être dû à un manque d'informations des parents, l'accès difficile aux soins, l'ignorance et parfois la négligence de certains parents [7]. Aussi, les cas notifiés de méningites dans cette étude, s'inscrivaient dans le courant des quatre premiers mois de l'année avec un pic au mois de janvier. Ceci se justifierait par le fait que dans le quart Nord-Est de la Côte d'Ivoire, le mois de janvier correspondrait à la période de la saison sèche. Des résultats similaires ont été rapportés par certains auteurs dont Kouassi et al en

2018 en Côte d’Ivoire et Engho en République Démocratique du Congo en 2019. Selon ces derniers, c’est généralement au cours de cette période que l’on est soumis aux vents secs et à la poussière de l’harmattan, avec une fréquence élevée des infections ORL et pulmonaires ; donc prédisposé à faire des méningites secondaires [1,3]. Parmi les 53 cas de méningites purulentes confirmés dans cette étude, 33 souches bactériennes ont pu être identifiées, soit un taux d’identification de 62,3%. Sur le plan étiologique, *Streptococcus pneumoniae*, et *Streptococcus groupables A et C* étaient les bactéries fréquemment isolées chez les enfants et les nourrissons. *Haemophilus influenzae* (100%) était essentiellement retrouvé chez les nourrissons tandis que *Streptococcus pneumoniae* (4,34%) et *Streptococcus agalactiae* (*Streptocoque du groupe B*) (50%) étaient les bactéries retrouvées chez les nouveau-nés. Ces résultats sont

différents de ceux de Levy C et al, 2014 selon lesquels, *Streptocoque du groupe B* (57 %) et *Escherichia coli* (28 %) étaient les deux premières bactéries trouvées en période néonatale, tandis que *Streptococcus pneumoniae* était la première espèce bactérienne trouvée entre 2 mois et 1 an (46 %) [8]. Celui-ci avait par contre retrouvé une prédominance de méningocoque au-delà de l’âge d’un an. Au plan thérapeutique, les souches de pneumocoque étaient à 100% sensibles respectivement à la ceftriaxone et à la gentamicine. Elles avaient une sensibilité diminuée vis-à-vis de la Pénicilline G (33,3%), du chloramphénicol (22,3%), de l’erythromycine (22,3%).

Cette baisse de sensibilité aux autres antibiotiques dans notre travail pourrait s’expliquer par l’acquisition de gènes de résistance à partir d’autres espèces bactériennes présentes au niveau du nasopharynx et de l’oropharynx [9]. S’agissant des souches de *Haemophilus influenzae*

concordaient avec ceux d'une étude menée par Li et al en Chine en 2018 au cours de laquelle toutes les souches de *Haemophilus influenzae* b testées présentaient une sensibilité à l'ampicilline, au céfuroxime, au céfotaxime, à la ceftriaxone [10]. Les streptocoques groupables, plus particulièrement *Streptococcus du groupe B* présentait une sensibilité à la pénicilline G, à la ceftriaxone, à la gentamicine et à l'érythromycine à fréquences égales (100%). Ces données étaient corroborées par une étude réalisée en France en 2012 ou sur 438 isolats de *Streptococcus* du groupe B responsables d'infections invasives, tous étaient sensibles à la pénicilline, à l'amoxicilline et à la vancomycine. La résistance aux aminoglycosides était rare, avec seulement sept isolats (1,6 %) présentant une résistance de haut niveau à la kanamycine et un isolat présentant une résistance de haut niveau à la gentamicine [11].

Cependant, certains streptocoques du groupe B sont moins sensibles à la pénicilline que d'autres. Ainsi, dans ce contexte, la vancomycine et les céphalosporines de troisième génération constituent parfois des alternatives quoique l'efficacité des céphalosporines de troisième génération n'ait pas été établie [12]. En ce qui concerne le statut vaccinal, les méningites à *Streptococcus pneumoniae*, et à *Haemophilus influenzae* étaient plus fréquentes chez les sujets non correctement vaccinés tandis que celles à *Streptococcus du groupe B* était observées chez les nourrissons quel que soit le statut vaccinal. De plus, il faut noter dans ce travail que des cas de méningites ont également été rapportés chez des nouveau-nés, nourrissons et enfants dont le carnet vaccinal était à jour pour l'âge correspondant. La fréquence importante de pneumocoque constatée chez les enfants et les nourrissons et de

*Haemophilus influenzae b* surtout chez les nourrissons, pourrait être due au manque d'adhésion à la vaccination, eu égard à des facteurs tels que le niveau d'alphabétisation et les conditions socio-économiques des parents [13]. En effet, en ce qui concerne *Haemophilus influenzae* certaines études avaient noté que la proportion des enfants vaccinés contre *Haemophilus influenzae b* diminuait avec l'âge. Cette proportion passe de 72,7% pour la première dose de 6 semaines à 61% pour la troisième dose de 14 semaines [7]. S'agissant du pneumocoque, le taux observé pourrait être dû chez les nourrissons non vaccinés à la perte des anticorps d'origine maternelle alors que le système immunitaire de ces derniers est encore immature pour assurer une protection efficace contre les principaux agents infectieux [7]. Chez l'enfant, ceci pourrait être en rapport avec la dose immunisante non encore atteinte ou à l'existence éventuelle de sérotypes non couverts par la vaccination. Quant aux nouveau-nés,

la présence du pneumocoque s'expliquerait par le fait que quoique ceux-ci aient le carnet vaccinal à jour par rapport à l'âge indiqué, à cette période de leur vie il n'existe pas de vaccin recommandé contre la méningite comme l'indique le calendrier vaccinal. De plus la fréquence élevée dans notre étude de *Streptococcus du groupe B* d'une part chez les nouveau-nés et de *Streptococcus du groupe A* et du *groupe C* chez les nourrissons résulterait pour le premier cas, d'une insuffisance des consultations prénatales dans le cadre de la surveillance des infections materno-foetales, et pour le second cas d'un défaut de prise en charge des infections de la sphère ORL chez le nourrisson.

## CONCLUSION

Les méningites communautaires de l'enfant à Bouaké étaient dominées par le pneumocoque suivi de *Haemophilus influenzae b* dont les fréquences étaient élevées chez les

**Tadet JON et coll.** Aspects épidémiologiques et bactériologiques des méningites communautaires de l'enfant à Bouaké en 2020

sujets non vaccinés. Cependant, des cas notifiés de méningite à pneumocoque ont été relevés également chez les sujets correctement vaccinés contre les méningites. De tels résultats imposent la poursuite de ce travail par une étude de sérotypage, afin d'identifier les principales variantes de ces souches de pneumocoque ayant échappé à la couverture vaccinale. Aussi les mesures préventives dans le sens de la sensibilisation pour l'adhésion à la vaccination, le traitement correct des infections de la sphère ORL, ainsi que la surveillance régulière des infections maternofoetales doivent être renforcées dans nos hôpitaux.

## REFERENCES

- 1. Merabet M, Aouragh R, Idrissi A.** Les méningites bactériennes aiguës communautaires chez les enfants de moins de 5 ans à la région Tanger-Tétouan-Al Hoceima (Maroc) 2006-2015 : Profil épidémiologique, clinique et biologique. *Antropo*.2018;40:1-11.
- 2. Venkatesan P.** Defeating meningitis by 2030: the WHO roadmap. *The Lancet*.2021;21(12):1635.
- 3. Kouassi K, Sreu E, Kanga K, Brissy O, Assi K.** La méningite dans le quart nord-est ivoirien : une épidémie révélatrice d'inégalités et d'isolement socio-spatial. *Revue ivoirienne de Géographie des Savanes*.2018;4: 2521-25. [Internet]. [Cité 26 avril 2021]. Disponible sur : <https://www.riges-uao.net/volumes/volume4/index.php>

**Tadet JON et al.** Epidemiological and bacteriological aspects of community meningitis in children in Bouaké in 2020

**4. Rainey JJ, Watkins M, Ryman TK, Sandhu P, Bo A, Banerjee K.** Reasons related to non-vaccination and under-vaccination of children in low and middle income countries: findings from a systematic review of the published literature, 1999-2009. *Vaccine*.2011;29(46): 8215-21.

**5. Douba A, Aka LBN, Yao GHA, Zengbé PA, Akani BC, Konan, N.** Facteurs sociodémographiques associés à la vaccination incomplète des enfants de 12 à 59 mois dans six pays d'Afrique de l'ouest. *Santé Publique*.2015;27: 575-84.

**6. Berthe IM.** Etude épidémiologique clinique bactériologique et thérapeutique des méningites bactériennes chez les enfants de 0 à 15 ans au CS Réf & MSF de Koutiala. Thèse médecine. Université des sciences des techniques et des technologies de Bamako. 2020;335:94p.

