

République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de
l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA - Béjaïa

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Spécialité : Microbiologie Fondamentale



Réf :

.....

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Isolement, identification et étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir des différentes surfaces de crèches de la région de Bejaia.

Thème

Présenté par :

AZZI Aida & DAHMANI Khalissa

Soutenu le : 25 juin 2023

Devant le jury composé de :

Mr. Amir Nadir

MCA

Président

Mme. Yousfi Massilia

MCA

Encadreur

Mr. Barache Nacime

MCB

Examineur

Année universitaire : 2022 / 2023

Remerciements

On tient à exprimer nos remerciements les plus sincères et les plus profonds tout d'abord au bon Dieu le tout puissant qui nous a donné la force à réaliser ce travail.

Nous tenons à remercier aussi particulièrement et chaleureusement notre promotrice madame Yousfi Massília qui nous a fait un grand honneur en ayant accepté de nous guider tout au long de la réalisation de ce travail.

Nous remercions également les membres du jury, pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont aussi aux propriétaires des structures de garde (les crèches), ainsi que tous ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.



- A.Aída & D.Khalissa -

Dédicace

Je dédie ce travail,

A mes chers et admirables parents, qui ont toujours été présent pour moi et qui m'ont toujours soutenue dans ma vie. Aucun hommage ne pourrait témoigner de L'amour que je leur porte. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes frères Rafik et Halim.

A ma sœur Salima et son mari Mourad.

A mes adorable nièces Nourhane et Sidra.

 - *A. Aïda*

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur soutien et leurs prières durant toute mes années d'études, que dieu vous garde pour nous.

A mon cher frère Zidane et mes chères sœurs Rahma, Nesrine, Ouarda et Ikram pour leurs encouragements, appuis et soutiens.

A ma chère cousine Célia.

A toutes ma grande famille : mes tantes, mes oncles mes cousins et cousines.

A mes chères amies : Selma, Nardjes, Kenza, Hamida.

A tous ceux que j'aime.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.



D.Khalissa -

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Sommaire

Liste d'abréviation

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction Générale..... 1

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Les crèches 3

I.1.1. Définition de la crèche 3

I.1.2. L'objectif des milieux d'accueils de la petite enfance (crèches) : 3

I.1.3. Hygiène et règles générales..... 3

I.1.3.1. Hygiène des locaux et surface 4

I.1.3.2. Hygiène individuelle 4

I.1.3.3. Hygiène alimentaire 5

I.1.4. Origine de la contamination de l'environnement des crèches..... 6

I.1.4.1. Pollution de l'air intérieur 6

I.1.4.2. Les sources des polluants de l'air intérieur des crèches..... 6

I.1.5. Rôle des surfaces dans la transmission des bactéries pathogènes : 7

I.2. Les entérobactéries 8

I.2.1. Définition 8

I.2.2. Taxonomie..... 8

I.2.3. Habitat 9

I.2.4. Caractères bactériologiques..... 10

I.2.5. Pouvoir pathogène..... 12

I.3. Infections infantiles 13

I.3.1. Généralité 13

I.3.1.1. Définition des infections infantiles 13

I.3.1.2. Mode de transmission des infections infantiles 13

I.3.1.3. Les agents infectieux en cause 14

I.3.2. les différentes infections infantiles rencontrés au niveau des creches 14

I.3.3. Impacte des infections acquises en crèches sur la société..... 15

I.3.4. Préventions des maladies infectieuses infantiles..... 16

Sommaire

I.4. La résistance bactérienne aux antibiotiques.....	17
I.4.1. Généralité sur les antibiotiques	17
I.4.1.1. Définition	17
I.4.1.2. Caractéristiques des antibiotiques	17
I.4.2. Classification des antibiotiques.....	17
I.4.2.1. Les bêta-lactamines	18
I.4.2.2. Les aminosides	19
I.4.2.3. Les macrolides et apparentés	20
I.4.2.4. Les quinolones et fluoroquinolones	20
I.4.3. Mode d'action des antibiotiques	20
I.4.4. Résistance bactérienne	21
I.4.4.1. Généralités.....	21
I.4.4.2. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux antibiotiques	21

