

LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES DE *NEISSERIA GONORRHOEA* AU RWANDA

par

P. PIOT, A. Z. MEHEUS, E. VAN DYCK, E. BOSMANS & S. NAKURE

Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Antwerpen, Belgique,
Universitaire Instelling, Antwerpen, Belgique & Centre Hospitalier, Kigali, Rwanda

Résumé — Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 7 antibiotiques ont été déterminées pour 53 souches de *Neisseria gonorrhoeae* isolées au Rwanda. Aucune souche ne produisait une β -lactamase. 56 % des souches ont une CMI pour la pénicilline de plus de 0,0312 $\mu\text{g/ml}$ et toutes les souches sont inhibées par 0,25 $\mu\text{g/ml}$. Toutes les souches sont très sensibles à la spectinomycine et la céfuroxime. En général les souches sont plus sensibles que dans d'autres études effectuées en Afrique.

Une corrélation positive significative ($P \leq 0,01$, coefficient de corrélation de rang) est trouvée entre les sensibilités à la pénicilline, l'ampicilline, l'érythromycine, la tétracycline, et la céfuroxime. Aucune corrélation n'est trouvée entre les sensibilités à la spectinomycine et à la sulphamétoxazole/triméthoprim, et tous les autres antibiotiques.

KEYWORDS : *Neisseria gonorrhoeae*; Drug Resistance, Microbial; Antibiotics; Rwanda.

Introduction

Nos connaissances sur la sensibilité aux antibiotiques de souches africaines de *Neisseria gonorrhoeae* sont très limitées. Une haute prévalence de souches à sensibilité diminuée a été signalée en Uganda (Phillips e.a., 1969; Arya et Phillips, 1970), au Togo (Quincke, 1970), au Kenya (Verhagen e.a., 1971) et en Ethiopie (Plorde e.a., 1973). Récemment, des gonocoques produisant une pénicillinase ont été signalés en Afrique occidentale (Piot, 1977; Stolz, 1977) et en Afrique du Sud (Robins-Browne, 1977; Hallet e.a., 1977). Des déterminations quantitatives de la sensibilité de *N. gonorrhoeae* à la pénicilline ou à d'autres antibiotiques n'ont jamais été publiées pour le Rwanda, où les maladies à transmission sexuelle constituent un problème important de santé publique (Meheus, 1976). Avec les données pharmacologiques et les essais cliniques contrôlés, les études de la sensibilité in vitro sont indispensables pour l'évaluation des antibiotiques. L'objectif de ce travail était d'étudier la sensibilité de *N. gonorrhoeae* du Rwanda à 7 antibiotiques et d'analyser les corrélations entre les sensibilités à ces agents.

Matériel et méthodes

Souches et antibiotiques

53 souches de *N. gonorrhoeae* ont été collectées à Kigali (16 souches) et Butare (37 souches) entre janvier 1976 et mars 1977, et ont été préservées au Rwanda à -20°C en glycérine. Le transport en Belgique s'est fait en glycérine sur glace. Les souches ont été lyophilisées après un test à la céphalosporine chromogène 87/312 pour la détection de β -lactamase.

TABLEAU 1
Distribution des concentrations minimales inhibitrices (CMI)
pour 53 souches de *Neisseriae gonorrhoeae* isolées au Rwanda

Antibiotique	Valeur médiane de la CMI ($\mu\text{g/ml}$)	CMI ($\mu\text{g/ml}$)													
		0,0078	0,0156	0,0312	0,0625	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64
Penicilline	0,090	14	3	6	9	16	5								
Ampicilline	0,144		1	15	8	20	9								
Erythromycine	0,090			19	18	8	7	1							
Tetracycline	0,88						8	25	18	1	1				
Spectinomycine	14,50									1	32	20			
Cefuroxime	0,026	10	25	10	5	2	1								
Sulphamethoxazole (*) + triméthoprime 19 : 1	10,80									6	14	20	11	1	1

(*) La CMI est donnée comme $\mu\text{g/ml}$ du mélange.

TABLEAU 2
Coefficients de corrélations entre les CMI de 7 antibiotiques
pour 53 souches de *N. gonorrhoeae*

Antibiotique	Peni- cilline	Ampli- cilline	Tetra- cycline	Erythro- mycine	Cefu- roxime	Spectino- mycine
Penicilline						
Ampicilline	0,93 (**)					
Tetracycline	0,45 (**)	0,47 (**)				
Erythromycine	0,58 (**)	0,58 (**)	0,54 (**)			
Cefuroxime	0,49 (**)	0,56 (**)	0,39 (*)	0,58 (**)		
Spectinomycine	-0,24	-0,25	-0,01	-0,06	-0,03	
Sulphaméthoxazole + triméthoprime	-0,23	-0,21	-0,17	-0,01	-0,05	0,47 (**)

(*) $P \leq 0,01$.