**7. Assè KV, Yénan JP, Yao KC, Apka L, Yéboua K, Aka A, Plo KJ.** Profil des méningites bactériennes de l'enfant à Bouaké, 5 ans après l'introduction du vaccin anti-*Haemophilus influenzae* type B dans le Programme Elargi de Vaccination (PEV) de Côte d'Ivoire. *RAMUR*. 2015; 20 (1): 7-14.

**8. Levy C, Varon E, Taha MK, Béchet S, Bonacorsi S, Cohen R et al.** Change in French bacterial meningitis in children resulting from vaccination. *Archives de Pédiatrie*. 2014 ; 21 :736-744.

**9. Sabbar H.** Impact de la vaccination antipneumocoque sur l'incidence des infections invasives a pneumocoque et sur l'antibiorésistance chez les enfants âgés de moins de cinq ans. Thèse Pharmacie. Université Mohammed V de Rabat. 2022 ; 51 : 211p.

**10. Li C, Feng WY, Lin AW, Zheng G, Wang YC, Han YJ et al.** Clinical characteristics and etiology of bacterial meningitis in Chinese children > 28 days, January 2014-December 2016: a multicenter retrospective study. *International Journal of Infectious Diseases*.2018;74:47-53.

**11. Joubrel C, Tazi A, Six A, Dmytruk N, Touak G, Bidet P, et al.** Group B streptococcus neonatal invasive infections, France 2007–2012. *Clinical Microbiology and Infection*. 2015 ; 21(10) : 910 6.

**12. Kim KS.** Acute bacterial meningitis in infants and children. *Lancet Infect Dis*. 2010; 10 : 32–4.

**13. Tauil MC, Sato APS, Waldman EA.** Factors associated with incomplete or delayed vaccination across countries: A systematic review. *Vaccine*. 2016;34:2635-43.

## Section G : Immunologie

Immune parameters in subjects diagnosed COVID-19+ and incidence in HIV-positive patients in Bangui, Central African Republic.

Paramètres immunitaires chez les sujets diagnostiqués COVID-19+ et incidence chez les patients VIH à Bangui, en République centrafricaine.

Nambei WS<sup>1</sup>, Nembi G<sup>1</sup>, Gbangbangai E<sup>2</sup>, Kodia-Lenguetama RE<sup>1</sup>, Rafai C<sup>3</sup>, Rawago-Mandja D<sup>3</sup>, Longo JDD<sup>1</sup>, Balekouzou A<sup>1</sup>, Gamba ED<sup>1</sup>, Grésenguet G<sup>1</sup>.

1- Biomedical Sciences department, Faculty of Science and Health, University of Bangui, Central African Republic

2- Army Health Service, Central African Republic

3- National Laboratory of Public Health

### Section G : Immunologie

### Rubrique : Article original

#### Résumé

**Introduction :** The new coronavirus infection poses a real public health problem worldwide. The incidence of COVID-19 disease among HIV+ is unclear in the country. The Objective were to describe these immune parameters for an analysis of the evolution over time, to identify some risk factors related to the progression of the disease in subjects diagnosed COVID-19+ with mild symptoms and to describe if HIV infection as an important comorbid conditions in patient with COVID-19.

**Materials and Methods :** A cross sectional survey study was conducted. Patients data from april to July 2020 was collected. The lymphocyte cell counts blood was measured by flow cytometrie. IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2 were detected by the kit IgM/IgG DUO®. For HIV antibodies, we used Determine® and Unigold®. The SARS-CoV-2 virus RNA were detected by PCR. SPSS 22 was used for statistical analysis.

**Results :** A total of 79 serums COVID-19+ were analyzed. Fever (30.37%), cough (50.63%), headache (44.3%), loss of taste (22.78%) were observed. HIV+/COVID-19+ was 11.39%. COVID-19+ subjects with IgM+ were 67%, IgG+ were 63%, IgM- were 33% and IgG- were 37%. An increase number of eosinophils and basophils respectively 45.57% and 46.84% were observed. We observe that (46.51%) of patients had Hb < 12g/dl, (21.52%) and (12.66%) had a higher ALT and AST. No significant association was observed between the increase in polyuclear levels and the IgM+ response. CD4+ T cells in coinfecting HIV+/COVID-19+ was 608±589 cells/μl [RR = 0.8; CI95% = 0.7-3].

**Conclusion :** Lymphopenia, neutropenia, eosinopenia and continuous increased IgG+ could serve to predict the poor prognosis of COVID-19 patients. Humoral clearance is rapid in the case of COVID-19. HIV was not identified as an important comorbidity.

**Key words:** COVID-19, SARS-CoV-2, HIV, immune parameters, Central African Republic

#### Summary

**Introduction :** La nouvelle infection à coronavirus pose un véritable problème de santé publique dans le monde. L'incidence de l'infection à COVID-19 chez les patients VIH+ n'est pas bien établie dans le pays. L'objectif était de décrire les paramètres immunitaires, d'identifier certains facteurs de risque chez les sujets COVID-19+ présentant des symptômes mineurs et de décrire si l'infection à VIH constitue une comorbidité importante chez les patients COVID-19.

**Matériels et méthodes :** Nous avons conduit une étude transversale. Les données des patients d'Avril à Juillet 2020 ont été collectées. Le nombre de cellules lymphocytaires a été mesuré par cytométrie en flux. Des anticorps IgM et IgG contre le SRAS-CoV-2 ont été détectés en utilisant le kit IgM/IgG DUO®. Pour les anticorps anti-VIH, les tests Determine® / Unigold® étaient utilisés. L'ARN du virus du SRAS-CoV-2 a été détecté par PCR. SPSS 22 a été utilisé.

**Résultat :** Au total, 79 sérums COVID-19+ ont été analysés. Fièvre (30,37 %), toux (50,63%), céphalées (44,3 %), perte de goût (22,78 %). VIH+/COVID-19+ était de 11,39 %. Les COVID-19+/IgM+ étaient 67 % et IgG+ étaient 63 %. Les IgM- (33 %) et les IgG- (7 %). On a observé une augmentation du nombre d'éosinophiles et de basophiles respectivement de 45,57 % et de 46,84 %. Nous avons observé que (46,51 %) des patients avaient Hb < 12g/dl, (21,52%) et (12,66 %) avaient un ALAT et un ASAT plus élevés. Aucune association significative n'a été observée entre l'augmentation des niveaux de polynucléaire et IgM+. T CD4+ chez les coinfectés étaient de 608 ±589 cellules/μl [RR = 0,8 ; CI95 % = 0,7-3].

**Conclusion :** La lymphopénie, la neutropénie, l'éosinopénie et l'augmentation des IgG pourraient servir à prédire le mauvais pronostic des patients atteints de la COVID-19. La clairance humorale est rapide dans le cas de la COVID-19. Le VIH n'a pas été identifié comme une comorbidité importante.

**Mots clés :** COVID-19, SARS-CoV-2, VIH, paramètres immunitaires, Centrafrique.

**Correspondance :** wilfrid.nambei@gmail.com, phone : 236 75509075

## INTRODUCTION

Since 2019, coronavirus infection, a global health emergency, has continued to progress globally despite control and quarantine measures [1]. Belonging to the coronavirus family, SARS-CoV 2 has a very high transmission and infectivity potential as SARS-CoV 1 and MERS-COV [2,3]. SARS-CoV 2 is responsible for respiratory infections with severe pneumonia that can lead to death in infected patients [4,5]. In the absence of extensive data and specific treatment, some work has shown that the COVID-19 mortality rate varies significantly from country to country globally [6]. Furthermore, some researchers have identified comorbidities associated with an increased risk of COVID such as hypertension, diabetes, cardiovascular disease [6]. Given the rapid progression of the disease in some patients and the timely time for the clinician to decide, it seems advisable to identify patients at risk. Although the pathogenesis and

pathophysiology of COVID-19 infection is not yet fully understood, the role of immune response and inflammation in disease progression is important even though we have limited information [7]. The identification of risk factors associated with the progression of COVID-19 disease through common and easy to obtain immune indicators provides an essential intervention that can improve mortality from SARS-CoV 2 even though The HIV and COVID 19 relationship is not yet clear [8]. In the Central African Republic (CAR), no data were available about progression of COVID-19 in HIV infected individuals, particularly with immune indicators of diseases evolution. We propose to explore several immune parameters for an analysis of the evolution over time and to identify some risk factors related to the progression of the disease in subjects diagnosed COVID-19+ with mild symptoms.

## **MATERIALS AND METHODS.**

### **Design, study area and period**

A cross sectional survey study was conducted in the National Laboratory in Bangui, CAR. Patients data were collected from April 06, 2020 to July 07, 2020.