Chapitre II

Matériels et méthodes

II.1. Cadre de l'étude.....	24
II.2. Méthodologie.....	24
II.2.1. Prélèvements	24
II.2.2. Enrichissement.....	25
II.2.3. Isolement.....	25
II.2.4. Identification	25
II.2.5. La sensibilité aux antibiotiques.....	28

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Résultats.....	30
III.1.1. Population étudiée	30
III.1.2. Identification des souches.....	30
III.1.2.1. Aspect macroscopique.....	30
III.1.2.2. Aspect microscopique après coloration de gram	31
III.1.2.3. Résultats des tests biochimiques.....	33
III.1.3. La sensibilité aux antibiotiques	35
III.2. Discussions	39
Conclusion Générale	41
Références bibliographiques	

Annexes

Liste des abréviations

AFSCA :	Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ARNr :	Acide ribonucléique ribosomique
BGN :	Bacilles à Gram négatifs
pH :	Potentiel hydrogène
ONPG :	Ortho nitro phényl galactoside
TSI :	Triple Sugar Iron
Glu:	Glucose
Lac :	Lactose
VP :	Voges-Proskauer
Ind :	Indole
Cit :	Citrate de Simmons
TDA :	Test Tryptophane désaminase
H₂S :	Hydrogène sulfureux
ATB :	Antibiotique
LPS :	Lipopolysaccharides
PLP :	Protéine liée à la pénicilline
ETEC :	Enterotoxinogen <i>Escherichia coli</i>
EIEC :	Entero-invasive <i>Escherichia coli</i>
EHEC :	Entero-hémorragique <i>Escherichia coli</i>
EPEC :	Entero-pathogène <i>Escherichia coli</i>
UNICEF :	Fonds international de secours à l'enfance des Nations Unies
DMI :	La dose minimale permettant l'infection
IRA :	Infections respiratoires aiguës
OMA :	Otite moyenne aiguë
BLSE :	Bêta lactamase a spectre élargie
SNV :	Science de la nature et de la vie
DD-test :	Test double disque

Liste des abréviations

AMC :	Amoxicilline acide clavulanique
CAZ :	Céftazidime
CTX :	Céfotaxime
AP1 :	Crèche A personnel 1
AP2S2 :	Crèche A personnel 2 souche 2
BSM2S1 :	Crèche B salle à manger 2 souche 1
BSM2S2 :	Crèche B salle à manger 2 souche 2
BPJ1S1 :	Crèche B petit jouet 1 souche 1
BPJ1S2 :	Crèche B petit jouet 1 souche 2
BPJ2S1 :	Crèche B petit jouet 2 souche 1
BS2S1 :	Crèche B sanitaire 2 souche 1

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux groupes d'Entérobactéries (Perriere, 1992).	9
Tableau II : Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries (Ben moussa, A, 2016).	11
Tableau III : Nombre, région et période de prélèvements des échantillons.	24
Tableau IV : Sites de prélèvements des échantillons au sein des crèches	25
Tableau V : Tests biochimiques d'identification réalisée sur les entérobacteries isolées (Denis et al., 2007).	27
Tableau VI : Liste des antibiotiques testés et leurs concentrations.....	28
Tableau VII : Résultat de l'observation microscopique après colorations de Gram.	32
Tableau VIII : Lecture des résultats des tests biochimiques des six souches d'entérobactéries étudiées.....	34
Tableau IX : Diamètres d'inhibitions des antibiotiques pour chaque souche	36
Tableau X : Lecture des résultats de DD-Test.	38

Liste des figures

Figure 1: schémas qui montre le role des surfaces dans la transmission des infections (Jeblaoui.K ,2017)	7
Figure 2: Graphique représentant le taux d'isolement des entérobactéries	30
Figure 3: Aspect des colonies isolées sur gélose Mac Conkey	31
Figure 4: Graphique représentant des taux de sélection des entérobactéries après repiquage.	31
Figure 5: Observation microscopique après coloration de Gram.	32
Figure 6: Représentation graphique des pourcentages des Cocci et bacilles à Gram négatif	33
Figure 7: Les résultats de la galerie biochimique classique pour quelques souches d'entérobactéries isolées.....	33
Figure 8: Représentation graphique des pourcentages des espèces d'entérobactéries identifier	35
Figure 9: Antibiogrammes standard de quelque souche d'entérobactéries	36
Figure 10: Représentation graphique des pourcentages de résistance des souches d'entérobactéries aux différents antibiotiques.....	37
Figure 11: Résultat positif de DD-Test.	37