(**) $P \leq 0,001$.

Elles ont été identifiées comme *N. gonorrhoeae* par la morphologie des colonies, la coloration de Gram, la stimulation de la croissance en atmosphère enrichie en CO₂, la présence d'oxidase et de β -galactosidase et la fermentation du glucose, maltose, sucrose et lactose (Van Dyck e.a., 1976).

Les souches O. M. S. de référence *N. gonorrhoeae* III, V et VII (A. Reyn, Statens Serum Institut, Kopenhague), ainsi que *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ont été incluses dans la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Des standards nationaux belges de benzylpenicilline, d'ampicilline, d'érythromycine et de tétracycline hydrochloride ont été fournis par le Laboratoire des Standards et de Pharmacopée, Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie, Bruxelles. Sulphaméthoxazole et triméthoprim ont été fournis par la Firme Roche, la spectinomycine par la Firme Upjohn et la céfuroxime par la Firme Glaxo. L'association sulfaméthoxazole/triméthoprim (SMZ/TMP) a été testée dans la proportion de 19 : 1.

Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). — Une suspension de germes obtenue à partir d'une culture de 18 heures en bouillon (Tryptic Soy Broth — Difco 0370 + 1 p. cent de Saponine — Merck 7695 + 5 p. cent de sang de cheval) est inoculée machinalement sur les milieux contenant les antibiotiques (Diagnostic Sensitivity Test agar — Oxoid CM 261 + 1 p. cent de saponine + 5 p. cent de sang de cheval). L'inoculum final contient environ 10⁸ ufc (unités formant des colonies).

Méthodes statistiques

La distribution des CMI pour chaque antibiotique a été résumée par sa valeur médiane.

Les coefficients de corrélation de rang (rank correlation coefficients) ont été déterminés par le test de Spearman.

Résultats

Le tableau 1 montre la distribution des sensibilités de 53 souches de *N. gonorrhoeae* pour chaque antibiotique testé. 56,4 p. cent des souches ont une CMI pour la pénicilline de plus de 0,0312 μ g/ml, et toutes les souches sont inhibées par 0,25 μ g/ml de pénicilline. Aucune souche produisant une pénicillinase, ou ayant une résistance élevée et d'origine chromosomale à la pénicilline (CMI > 0,25 μ g/ml), n'a été trouvée. Les résultats pour l'ampicilline sont du même ordre. Une souche présente une CMI de 2 μ g/ml pour l'érythromycine, et une souche est hautement résistante à la tétracycline (CMI = 8 μ g/ml). Toutes les souches sont inhibées par 0,25 μ g/ml de céfuroxime, et par 16 μ g/ml de spectinomycine. La combinaison SMZ/TMP à 19 : 1 inhibe 38 p. cent des souches à 4 μ g/ml du mélange, et 96 p. cent à 16 μ g/ml. Deux souches doivent être considérées comme résistantes au SMZ/TMP.

Le tableau 2 donne les coefficients de corrélation de rang entre les CMI pour les 7 antibiotiques. Une corrélation positive significative (P \leq 0,01) est trouvée entre les sensibilités pour la pénicilline, l'ampicilline, la tétracycline, l'érythromycine et la céfuroxime. Aucune corrélation positive n'est trouvée entre les sensibilités pour la spectinomycine et le SMZ/TMP, et tous les autres antibiotiques. La sensibilité à la spectinomycine est corrélée significativement avec celle au SMZ/TMP.

TABLEAU 3
Sensibilités à la pénicilline de *N. gonorrhoeae* dans divers pays d'Afrique et en Belgique

Source	Date	Pays	Année de l'étude	Sensibilité diminuée			Résistance élevée	
				Nombre de souches	Prévalence (pour cent)	Critère de CMI	Prévalence (pour cent)	Critère de CMI
Arya and Phillips	1970	Uganda	1968	173	82	≥ 0,06 µg/ml	57	≥ 0,48 µg/ml
Quincke	1970	Togo	1968	85	79	≥ 0,1 µg/ml	19	≥ 0,5 µg/ml
Verhagen e.a.	1971	Kenya	1969	736	65	≥ 0,10 IU/ml	35	≥ 1,0 IU/ml
Florde e.a.	1973	Ethiopie	1969-1970	234	50	≥ 0,075 µg/ml	16	≥ 0,6 µg/ml
		Rwanda	1976	53	56	≥ 0,06 µg/ml	0	≥ 0,5 µg/ml
Piot e.a.	1977	Belgique	1976	189	35	≥ 0,06 µg/ml	0,5	≥ 0,5 µg/ml