### **Serum samples collected**

During the study period, 7743 patients were tested for COVID-19 by PCR. Of these, 79 were positive for COVID-19. All serums for COVID-19-positive patients were systematically included for the laboratory analysis.

### **Data collection**

Data on socio-demographic characteristic (sex, age) and laboratory were collected. For this study, the hematology data were obtained by using automatic analysers Pentra 60<sup>®</sup> and Sysmex XN330<sup>®</sup>. The biochemical data were obtained with automatic analyzer Cyans mart<sup>®</sup>. Blood lymphocyte cell counts were measured by flow cytometry. IgM and IgG antibodies against SARS-Cov2 were detected by the kit IgM/IgG

DUO<sup>®</sup> from the TURKLABTIBBI MALZEMELER SAN. For HIV antibodies, we used Determine<sup>®</sup> from Abbott laboratory and Unigold<sup>®</sup> from Trinity biotech lab. The RNA detection by PCR Kit DAAN GENE from the QIAamp<sup>®</sup> viral RNA Mini kit, were used according the manufactured. Thus, result was considered as positive result when the reporters FAM and VIC have positive Ct d' 40 and positive Cy5 or negative Cy5. A negative result when the reporters FAM, VIC and Cy5 were negative. If you have positive reporters FAM and Cy5 and negative VIC, you can retested the sample.

### **Data analysis**

Descriptive analyses were performed and results were presented by text and tables. Data were entered into SPSS version 22 and analysis. The exact Fisher chi-square test was used to compare the different factors studied. In order to assess the risk between HIV and COVID-19, the association between humoral, cellular responses to COVID-19 and biological parameters,

we conducted a bivariate analysis stratified according to the modalities of the factors studied. The ratio odds and relative risk were calculated along with the 95% confidence interval. For a  $p < 0.05$ , the ratio odds and relative risk value was in favour of a statistically significant association.

**Ethics approval.** The study was performed in accordance with the declaration of Helsinki. The design were approved by Faculty of Sciences and Health Ethics committees (N32/FACS/CES.2020) and confidentiality were guaranteed.

## RESULTS

### Characteristics of patients.

Of the 79 serums tested, 34 were female (43%) and 45 were male (57%). The average age was  $41.53 \pm 16.93$  years. HIV<sup>+</sup>/COVID-19<sup>+</sup> association was concerned 11.39% of patients. COVID19<sup>+</sup> subjects with IgM<sup>+</sup> were 67% and IgG<sup>+</sup> were 63%. Patients COVID-19<sup>+</sup>

with IgM- were 33% and IgG- 37%. The ranking of the underlying disease was hypertension (15.2%), diabetes (10.2%), drinking (45.5%) and so on. The most common symptoms were fever (30.76%), cough (51.28%), headache (46.15%), loss of taste (23.07%) as shown in table I.

### Laboratory findings among COVID-19+ patients diagnosed

Table II shows a decrease in the number of neutrophils in 64.55% of patients and an increase in the number of eosinophils and basophils respectively in 45.57% and 46.84% of cases. Similarly, the ratio of Neutrophil-to-Lymphocytes (NLR) were (0.93). Moreover, 11.4% of the subjects had a low lymphocyte rate. At the same time, we observe that 46.51% of patients had a hemoglobin level below 12g/dl, 21.52% and 12.66% had a higher ALT and AST rate respectively. In addition, 46.84% of patients had a high CRP levels.

**Table I :** Characteristics of patients

Variables	Number N = 79	Percentage (%)
<b>Age group (years)</b>		
Means of age = 41.53±16.93		
0-14	06	8
15-24	12	15
25-34	11	14
> 35	50	63
<b>sex-ratio = 1.32</b>		
Male	45	57
Female	34	43
<b>HIV serology</b>		
Positive	09	11.39
Negative	70	88.61
<b>COVID-19 serology</b>		
<b>IgM</b>		
Positive	53	67
Negative	26	33
<b>IgG</b>		
Positive	50	63
Negative	29	37
<b>Comorbidities</b>		
hypertension	12	15.2
diabetes	08	10.2
smoking	23	29.1
drinking	36	45.5
<b>Signs and symptoms</b>		
Fever	24	30.37
Cough	40	50.63
headache	35	44.30
Loss of taste	18	22.78
Loss of smell	16	20.25
Myalgia	18	22.78
Dyspnea	10	12.65

### **Bivariate analysis between HIV+/ COVID-19+ status and studied biological parameters**

In co-infected patients, we observed a relatively high level of eosinophils and basophils with  $5.45 \pm 4.17 \times 10^9/L$  and  $1.2 \pm 0.08 \times 10^9/L$ , respectively, with a risk of [RR = 1.56 with

**Table II :** Distribution of biological parameters in COVID-19+ patients

Variables	COVID-19 + n = 79	%	[CI95%]
<b>Polynuclear (%)</b>			
<b>Neutrophils = 40.78</b> [37.06-44.51]			
< 45	51	64.55	
>= 45	28	35.45	
<b>Eosinophils = 5.72</b> [3.93-6.44]			
< 3	43	54.43	
>=3	36	45.57	
<b>Basophils = 1.86</b> [0.63-1.08]			
< 1	42	53.16	
>=1	37	46.84	
<b>Lymphocyte = 43.58 %</b> [40.19-46.97]			
< 20	9	11.4	
> 40	70	88.6	
<b>CD4+ T = 778.58 cells/μl</b> [706.8-850.32]			
< 500	16	20.25	
>= 500	63	79.75	
<b>Neutro-to-lympho ratio = 0.93</b>			
<b>Monocyte %</b>			
< 2	5	06.32	
>= 2	74	93.68	
<b>CRP (mg/l)</b> [5.98-8.12]			
< 6	42	53.16	
>= 6	37	46.84	
<b>Platelet = 230.69x10<sup>9</sup>/L</b>			
< 150	11	13.92	
>= 150	68	86.08	
<b>Red Blood Cells = 5.54x10<sup>12</sup>/L</b>			
<b>White Blood cells = 5.93x10<sup>9</sup>/L</b>			
<b>Hemoglobin = 12.35g/dl)</b>			
< 12	33	46.51	
>= 12	46	53.49	
<b>ALT (UI/l)</b>			
4 to 40	62	78.48	
> 40	17	21.52	
<b>AST (UI/l)</b> [28.2 - 40.7]			
4 to 40	69	87.34	
> 40	10	12.66	
<b>Urea (g/l)</b> [0.24 - 0.33]			
< 0.15	9	11.4	
>= 0.15	70	88.6	

CI95% = 0.6 - 2.1] and [RR = 1.9% with CI95% = 0.4 -8; 5], (p > 0.05).

We also found a decrease in the number of neutrophils with  $37.7 \pm 10.88 \times 10^9/L$  in co-infected patients. There is a non-significant risk of disturbance of AST and ALT in co-infected subjects with respectively [RR = 1.9; CI95% = 0.4 – 8.5] and [RR= 2.9; CI95% = 0.5 - 9.4] and an increase in CRP with a risk of [RR = 1.2 with CI95% = 0.4; 2.9] as shown in table III.

### **Bivariate analysis between humoral and cellular responses to COVID-19+ and biological parameters studied**

In patients with lymphocyte levels below 20%, we observed a negative association between the IgM+ responses [OR = - 2.32; CI95% = - 4.40; -0.2],  $p = 0.03$ . For IgG+ responses, a negative non-significant association was observed [OR = - 0.068; CI95% = -1.8; 1.71],  $p = 0.93$ .

**Table III:** Association between COVID-19 +/HIV+ status and parameters study

Variables	COVID-19+/HIV+	RR [CI95%]	p-value
<b>Polynuclear</b>			
Neutrophils ( $\pm$ SD (%))	37.7 $\pm$ 10.88	1.01 [0.7 -1.4]	0.31
Eosinophils ( $\pm$ SD (%))	5.45 $\pm$ 4.17	<b>1.56 [0.6 - 2.1]</b>	0.69
Basophils ( $\pm$ SD (%))	1.2 $\pm$ 0.08	<b>1.9 [0.4 - 8.5]</b>	0.56
<b>Lymphocyte</b> $\pm$ SD (cells/ $\mu$ l)	49.4 $\pm$ 3.95	0.6 [0.4 - 0.9]	0.41
<b>T CD4+</b> $\pm$ SD (cells/ $\mu$ l)	608 $\pm$ 589	0.8 [0.7 - 3]	> 0.05
<b>AST</b> $\pm$ SD (UI/l)	18.5 $\pm$ 6.36	<b>1.9 [0.4 - 8.5]</b>	> 0.05
<b>ALT</b> $\pm$ SD (UI/l)	18 $\pm$ 4.24	<b>2.2 [0.5 - 9.4]</b>	> 0.05
<b>C-reactive protein</b> $\pm$ SD (mg/l)	6.7 $\pm$ 4.44	1.2 [0.4 - 2.9]	> 0.05
<b>Haemoglobin</b> $\pm$ SD (g/dl)	13 $\pm$ 4.66	1.3 [0.6 - 2.6]	> 0.05

RR = risk ratio

In addition, no significant association was observed between the increase of monocyte, eosinophil and basophil levels and the IgM+ response with respectively [OR = - 0.57; CI95% = - 1.58; 0.42]; [OR = 0.22; CI95% = - 0.77; 1.23]; [OR = 0.31; CI95% = - 0.68; 1.3]. The same was true for IgG+ response. A low non-significant association was observed between IgM+ response and AST and ALT with respectively [OR = 1.17; CI95% = -0.43; 2.78], [OR=1.41; CI95%=-0.17;3] as shown in table IV.