Introducción General

Introduction Générale

Depuis de nombreuses années, les structures d'accueil collectif (les crèches) proposent aux parents une solution de garde pour leurs enfants, qui permet de les accompagner dans leurs apprentissages tout en favorisant leurs sociabilisations. Ils sont encadrés par des professionnels de la petite enfance qui veillent à leurs épanouissements et leurs sécurités. Une crèche est donc un espace qui va impliquer de multiples acteurs : les enfants et leurs parents, des éducatrices, des auxiliaires de puériculture, des agents techniques chargés de la propreté et de l'hygiène de la structure, un médecin-pédiatre, une psychologue ainsi d'une directrice d'établissement (**Sens D, 2009**).

Cependant une crèche représente un haut lieu de circulation et de transmission des microorganismes pathogènes (bactéries, virus, parasites ...). Il s'agit des microorganismes fréquemment impliqués dans les infections humaines. Ces microorganismes vont probablement avoir des conséquences sur la santé de l'enfant, et peuvent se transmettre aux familles et au personnel de la crèche (**Floret D et Collet JP, 1997**).

Les bactéries les plus fréquemment isolé en laboratoire et responsable des infections appartiennent à la famille des entérobactéries (*Klebsiella*, *Salmonella*, *E. coli*, *Shigella*, *Enterobacter*, *Serratia spp*, ...) qui est une famille hétérogène de bactéries à Gram négatif responsable de la plupart des infections bactériennes humaines notamment chez les enfants (**Avril et al., 2000**).

Parmi, les infections infantiles en crèches on cite les méningites, les infections digestives, les infections néonatales, les infections nosocomiales et pulmonaires et les diarrhées infantiles (**Guédénéy et al., 2004**).

Le traitement de ces infections repose essentiellement sur le choix de l'antibiotique qui se fait en fonction des microorganismes habituellement responsables (**Talbert et al., 2009**).

L'utilisation d'antibiotiques a réduit de façon considérable le taux de mortalité liés aux maladies infectieuses, mais elle a été à l'origine d'une forte antibiorésistance. Depuis le début des années 60, le nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques ne cesse d'augmenter avec l'apparition de nouvelles résistances. L'antibiorésistance bactérienne devient donc un problème majeur de santé publique extrêmement préoccupant, dont les conséquences se mesurent en termes de difficultés thérapeutiques accrues (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

Introduction Générale

Dans ce contexte l'objectif général de notre étude était l'isolement l'identification des entérobactéries présentes dans les échantillons collectée à partir des différentes crèches dans la wilaya de Bejaïa et qui peuvent être responsables de différentes infections infantiles, ensuite d'étudier leur sensibilité vis à vis des différentes familles d'antibiotiques. Pour cela nous avons opté pour la méthodologie suivante :

- Collecte des prélèvements.
- Isolement et identification des entérobactéries présentent dans les échantillons.
- Tests de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme).
- Etudes des phénotypes de résistances (DD-Test).

Chapitre I

Synthèse bibliographique

II.1. Les crèches

II.1.1. Définition de la crèche

La crèche est une structure collective qui accueille des enfants dès la naissance jusqu'à 4 ans (voire 5 ans dans certains cas), durant toute la journée et durant toute l'année (fermeture annuelle entre un mois et un mois et demi). En principe, sont admis en priorité des enfants dont l'un ou les deux parents travaillent ou sont en études, pour une fréquentation régulière allant de quelques demi-journées à cinq jours par semaine (**Pecorini M, 2002, p. 15**).

II.1.2. L'objectif des milieux d'accueils de la petite enfance

Les crèches collectives et les jardins d'enfants sont des milieux d'accueil de la petite enfance, ils appliquent un programme qui a pour buts (**Humblet P, 2014**) :

- Assurer l'accueil, la sécurité, la santé et le bien-être des enfants.
- Favoriser le développement global de l'enfant, lui permettant de se développer à son rythme dans tous les domaines de son individualité, notamment aux niveaux émotionnel, social, cognitif, langagier,...
- Laisser progressivement les enfants s'adapter à la vie en communauté et s'y intégrer harmonieusement.
- Favorisez la réussite scolaire de votre enfant, notamment en l'aidant à faire sa transition vers l'école.
- D'aider les parents dans l'éducation de leurs enfants et leurs permettre de concilier leurs vies familiales, leurs vies professionnelles et leurs vie sociale. (**Journal officiel de la république algérienne N°58, 2019**).