Discussion

L'infrastructure des laboratoires au Rwanda étant limitée, les CMI ont dû être déterminées en Belgique. L'azote liquide, la glace carbonique ou des facilités de lyophilisation n'étaient pas disponibles. L'absence d'un système simple de transport de *N. gonorrhoeae*, applicable aux pays en voie de développement, a constitué un grand problème au cours de cette étude. Cinquante-trois souches seulement sur 140 cultures ont survécu à la période de conservation au Rwanda et au transport vers la Belgique.

Dans cet échantillon limité, aucune souche produisant une β -lactamase n'a été trouvée. Les sensibilités pour les antibiotiques testés sont en général meilleures que dans d'autres publications de pays africains (tableau 3). Néanmoins, la proportion des souches relativement résistantes (CMI \geq 0,06 $\mu\text{g/ml}$) est nettement plus élevée qu'en Europe, si on compare les résultats avec ceux d'une étude similaire, effectuée selon les mêmes techniques, avec des gonocoques isolés en Belgique (Piot e.a., 1977). Aucune résistance chromosomale à la pénicilline (CMI \geq 0,5 $\mu\text{g/ml}$) n'a été trouvée, ce qui est assez surprenant, vu les résultats d'autres études africaines.

Des différences importantes entre les sensibilités de gonocoques de différentes régions ont été signalées aussi bien pour les pays industrialisés (Jaffe e.a., 1976) que pour l'Afrique (Verhagen e.a., 1970). Certains paramètres épidémiologiques tels que les schémas locaux de traitement, les habitudes d'autotraitements et les pressions antimicrobiennes de tout genre, peuvent influencer les niveaux de sensibilité de *N. gonorrhoeae*. Il est impossible de déterminer quels facteurs prédominent au Rwanda. On peut également se demander si les souches à résistance chromosomale pour la pénicilline ne sont pas plus sensibles à une mauvaise conservation que les souches normales de gonocoques. Si tel est le cas, notre échantillonnage pourrait s'en trouver faussé.

Sur la base de nos données limitées *in vitro*, il est clair que la pénicilline à hautes doses reste le médicament de premier choix pour le traitement de la blénnorrhagie au Rwanda, où un taux de guérison de 97 p. cent peut être obtenu avec une dose unique de 4,8 millions d'unités de procaine pénicilline combinée avec la probénécide (Meheus e.a., 1974).

Les gonocoques moins sensibles à un antibiotique présentent souvent une résistance multiple, tels que l'ont montré Mannes et Sparling (1973) et comme l'indiquent d'ailleurs également nos résultats du calcul des coefficients de corrélation de rang.

Les échecs de traitement dus à l'infection par une souche relativement résistante seront traités de préférence par la spectinomycine puisque cet antibiotique ne présente aucune corrélation de résistance positive avec la pénicilline et que son efficacité a été prouvée par de nombreuses études (McCormack et Finland, 1976).

Antibiotic sensitivity of *Neisseria gonorrhoea* in Rwanda.

Summary — Minimal inhibitory concentrations (MIC) were determined for 7 antibiotics against 53 strains of *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Rwanda. No β -lactamase producing strain was found. 56% of the strains had a MIC for penicilline of more than 0,0312 $\mu\text{g/ml}$, and all the strains were inhibited by 0,25 $\mu\text{g/ml}$. All strains were fully sensitive to spectinomycin and cefuroxime. The overall antibiotic susceptibility pattern is better than that reported from other African countries.

A significant positive correlation ($P \leq 0.01$, rank correlation coefficient) is found between the sensitivities to penicilline, ampicillin, erythromycin, tetracyclin and cefuroxime. No correlation is found between the sensitivities to spectinomycin and to sulphamethoxazole/trimethoprim, and any of the other drugs.

Gevoeligheid voor antibiotica van *Neisseria gonorrhoea* in Rwanda.

Samenvatting — Minimale inhibitoire concentraties (MIC) werden bepaald voor 7 antibiotica bij 53 stammen van *Neisseria gonorrhoeae* geïsoleerd in Rwanda. Geen enkele β -lactamase producerende stam werd gevonden. 56% der stammen heeft een MIC voor penicilline van meer dan 0,0312 $\mu\text{g/ml}$ en alle stammen worden geremd door 0,25 $\mu\text{g/ml}$. Alle stammen zijn gevoelig voor spectinomycine en cefuroxime. In het algemeen is het gevoeligheidspatroon gunstiger dan in studies van andere Afrikaanse landen.