## DISCUSSION

Here we report data on immunological parameters necessary for predicting clinical progress of COVID-19+ symptom-free patients with no signs of severity, as well as data on associated risk factors. In this report, the majority of our patients were over 35 years of age with extremes of 1 to 79 years. Indeed, advanced age is an indicator of vulnerability to COVID-19 due to immunosenescence resulting in high risk of morbidity and mortality

**Table IV:** Association between humoral and, cellular responses and biological parameters studied

Variables	COVID-19 +/HIV-			
	IgM+ (n = 53), IgM- (n = 26)		IgG+ (n = 50), IgG- (n = 29)	
	(OR) [CI95%]	p-value	(OR) [CI95%]	p-value
<b>Lymphocytes</b>	< 20% (-2.3) [- 4.40; -0;2]	<b>0.032</b>	(-0.06) [- 1.8; 1.71]	0.9
<b>Monocytes</b>	> 8% (- 0.57) [-1.58; 0.42]	0.25	(0.24) [- 0.8; 1.2]	0.63
<b>Eosinophils</b>	> 3% (0.22) [-0.77; 1.23]	0.69	(0.04) [- 0.9; 1.11]	0.93
<b>Basophils</b>	> 1% (0.31) [- 0.68; 1.33]	0.56	(-0.1) [-1.06; 0.86]	0.94
<b>Neutrophils</b>	< 40% (- 0.73) [- 2; 0.53]	0.25	0.64 [-0.47. 1.77]	0.26
<b>CD4+ T cells</b>	< 500 cells/µl (- 0.5) [- 1.58; 4.22]		1 (- 0.13) [-1.29; 1.03]	0.88
<b>CRP</b>	> 6 mg/l (- 0.37) [- 1.74; 0.99]	0.59	(- 0.4) [- 1.74; 0.99]	0.54
<b>Platelet</b>	< 150 G/L (-0.51) [- 1.73; 0.71]	0.41	(0.1) [- 1.12; 0.34]	0.86
<b>White Blood cells</b>	< 4 G/L (0.32) [- 1.12; 1.77]	0.65	(0.32) [- 1.12; 1.77]	0.65
<b>Hemoglobin</b>	< 12 g:dl (0.53) [-0.29; 1.81]	0.15	(0.5) [- 0.5; 1.5]	0.32
<b>ALT</b>	> 40 UI/l ( <b>1.47</b> ) [- <b>0.17</b> ; <b>3</b> ]	0.08	(- 0.16) [- 1.35; 1.02]	0.78
<b>AST</b>	> 40 UI/l ( <b>1.17</b> ) [- <b>0.43</b> ; <b>2.78</b> ]	0.15	(- 0.5) [- 1.76; 0.74]	0.42

as previously reported by some authors [9]. These aging-related physiological and immunological changes in older subjects would likely explain comorbidities such as diabetes, hypertension as seen in COVID-19 patients in this study. Furthermore, fever had observed in most of our patients. It is the commonly observed symptom that explains why it is used as an entry screening method for COVID-19 even though it is atypical [10]. This study showed an increase in total lymphocytes, subclasses of lymphocytes as CD4+ lymphocytes, eosinophils, basophils, neutrophils and CRP. Indeed, the recognition of viral RNA by immune cells causes the proliferation and differentiation of these cells with release of their content rich in mediators of the immune system such as cytokines IL-1 $\beta$ , IFN $\gamma$ , IL-17, IL-4, IL-5 thus regulates viral replication and the spread of the virus in the host [11, 12]. Furthermore, an

increased number of eosinophils and basophils would be associated with an effective immune response conferring protection to the host against SARS-CoV-2 infection [11]. However, cases of lymphopenia, eosinopenia and neutropenia were observed in patients diagnosed with COVID-19+. In an infectious process, polynuclear cells are recruited into the circulating blood by cytokines and other mediators of inflammation. The induced immune response can cause systemic cell destruction and cause changes in peripheral blood cells that can serve as early immunosuppressive signals in COVID-19+ subjects as reported by some authors [13]. Thus, lymphopenia, neutropenia and eosinopenia at entry can be considered as sign of poor prognosis in patients diagnosed COVID-19+. In co-infected HIV+/COVID-19+ patients, we observed a low risk with normal total lymphocytes, CD4 lymphocytes

and high polynuclear cells. The same observation that HIV was not identified as an important comorbidity in COVID-19+ patients with normal CD4 cell counts had already been reported by some authors [14, 15]. This would likely be explained by the fact that these patients are on ARV treatment, factor not explored during this work. However, this side merits further exploration with a high number of co-infected subjects due to the low number observed during this work. In addition, the risk of liver function disturbance exists in coinfecting patients. This situation would result either from a hyperproduction consequence of pro-inflammatory cytokines such as IL-8, IL-10 during COVID-19+ infection or from the toxic effect of certain drugs. IgM and IgG antibodies have been detected in patients diagnosed. Indeed, the detection of IgM antibodies following the recognition of the virus by immune cells makes it possible to locate the beginning of contamination. This humoral response is necessary to protect the organism against various pathogens including SARS-CoV-2 [16]. SARS-2 S protein has a 20 times stronger affinity for its receptor ACE2 than SARS-1. This strong affinity is observed especially with antibodies that have a long maturation period. These antibodies peak between one and three weeks as reported by some authors [17]. In addition, IgG antibodies help to identify the late phase of infection. Thus, isotypic switching from IgM to IgG makes it possible to predict the evolution of the disease [18]. Therefore, a continuous increase of IgG may indicate disease evolution towards more severe infection. However, we found no association or negative association between secreted IgM and IgG antibodies and circulating monocytes, eosinophils and basophils. This finding is contrary to the work done by some author [18]. Indeed, the correlation between the humoral immune response during COVID-19+

infection and circulating cells, particularly polynuclear cells, occurs in patients with a severity. Whereas in our study we have patients with no signs of severity. However, some patients diagnosed with COVID-PCR had negative IgM and IgG. This would be due to either rapid humoral clearance after a few weeks of COVID-19+ infection [17] or an unconformity between the PCR test and the immunological test. On the other hand, some authors suggest that the combination of the two tests optimizes the diagnosis of the coronavirus [18]. A better understanding of the evolution of the kinetics of antibodies to this virus would contribute more to the development of effective vaccination strategies to combat this pandemic.

## CONCLUSION

We have observed that fever, cough, headache are the most common signs of COVID-19+ infection. Similarly,

HIV+/COVID-19+ co-infection was not the most significant comorbidity. At the same time, cellular and humoral immune parameters play an important role in predicting the progression of COVID-19+ infection and that SARS-CoV-2 infection is accompanied by liver function disruption. Humoral clearance is rapid in the case of COVID-19. It seems advisable that additional studies with data provided can be conducted to understand more about this disease.

## REFERENCES

1. **Chen N, Zhou M, Dong X, et al.** Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet* 2020 ; 395:507-13. Doi :10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
2. **Xu Z, Shi L, Wang Y, et al.** Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med* 2020 ; 8 :420-2. Doi : 10.1016/S2213-2600(20).

**3. Li Q, Guan X, Wu P, et al.** Early transmission dynamics in Wuhan, China of novel coronavirus-infected pneumonia. *N Engl J Med* 2020 ; 38 :1199-207. Doi : 10.1056/NEJMoa2001316.

**4. Rodriguez-Morales AJ, MacGregor K, Kanagarajah S, et al.** Going global travel and the 2019 novel coronavirus. *Travel Med Infect Dis* 2020;33:101578. Doi :10.1016/j.tmaid. 2020. 101578.