II.1.3. Hygiène et règles générales

Les crèches sont des structures où les enfants sont accueillis en groupe, les contacts et les interactions entre les enfants, le personnel et l'environnement sont nombreux, ce qui en fait une structure à haut risque infectieux. Pour éliminer ces agents infectieux (virus, champignons et bactéries), ces établissements sont incités à établir des protocoles sanitaires et d'hygiène basés notamment sur : la désinfection, le nettoyage et la conservation des aliments (**Scistri S, 2016**).

II.1.3.1. Hygiène des locaux et des surfaces

L'objectif ici est de prévenir la transmission des germes par l'entretien des locaux et des surfaces du mobilier afin de préserver la santé des enfants et des personnels et cela en élaborant un protocole basé sur un ensemble de règles à appliquer(Scistri S, 2016) :

- Les murs, sols, portes et surfaces de travail doivent être revêtus de matériaux lisses, durs, imperméables, lavables et imputrescibles.
- Les fenêtres et plafonds sont eux aussi lavables et conçus pour éviter l'encrassement
- Les sanitaires doivent disposer d'un lave-main, d'un distributeur de savon et de papier jetable et être entretenus et nettoyés régulièrement.
- Utilisez des produits adaptés à la nature des surfaces à traiter et à la sécurité du personnel, avec un bon pouvoir nettoyant répondant aux normes exigées pour les produits détergents-désinfectants (bactéricide, fongicide, virucide).
- Porter des gants, ne jamais mélanger les produits d'entretien entre eux, respecter les dilutions et les temps de contact, respecter les notices d'utilisation et la fiche de données sécurité du produit, tenir les produits hors de la portée des enfants.

II.1.3.2. Hygiène individuelle

Le lavage régulier des mains à l'eau et au savon reste un moyen essentiel pour limiter la propagation de microbes. Dès lors, il faut insister sur le lavage régulier des mains. Il est également important de l'apprendre aux enfants dès leur plus jeune âge. Pour que le lavage des mains soit efficace, quelques règles doivent néanmoins être respectées :

- Les ongles doivent être propres, courts et sans vernis et le port de bijoux et faux ongles est proscrit.
- Pour les professionnels : le lavage des mains doit s'effectuer systématiquement dans les moments clés suivants :
 - ✓ Le matin, avant l'arrivée du premier enfant
 - ✓ Après tout contact avec un parent
 - ✓ Avant de manger, de donner à manger ou de manipuler des aliments,
 - ✓ Avant et après chaque échange, avant de prendre la température d'un enfant et après
 - ✓ Avant de préparer et d'administrer un médicament à un enfant et après

- ✓ Avant d'accompagner un enfant aux toilettes et après l'y avoir accompagné,
 - ✓ Avant d'aller aux toilettes et après y être allé,
 - ✓ Après avoir aidé un enfant à se moucher ou après s'être mouché, avoir toussé, éternué et chaque fois que c'est nécessaire !
- Pour les enfants : selon l'âge et autant que possible, le lavage des mains doit être pratiqué :
- ✓ À l'arrivée dans le milieu d'accueil
 - ✓ Avant et après chaque repas
 - ✓ Avant et après la sieste
 - ✓ Après usage du petit pot
 - ✓ Après les jeux en extérieur.
- En cas de souillure : par un liquide biologique (urines, selles, sécrétions nasales...), le lavage des mains à l'eau et au savon devra être suivi d'une désinfection avec un gel hydroalcoolique (**Rodier k et al., 2020**).