Een significante positieve correlatie ($P \leq 0,01$, rang correlatie coëfficiënt) is gevonden tussen de gevoeligheden voor penicilline, ampicilline, erythromycine, tetracycline, en cefuroxime. Er werd geen correlatie gevonden tussen de gevoeligheid voor spectinomycine en voor sulfamethoxazole/trimethoprim enerzijds en de andere antibiotica anderzijds.

P. Piot & E. Van Dyck : Institut de Médecine Tropicale Prince Léopold, Laboratoire de Bactériologie, Nationalestraat 155, B-2000 Antwerpen, Belgique.

A. Z. Meheus : Universitaire Instelling Antwerpen, Departement KVS, Universiteitsplein 1, B-2610 Wilrijk, Belgique.

E. Bosmans & S. Nakure : Centre Hospitalier, Laboratoire, B. P. 655, Kigali, Rwanda.

Reçu pour publication le 18 juillet 1977.

REFERENCES

- Arya, O. P. & Phillips, I. (1970) : Antibiotic sensitivity in gonococci and treatment of gonorrhoea in Uganda. *Brit. J. vener. Dis.*, **46**, 149-152.
- Hallet, A. F., Appelbaum, P. C., Cooper, R., Mokoogong, S. & Monze, D. (1977) : Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae* from South Africa. *Lancet*, **1**, 1205.
- Jaffe, H. W., Biddle, J. W., Thornsberry, C., Johnson, R. E., Kaufman, R. E., Reynolds, G. H., Wiesner, P. J. and the Cooperative Study Group (1976) : National gonorrhoea therapy monitoring study. *In vitro* antibiotic susceptibility and its correlation with treatment results. *N. Engl. J. Med.*, **294**, 5-9.
- Mannes, M. J. & Sparling, P. F. (1973) : Multiple antibiotic resistance due to a single mutation in *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Infect. Dis.*, **128**, 321-330.
- McCormack, W. M. & Finland, M. (1976) : Spectinomycin. *Ann. Int. Med.*, **84**, 712-716.
- Meheus, A. Z. (1976) : Epidemiologie en bestrijding van geslachtsziekten in Rwanda. Thesis. Antwerpen.
- Meheus, A. Z., Ngamije, E. & Freyens, P. (1974) : Treatment of gonorrhoea with trimethoprim-sulphamethoxazole and probenecid plus procaine penicillin in Rwanda. *Brit. J. vener. Dis.*, **50**, 447-449.
- Piot, P. (1977) : Resistent gonococcus from the Ivory Coast. *Lancet*, **1**, 857.
- Piot, P., Van Dyck, E. & Asman, M. (1977) : Huidige stand van de gevoeligheid van *Neisseria gonorrhoeae* voor antibiotica. Een penicilline resistente gonokok te Antwerpen. *Tijdschr. v. Geneesk.*, **33**, 945-949.
- Phillips, I., Fernandes, R., Pirani, A. A. & Wagaine, D. (1969) : Antibiotic sensitivity of gonococci in Kampala. *East Afr. Med. J.*, **46**, 38-45.
- Plorde, J. J., Kidan, T. G. & Wright, L. J. (1973) : Penicillin sensitivity of gonococci in Ethiopia. *Brit. J. vener. Dis.*, **49**, 260-262.
- Quincke, G. (1970) : Über die Penicillin Empfindlichkeit von in Lomé, Togo, isolierten Gonokokken. *Z. Tropenmed. Parasitol.*, **21**, 433-437.
- Robins-Browne, R. M., Gaillard, M. C., Koornhof, H. J. & Mauff, A. C. (1977) : Penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*. *S. Afr. Med. J.*, **51**, 568.
- Stolz, E. (1977) : Penicillinasevormende gonokokkenstam geïsoleerd in Rotterdam. *Ned. T. Geneesk.*, **121**, 620-622.
- Van Dyck, E., Piot, P. & Pattyn, S. R. (1976) : Evaluation of three techniques for carbohydrate fermentation of *Neisseria gonorrhoeae*. *Zbl. Bakt. Hyg., 1 Abt. Orig. A.*, **236**, 231-234.
- Verhagen, A. R., Van der Ham, M., Heimans, A. L., Kranendonk, O. & Maina, A. N. (1971) : Diminished antibiotic sensitivity of *Neisseria gonorrhoeae* in urban and rural areas in Kenya. *Bul. Wld. Hlth. Org.*, **45**, 707-717.