**5. Wang C, Horby PW, Hayden FG, Gao GF.** A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet* 2020 ; 395 :470-3. Doi : 10.1016/S0140-6736 (20)30185-9.

**6. Wang X, Fang X, Cai Z, et al.** Comorbid chronic diseases and acute organ injuries are strongly correlated with disease severity and mortality along COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Research* 2020 ; 2020 :1-17. Doi : 10.34133/2020/2402961.

**7. Borobia MA, Carcas AJ, Arnalich F, et al.** A cohort of patients with COVID-19 in a major teaching hospital in Europe. *J Clin Med* 2020 ; 9 : 1733. Doi :10.3390/jcm9061733.

**8. Haerter G, Spinner D, Roeder J, et al.** COVID-19 in people living with human immunodeficiency virus : a case series of 33 patients. medRxiv. Preprint posted online 1 May 2020. Doi : 10.1101/2020.04.28.20073767.

**9. Blanco JL, Ambrosioni J, Garcia F, et al.** COVID-19 in patients with HIV: clinical case series. *Lancet HIV* 2020;7: e314-e316. Doi : 10.1016/S2352-3018(20)30111-9.

**10. Guo W, Ming F, Dong Y, et al.** A survey for COVID-19 among HIV/AIDS patients in two districts of Wuhan, China. *Lancet*. Preprint posted on line 13 march 2020. Doi : 10.2139/ssrn.3550029.

**11. Feng X, Li S, Sun Q et al.** Immune-Inflammatory parameters in COVID-19 cases: a systematic review and meta-analysis. *Front Med* 2020; 7: 301. doi 10.3389/fmed2020.00301.

**12. High KP, Bradley SF, Gravenstein S, et al.** Clinical practice guideline for the evaluation of fever and infection in older adult residents of long-term care facilities: 2008 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009; 48 :149–71.

**13. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al.** Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*.2020;395:497–506.

**14. Chen J, Lau YF, Lamirande EW et al.** Cellular immune responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection in senescent BALB/c mice: CD4+ T cells are important in control of SARS-CoV infection. *J Virol*. 2010 ;84 :1289–301.

**Nambei WS et al.** Immune parameters in subjects diagnosed COVID-19+ and incidence in HIV-positive patients in Bangui, Central African Republic.

---

**Nambei WS et coll.** Paramètres immunitaires chez les sujets diagnostiqués COVID-19+ et incidence chez les patients VIH à Bangui, en République centrafricaine

---

**15. Stolz D, Papakonstantinou E, Grize L, et al.** Time-course of upper respiratory tract viral infection and COPD exacerbation. *Eur Respir J.* 2019;54. <https://doi.org/10.1183/13993003.0040>.

**17. Qin C, Zhou L, Hu Z, et al.** Dysregulation of Immune Response in Patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020 ; 71 : 762-768.

**16. Lavoignet CE, Le Borgne P, Chabrier S, et al.** White blood cell count and eosinopenia as valuable tools for the diagnosis of bacterial infections in the ED. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38: 1523-1532.

**18. Yang J, Zheng Y, Gou X et al.** Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis.* Accessed at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1201971220301363> on 23 march 2020.

## Section G : Immunologie

### Immunological outcomes of Tenofovir-based regimens among people living with HIV/AIDS in Bangui, Central African Republic

### Réponses immunologiques aux traitements à base de ténofovir chez les personnes vivant avec le VIH/sida à Bangui, en République centrafricaine

Nambei WS<sup>1</sup>, Gbangbangai E<sup>3</sup> Ouefio-Nguerenam JR<sup>1</sup>, Lenguetama Kodja RE,<sup>1</sup>  
Nguerepayo Koacketchou P<sup>2</sup>

1- Biomedical Sciences department, Faculty of Science and Health, University of Bangui, Central African Republic

2- Communautaire Hospital, Bangui, Central African Republic

3- Army Health Service, Central African Republic

#### Section G : Immunologie

#### Rubrique : Article original

##### Résumé

**Introduction :** Bien que les traitements à base de ténofovir aient montré une bonne restauration immunitaire chez les personnes vivant avec le VIH, il existe peu d'information sur la réponse à ce traitement utilisée en première ligne à Bangui, en République centrafricaine depuis son utilisation en 2005. L'étude avait pour but d'évaluer les bénéfices immunologiques et les facteurs de risque de cette thérapie chez les sujets VIH en RCA.

**Matériels et Méthodes :** Une étude rétrospective en milieu hospitalier a été conduite chez des patients adultes de janvier à Décembre 2019, utilisant des données hospitalières collectées du 10 février 2020 au 10 avril 2020.

Les données concernaient les caractéristiques sociodémographiques et comportementales, cliniques, biologiques, ainsi que sur l'administration du médicament et les comorbidités ont été recueillies au moyen d'un examen des dossiers de janvier 2014 à décembre 2015. Le test de Ki carré avait été utilisé pour l'analyse des résultats.

**Résultats :** Au total, 230 patients sous traitement à base de ténofovir pendant au moins 6 mois ont été inclus. Parmi eux, 162, soit 70,4%, étaient des femmes. La majorité des patients, 216 (93,9 %), avaient un taux de CD4<sup>+</sup> < 500 cellules/mm<sup>3</sup> avec une moyenne (±DS) de 249,69 (170) Après 24 mois de traitement, seuls 97 patients ((42,2 %) présentaient encore un taux de CD4<sup>+</sup> < 500 cellules/mm<sup>3</sup>. Les 100 patients (43,5%) qui avaient un IMC < 18,5kg/m<sup>2</sup> au départ sont passés à 18 (6,5%). Une amélioration des infections opportunistes chez tous les patients a aussi été notée. Au cours de ce travail seulement 22,4% des patients avaient une charge virale détectable contre 77,6% non détectables.

**Conclusion :** Nous avons noté une augmentation du taux de CD4 chez les patients sous traitement à base de enofovir. Ces résultats suggèrent que le taux deCD4<sup>+</sup> peut être un bon indicateur pour prédire l'état immunitaire chez les patients VIH.

**Mots clés :** Cellules T CD4<sup>+</sup>, Tenofovir, VIH, République centrafricaine

##### Summary

**Introduction :** Tenofovir based regimen was reported to have better immunological outcomes in HIV-infected patients. However, there is limited information regarding the immunologic outcome associated with this regimen used in first line in Bangui, Central African Republic (CAR), since its routine utilization in 2005. The present study was aimed to provide additional informations in terms of immunologic benefits and associated risk factors in CAR.

**Materials and Methods :** The retrospective hospital based cohort study was conducted in HIV-infected patients from January 2019 to December 2019. Data on socio-demographic and behavioural characteristic, clinical, laboratory, drug administration, and comorbidities were extracted from medical record from February 10, 2020 to April 10, 2020. The Khi-square test was used for statistical analysis.

**Results :** A total of 230 patients under cART for at least 6 months were recruited. Of the total, 162 (70.4%) were female. Majority of patients, 216 (93.9%), had baseline CD4<sup>+</sup> count < 500 cells/mm<sup>3</sup> with mean (SD) of 249.69 (170). After 24 months of cART treatment, the number of patients with CD4<sup>+</sup> count < 500 cells/mm<sup>3</sup> decreased from 216 (93.9%) to 97 (42.2%)The proportion of 100 (43.5%) patients with BMI < 18.5kg/m<sup>2</sup> at initiation decreased to 18 (6.5%) after 24 months. Opportunistic infections had also decreased in all patients.

**Conclusion :** We observed an increase in CD4 levels in patients receiving ARV treatment with tenofovir. These results suggest that CD4<sup>+</sup> count can be a good to predict immune status but also as.

**Keywords :** CD4<sup>+</sup> T cell count, Tenofovir ; HIV ; Central African Republic.

**Correspondance :** wilfrid.nambei@gmail.com,  
phone : 236 75509075

## INTRODUCTION

HIV infection remains major public health problem worldwide specially in Sub Saharian Africa. The virus infects particularly CD4<sup>+</sup> T cells, leading to cytopathic effects through active replication in the cells [1]. Such effect results in continuous deterioration of the immune system and exposes therefore the patient to the risk of opportunistic infections [2].

However, the combined antiretroviral therapy (cART) has improved the survival of HIV-infected patients through significant decrease of the viral load, reduction of the virus transmission and restoration of the immunological and clinical status [3]. Despite the effectiveness of cART, some cells still remain infected, leading to an alteration of their function and expression of proteins [4]. Such a situation will remain until the cell is stimulated and activated thereby delaying the immune response and hampering the action of the

antiretroviral drug [1,4], which should be used throughout the patients's life. In Central African Republic (CAR), HIV has continued to be a major global public health problem. According to the National Committee of AIDS of 2020, the prevalence was 2.7% in adults [6]. Death due to the HIV/AIDS has significantly decreased due to the introduction of antiretroviral therapy. Despite such effectiveness, the impact of cART in the restoration of the immunologic benefits remains unknown in CAR settings. The present study aimed to provide additional informations in terms of immunologic benefits in HIV-infected patients CAR patients on the tenofovir front-line regimen.