II.1.3.3. Hygiène alimentaire

Selon le guide d'hygiène relatif à la crèche du secrétariat générale du conseil de l'union européenne, dans le secteur de l'enfance, un document approuvé par l'**AFSCA** Belges (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire) rassemble toutes les recommandations en matière d'hygiène alimentaire reprises dans la législation. Le document est appelé « Guide de bonnes pratiques d'hygiène ». Parmi les grands principes de l'hygiène alimentaire citée on trouve :

- Les aliments ne doivent pas entrer en contact direct ou indirect avec d'autres aliments, équipements ou personnes fortement contaminés, la cuisine devrait se composer d'une zone sale dédiée au déballage, épluchage et lavage des aliments avant cuisson, et d'une zone propre dédiée à la manipulation des aliments cuits et prêts à consommer
- La conservation des aliments (< 7°C).
- Distribution des aliments : Les chaînes du chaud et du froid sont maintenues tout au long du transport et de la distribution, la nourriture est toujours transportée couverte.

– L'hygiène générale et individuelle : L'état de santé des personnes chargées de la préparation de la nourriture répond aux mêmes exigences que pour les adultes travaillant avec des enfants : les règles d'hygiène personnelle sont particulièrement strictes.

II.1.4. Origine de la contamination de l'environnement des crèches

II.1.4.1. Pollution de l'air intérieur

La pollution dans les espaces clos provient à la fois des polluants intérieurs issus des produits et des objets du quotidien ainsi que de l'environnement extérieur immédiat (**Ministère des Solidarités et de la Santé France, 2021**). Il existe une grande variabilité individuelle dans la réceptivité aux polluants de l'air. Certaines populations en particulier les enfants sont plus sensibles que d'autres (**Noya F, 2005**). Dans les crèches, les enfants sont en contact avec de nombreux polluants liés : aux matériaux et ameublement avec lesquels les enfants sont directement en contact (moquette, peinture, produits de ménage...), à la ventilation, aux activités humaine, à l'environnement (Proximité d'axe routier, zone d'épandage...). Pour toutes ces raisons, il est prioritaire de s'occuper de la qualité de l'air intérieur dans les établissements accueillant les enfants (**IMSEP, 2021**).

II.1.4.2. Les sources des polluants de l'air intérieur des crèches

Les polluants de l'air intérieur dans les crèches peuvent être : des Particules (des poussières déplacées par les systèmes de ventilation, chauffage et climatisation, des pollens, des cheveux, des particules fines en provenance de l'extérieur : trafic routier, zones industrielles, etc.), des composés Organiques Volatils (COV) et gaz (Ils sont émis par les matériaux utilisés lors de la construction/rénovation ou l'usage du bâtiment, qui peuvent polluer l'air y compris de nombreuses années après la fin des travaux , notamment du mobilier, des revêtements, des produits ménagers, mais aussi des fournitures scolaires, le trafic routier alentour génère également du benzène, polluant susceptible de rentrer à l'intérieur par les ouvertures lors des plages d'aération), des micro-organismes (les bactéries, les virus, les champignons et les moisissures. Les micro-organismes se développeront plus facilement si le taux d'humidité est élevé. Ils peuvent être transmis d'un enfant à un autre, ou bien du personnel, si l'un d'eux est malade) (**REYCKERS .M, 2022**).

II.1.5. Rôle des surfaces dans la transmission des bactéries pathogènes

Les microorganismes vivent tout le temps sur les surfaces. Ces derniers se déposent par sédimentation ou contact direct et colonisent ces milieux. Cette colonisation peut affecter tous ceux qui se déplacent à l'intérieur de la structure. Ils jouent donc un rôle important dans la transmission des agents pathogènes (figure1) et il est important de contrôler ce risque infectieux (Weber D *et al.*, 2013).