## METHODS

### Study design and population

This is a retrospective hospital based cohort study conducted at the Communautaire hospital in Bangui, CAR. Patients' data from collected

January to December 2019 was extracted from record from February 10, 2020 to April 10, 2020. The study was conducted on adult patients who were on Tenofovir (TDF)/Emtricitabine (FTC)/Efavirenz (EFV) and Tenofovir (TDF)/Emtricitabine (FTC)/Névirapine (NVP) based regimens and fulfilled inclusion criteria.

### **Inclusion criteria**

Were included in this study patients who were older than 15 years the legal age of screening, have at least 6 months follow-up, whose records were complete, and have CD4 counts at least at baseline and 6 months.

### **Exclusion criteria**

We excluded pregnant women from the study because of physiological changes that may to impact the treatment outcome. Those whose treatment regimen had changed, or having incomplete medical record were also illegible.

### **Data collection**

Data on socio-demographic and behavioural characteristics (sex, age, BMI, educational level, occupation,

maritals status, residence), clinical aspects (baseline WHO clinical stage), laboratory data (baseline CD4, haemoglobin, creatinaemia, ALAT,) drug administration (TDF/FTC/EFV or TDF/FTC/NVP), and comorbidities (TB and other infections) were collected by record review. Baseline body mass-index of patients was assessed after collection of baseline height and weight of the patients from patients chart. Data from durg administration sheet and patient information sheet were collected by pharmacists, while nurse collected data from ART intake and médical follow up forms. The lymphocyte cell counts were measure by flow cytometrie using BD FACS Count. The RNA detection limit was set at 50 RNA copies/mL of plasma. All study participants were informed about the risks and benefits of the study. Anonymity and confidentiality of the data were guaranteed.

### **Data analysis**

Descriptive analysis were performed and results were presented by text and tables. Data were entered into Epi-

info 3.5.4 and analysis. The KHI-square test was used to compare the averages. Coefficient of mean of CD4<sup>+</sup> count with 95% confidence intervals was used as measure of strength of association. P values < 0.05 were considered statistical significance.

**Ethics approval and informed consent to participate.** The study was performed in accordance with the declaration of Helsinki. The design were approved by Faculty of Sciences and Health Ethics committees (N18/FACS/CES.2020) and informed consent was obtained from all subjects.

## RESULTS

### **Socio-demographic, behavioural, clinical and immunological characteristics within 6 months of follow-up**

Table I shows that 230 patients were under cART within 6 months of follow-up. Of the total, 162 (70.4) were female. The mean of age were 37 (9) years. A large proportion of these patients, 86 (37.4), was agropastoral and 129 (56.1) had attended secondary school. Majority

of patients, 130 (56.6%) had BMI > 18.5 kg/m<sup>2</sup>. One hundred and sixty-nine patients were under TDF/FTC/EFV. Majority of patients, 216 (93.9%) had baseline CD4<sup>+</sup> count < 500 cells/mm<sup>3</sup> with mean (SD) of 249.69 (170). There was statistically significant difference between patients whose CD4 counts were below 500/mm<sup>3</sup> and those above 500/mm<sup>3</sup>. A large proportion of these patients, 198 (86.1%) was WHO stages III and 145 (63.1%) had working functional status and there was statistically significant difference between groups. Seventy-seven (33.5%) of patients were chronic cough (Table I).

### **Biological variables evolution after 24 months of patients on cART**

Table II show that after 24 months of cART treatment, the number of patients who had CD4<sup>+</sup> count < 500 cells/mm<sup>3</sup> within the first 6 months significantly decreased from 216 (93.9%) to 97 (42.2%). After 24 months, 22.4% of patients had a detectable viral load *versus* 77.6 undetectable (Table II).

**Table I : Socio-demographic, behavioural, clinical and cmmunological characteristics for cohort of patients on ART within 6 months of follww-up.**

<b>Variables</b>	<b>Frequency</b>	<b>Percentage</b>	<b>p-value</b>
<b>Age, years</b>			0,0001
16-25	18	7.8	
26-35	89	38.6	
36-45	73	31.6	
46-55	39	17	
>/= 56	11	4.8	
<b>Sex,</b>			
Male	68	29.6	
Female	162	70.4	
<b>BMI</b>			0,1
<18,5	100	43.4	
>18,5	130	56.6	
<b>Occupation</b>			
Unemployed	15	6.5	
Student	13	5.7	
Employed	57	24.7	
Agropastoral	86	37.4	
Housewife	59	25.7	
<b>Marital status</b>			
Married	10	4.3	
Single	45	19.6	
free union	98	42.6	
Widowed	39	17	
Divorced	38	1.5	
<b>Educational level</b>			
Higher	17	7.4	
Secondary	129	56.1	
Primary	68	29.6	
No education	16	7	
<b>Baseline CD4<sup>+</sup> count</b>			0.001
< 500	216	93.9	
> 500	14	6.1	
<b>Baseline WHO clinical stage</b>			0.0001
I	15	6.5	
II	1	0.4	
III	198	86.1	
IV	16	7	
<b>Functional status</b>			0.0001
Working	145	63.1	
Ambulatory	84	36.5	
Bedridden	1	0.4	
<b>Opportunistics infections</b>			0.0001
TB	38	16.6	
Skin lesions	43	18.7	
Chronic cough	77	33.5	
Herpes zoster	18	7.8	
Pneumonia	50	21.7	

## Evolution of clinical variables after 24 months of ART

A total of 100 (43.5%) patients had BMI < 18.5kg/m<sup>2</sup> whereas at initiation was decreased to 18 (6.5%). There was statistically significant difference between groups at baseline BMI

compared to that after 24 months. After 6 months of cART, all patients had opportunistic infections disappeared although few proportion elicited such infection at 12 et 24 months of follow-up. The same was true of the patients in WHO clinical stages (Table III).

**Table II :** Biological outcome for cohort of patients on cART after 24 months

<b>CD4, cells/mm<sup>3</sup></b>	<b>&lt; / = 500</b>	<b>&gt; 500</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
At initiation	216 (93,9%)	14 (6,1%)	148,9	0,0001
At 6 months	187 (81,3%)	42 (18,7%)	44,5	0,0001
At 12 months	131 (57,0%)	99 (43,0%)	21,4	0,0001
At 24 months	97 (42,2%)	133 (57,8%)		
<b>Creatinemiae, mg/l</b>	<b>&lt; / = 13</b>	<b>&gt; 13</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
At initiation	206 (89,6%)	24 (10,4%)	163,2	0,0001
At 6 months	226 (98,3%)	4 (1,7%)	191,3	0,0003
At 12 months	203 (88,3%)	27 (11,7%)	154,6	0,0001
At 24 months	224 (97,4%)	6 (2,6%)		
<b>Viral load</b>	<b>Detectable</b>	<b>Undetectable</b>		
	35 (22,4%)	121 (77,6%)		

**Table III :** Clinical outcome for cohort of patients on ART after 24 months

<b>BMI, kg/m<sup>2</sup></b>	<b>&lt; 18,5</b>	<b>&gt; / = 18,5</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
At initiation	100 (43,5%)	130 (56,5%)	47	0,0001
At 6 months	46 (20,0%)	184 (80,0%)	94,28	0,0001
At 12 months	39 (17,0%)	191 (83,0%)	143,2	0,0003
At 24 months	18 (6,5%)	212 (93,5%)		
<b>WHO stage</b>	<b>1 and 2</b>	<b>3 and 4</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
At initiation	15 (6,5%)	215 (93,5%)	173,9	0,0001
At 6 months	15 (6,5%)	215 (93,5%)	171,4	0,0001
At 12 months	14 (6,08%)	216 (93,92%)	160,8	0,0000
At 24 months	10 (4,35%)	220 (95,65%)		
<b>Opportunistic infections</b>	<b>Yes</b>	<b>No</b>	<b>χ<sup>2</sup></b>	<b>p</b>
At initiation	157 (68,3%)	73 (31,7%)	157,2	0,0003
At 6 months	00 (0,0%)	230 (100%)	131,5	0,0001
At 12 months	06 (2,6%)	224 (97,4%)	164,3	0,0001
At 24 months	06 (2,6%)	224 (97,4%)		

## **DISCUSSION**

We reported here the data on immunological, virological parameters in HIV-positive patients treated with TDF/FTC/EFV and TDF/FTC/NVP up to 24 months of treatment. Indeed, since the introduction of cART, the life expectancy of HIV-infected people has improved significantly and the absence of HIV-related comorbidity rather occurring in the infected subjects than in the general population [5, 6]. In addition, chronic inflammation is responsible for weakening the immune system and permanent stimulation of the immune system associated with cytokine imbalance leads to early aging of infected subjects [5-7]. Our data have shown increased CD4<sup>+</sup> count after 24 months of treatment. This is consistent with those of Pozniak *et al.* [8] where a maximum CD4 count was achieved by TDF/3TC/EFV at 96 weeks. Some authors in Ethiopia have also found the same results [9]. Thus, after 6 months of ART treatment and whatever the virological response, the immunological response translates into favourable immunological status

in infected subjects [10]. However, some authors reported that 8-40% of some patients did not show an improvement in CD4 despite viral suppression [12-14]. Furthermore, in our cohort, 35 patients had no suppressed viral load, which could be due to a possible treatment compliance problem. It would be difficult to explain the impact of ART treatment on immunological recovery because several factors can hinder immunological recovery such as residual viral replication, impaired thymic function, advanced age, apoptosis, genetic variations, anemia and poor adherence. [12-15]. In this cohort, we found that after 24 months on ART, the number of patients with BMI < 18.5 kg/m<sup>2</sup> decreased from 43.5% to 16.5%. The improvement of nutritional status is a favourable factor for the resumption of immunological functions even if the role of nutritional status in immunological recovery is not clearly established [17]. The good clinical and immunological outcome suggested that ART treatment could be initiated at a high CD4<sup>+</sup> T cells level in accordance with the guidelines of

WHO [18]. Subjects in clinical stages III and IV of WHO had poor weight gain, which could be explained by chronic diarrhoea and HIV enteropathy in these patients and the associated malabsorption [19] or to unexplained fever leading to the late stage of the disease which results in an increased calorie loss and wasting [20]. In contrary, the finding disagrees with some studies showing poor immunologic recovery including discordant responder when ART was initiated at higher CD4<sup>+</sup> count [21]. Probably due the difference of the treatment of HIV naïve patients with cART and patients on treatment or poor immune reconstitution secondary to deficient nutritional status or possible resistance. However, the effect of the overlap between HIV infection and undernutrition on the immune response following antiretroviral initiation remains unclear. A possible explanation could be the lack of consensus concerning the definition and assessment of nutritional status.

## CONCLUSION

The increase in the CD4<sup>+</sup> count of patients on cART of Tenofovir-based regimen were observed. These results suggest that CD4<sup>+</sup> count can be a good to predict immune status but also as.

**Acknowledgements :** We gratefully acknowledge the participation of all Communautaire hospital for their contribution.

## REFERENCES

1. **Mc Namara LA, Ganesh JA, Collins K.** Latent HIV-1 infection occurs in multiple subsets of hematopoietic progenitors cells and is reversed by NF-kB activation. 2012 ; 86(17):9337-50. doi : 10.1128/JVI.00895-12.
2. **UNAIDS.** Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. Global AIDS Response Progress Reporting. November 2015, <http://www.unaids.org>. Consulté le 11 novembre 2022.
3. **Cohen M. S., Chen Y. Q., McCauley M et al.** Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. New England Journal of Medicine.2011;365(6): 493–505.

- 4. Rahman SA, Billingsley JM, Sharma AA, et al.** Lymph node CXCR5+ NK cells associate with control of chronic SHIV infection. *JCI Insight*. 2022 ; 7 (8) : e155601.doi10.1172/JCI.insight.155601.
- 5. Önen NF, Overton ET, Seyfried W, et al.** Aging and HIV infection : a comparison between older HIV-infected persons and the general population. *HIV Clinical Trials*. 2010 ;11(2) :100-109.
- 6. Smith RL, de Boer R, Brul S, Budovskaya Y, Van Der Spek H.** Premature and accelerated aging : HIV or HAART. *Frontiers in Genetics*. 2013 ; 28, 3 : 328. Doi : 10.3389/fgene.2012.00328. eCollection 2012
- 7. Hsu DC, Sereti I, Ananworanich J.** Serious non-AIDS events: immunopathogenesis and interventional strategies. *AIDS Research and Therapy*. 2013 ;10 (1) : 29. doi : 10.1186/1742-6405-10-29.
- 8. Pozniak AL, Gallant JE, Dejesus E, Arribas JR, Gazzard B, Campo RE, et al.** Tenofovir disoproxil fumarate, emtricitabine, and efavirenz versus fixed-dose zidovudine/lamivudine and efavirenz in antiretroviral-naïve patients virologic, immunologic, and morphologic changes—a 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2006 ;43(5) :535–540.
- 9. Ayele T, Jarso H, Mamo G.** Immunological outcomes of Tenofovir versus Zidovudine-based regimens among people living with HIV/AIDS : a two years retrospective cohort study. *AIDS Res Ther*. 2017;14(1): 5. doi : 10.1186/s12981-017-0132-4.
- 10. Fiseha T, Ebrahim H, Ebrahim E, Gebreweld A.** CD4+ cell count recovery after initiation of antiretroviral therapy in HIV-infected Ethiopian adults. *Plos One*. 2022 ;17 (3) : e0265740.doi10.1371/journal.pone.0265740.
- 11. N'domackrah AB, Nambei WS, Tekpa G, Ngoi-Falgbang S, Gbangbangai E.** Immuno-haematological profile of HIV positive patients in Central African Republic. *African Journal of Medical Biology*.2016;1(1):32-41.
- 12. Muzah BP, Takuva S, Maskew M.** Risk factors for discordant immune response among HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy: a retrospective cohort study. *South Afr J HIV Med*. 2012 ;13(4) :168–172.
- 13. Crawford KW, Wakabi S, Magal M et al.** Evaluation of treatment outcomes for patients on first line regimens in us president's Emergency Plan for AIDS relief (PEPFAR) clinics in Uganda : predictors of virological and immunological response from RV288 analyses. *HIV Med*.2015;16(2):95-104.doi.101111/hiv.12177.

**Nambei WS et al.** Réponses immunologiques aux traitements à base de ténofovir chez les personnes vivant avec le VIH/sida à Bangui, en République centrafricaine

---

**Nambei WS et coll.** Immunological outcomes of Tenofovir-based regimens among people living with HIV/AIDS in Bangui, Central African Republic

---

**14. Casotti JAS, Passos LN, Pereira de Oliveira FL, Cerutti Jr C.** Prevalence of discordant immunologic and virologic response in patients with AIDS under HAART in specialized care center in Brazil. *Rev Inst Med Trop.*2011;53(6):301–307.

**15. Skinner NE, Vergara C, El-Diwaney R et al.** Decreased activated CD4+ Tcells repertoire diversity after antiretroviral therapy in HIV-1/HCV coinfection correlates with CD4+ Tcell recovery. *Viral Immunol.*2021;34(9):622-631.doi.10.1089/vim.2021.0027.

**16. May MT, Gompels M, Delpech V, et al.** Impact of life expectancy of HIV-1 positive individuals of CD4+ cell count and viral load response to antiretroviral therapy. *AIDS* 2014;28:1193-202.

**17. Li N, Spiegelman D, Frain P, et al.** Predictors of weight loss after HAART initiation among HIV infected adults in Tanzania. *AIDS.*2012;26:577-85.

**18. WHO.** Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. WHO guidelines. 2015 ; 76. Consulté le 22/12/22.

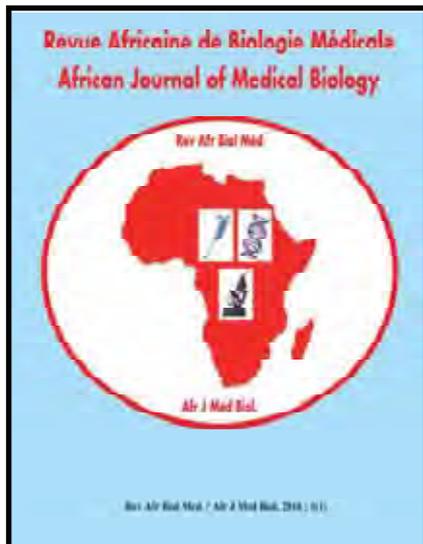
**19. WHO.** Interim who clinical staging of HIV/AIDS and HIV/AIDS case definitions for surveillance African region, 2005. Available : <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/clinicalstagingpdf>. Consulté le 11 novembre 2022.

**20. Nguyen TK, Nguyen YH, Nguyen HT et al.** Etiologies of fever unknown origin in HIV/AIDS patients Hanoi, Vietnam. *BMC Infect Dis.* 2022 ; 22 (1) : 61.doi.10.1186/s12879-022-07049.3.

**21. Corado KC, Daar ES.** Emtricitabine + tenofovir alafenamide for the treatment of HIV. *Expert Opin Pharmacother.*2017; 18(4):427-432.doi.10.1080/14656566.2017.1288720.

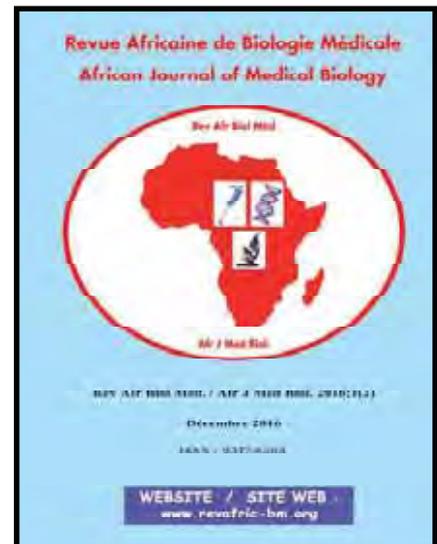
# Revue africaine de Biologie Médicale : Numéros déjà parus

N° 1



Tome 1

N° 2



Tome 2

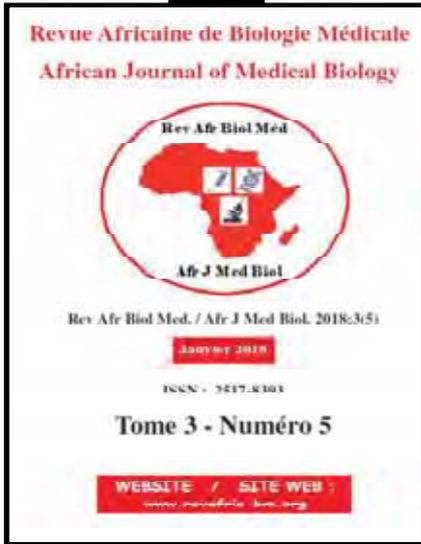
N° 3



N° 4

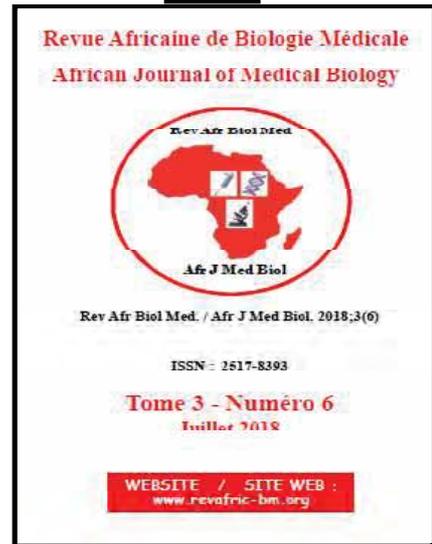


N° 5



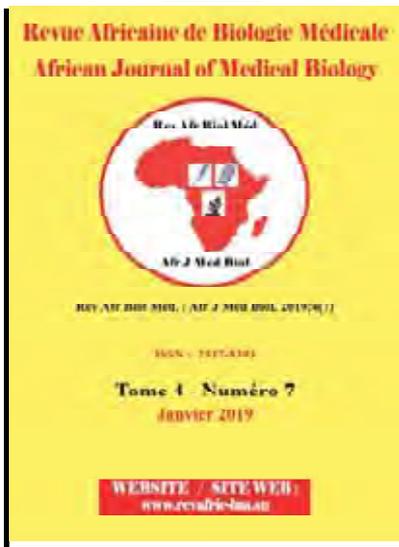
Tome 3

N° 6

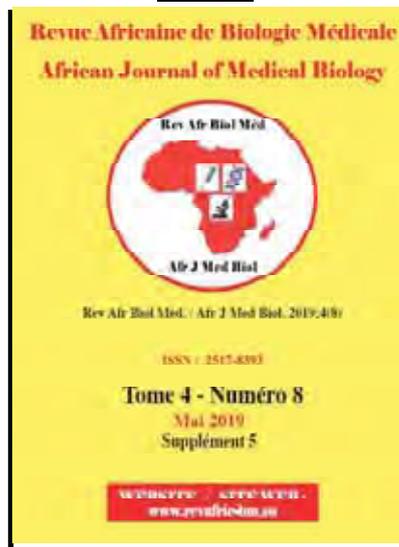


Tome 4

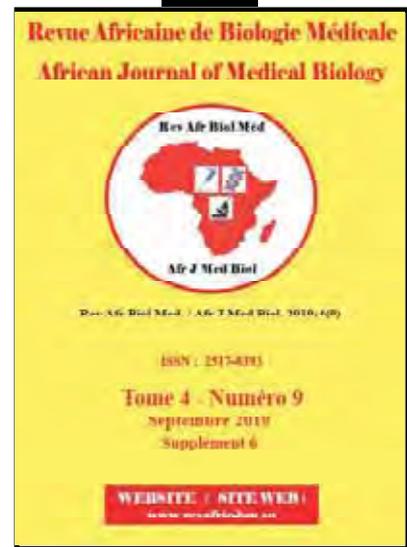
N° 7



N° 8

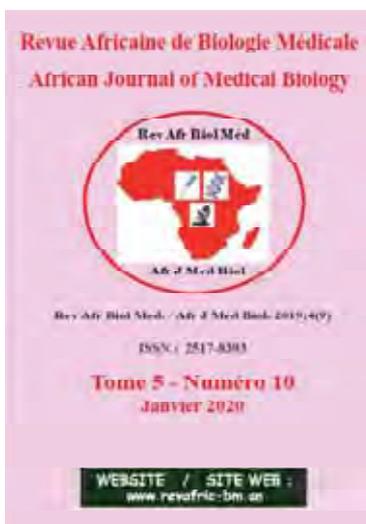


N° 9



Tome 5

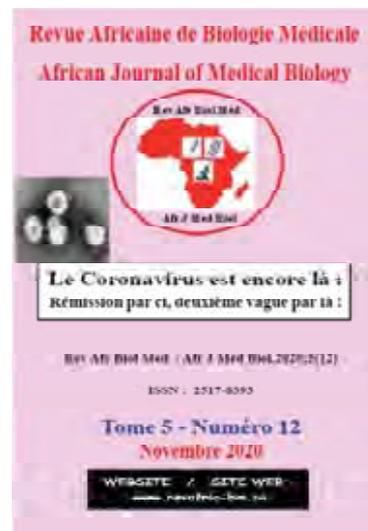
N° 10



N° 11

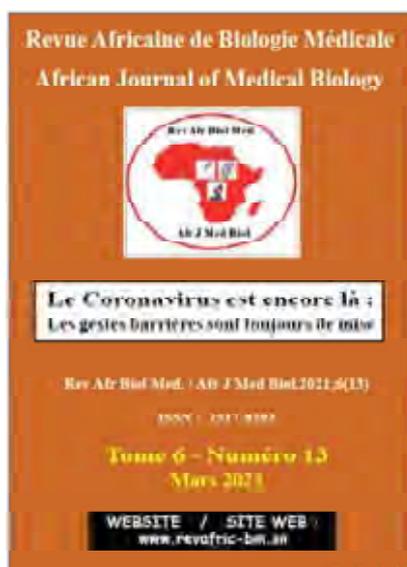


N° 12



# Tome 6

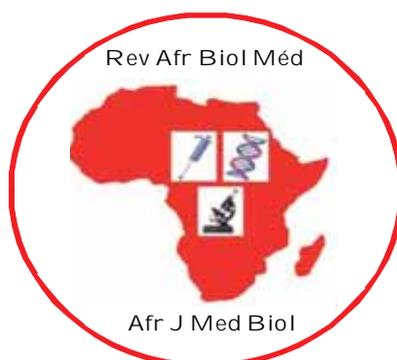
N° 13



N° 14

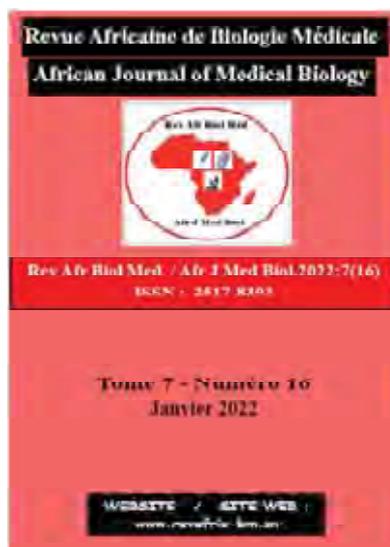


N° 15



# Tome 7

N° 16



N° 17



N° 18