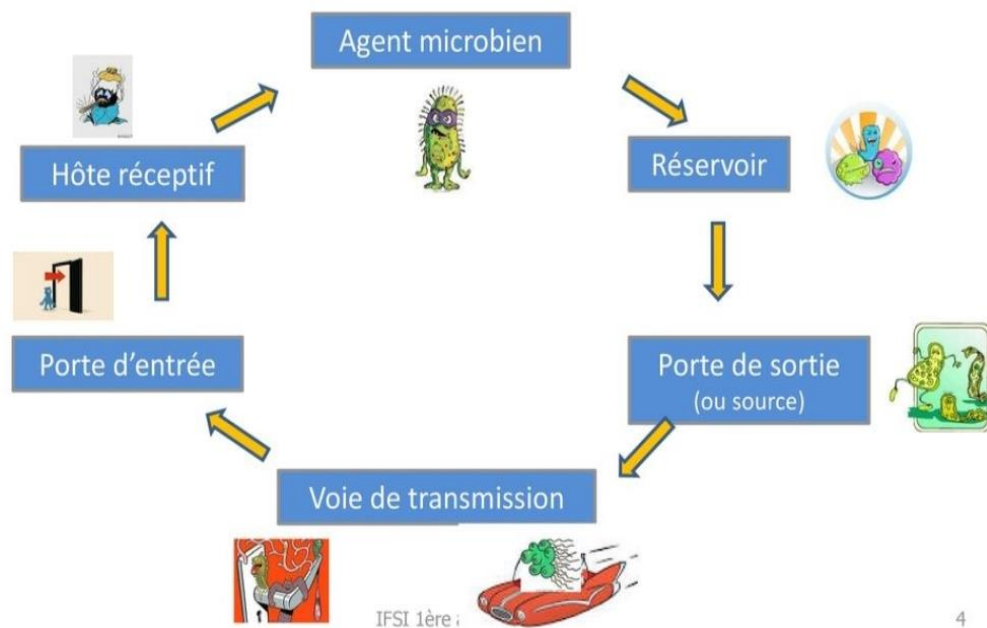


Figure 1: Schémas qui montre le rôle des surfaces dans la transmission des infections (Jeblaoui.K ,2017)

II.2. Les entérobactéries

II.2.1. Définition

Les Entérobactéries ou *Enterobacteriaceae* constituent une vaste famille bactérienne rencontrées tous les jours en bactériologie médicale. Elles sont nommées ainsi car la plupart des espèces qui composent cette famille sont soit des hôtes normaux ou pathogènes de tube digestif de l'homme et des animaux (**Fauchère et al., 2002**). C'est une famille qui est définie par des caractères bactériologiques :

- Des bacilles à Gram négatif
- Mobiles par une ciliature péritriches ou immobiles
- Poussent en aérobie et en anaérobie
- Poussent sur milieu ordinaires
- Fermentent le glucose
- Réduisent les nitrates en nitrites

Cette définition permet d'exclure de la famille des *Enterobacteriaceae* d'autres bacilles à Gram négatif comme les *Pseudomonas*, les *Vibrio* et les *Aeromonas* (**Fauchère et al., 2002**).

II.2.2. Taxonomie

Les Entérobactéries appartiennent au domaine des Bactérie, à l'embranchement des *Protéobacteria*, à la classe des *Gammaprotéobacteria*, à l'ordre des *Enterobacteriales* et à la famille des *Enterobacteriaceae* (**Bergey, 2001**).

La famille des *Enterobacteriaceae* comprend 100 espèces répertoriées. Les plus fréquemment isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (**Pilet et al., 1997**).

Les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARNr 5S et 16S en cinq groupes (tableau I) :

Tableau I : Principaux groupes d'Entérobactéries (Perriere, 1992).

GROUPE	Famille	Genre	Espèces
GROUPE I	<i>Edwardsiellae</i>	<i>Edwardsiella</i>	
	<i>Salmonelleae</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella typhi</i>
			<i>S.paratyphi</i>
			<i>S.enteritidis</i>
GROUPE II	<i>Escherichiea</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia coli</i>
		<i>Shigella</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
			<i>Shigella flexneri</i>
			<i>Shigella boydii</i>
			<i>Shigella sonnei</i>
<i>Levineae</i>	<i>Levinea</i>		
GROUPE III	<i>Klebsielleae</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
			<i>Klebsiella oxymore</i>
		<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter aerogen</i>
			<i>Enterobacter cloaceae</i>
		<i>Serratia</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Erwinia</i>			
GROUPE IV	<i>Proteae</i>	<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
			<i>Proteus vulgaris</i>
			<i>Proteus rettgerii</i>
		<i>Providencia</i>	
GROUPE V	<i>Yersinieae</i>	<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterolitica</i>
			<i>Y. pseudotuberculosis</i>

II.2.3. Habitat

Les Entérobactéries ont un habitat très diversifié. Largement répandues dans l'environnement (le sol, les végétaux...) et dans l'intestin de l'Homme et des animaux. Certaines espèces ont une niche écologique très étroite. *Salmonella typhi* qui est responsable de la fièvre typhoïde n'est retrouvée que dans l'intestin de l'Homme. D'autres, les plus nombreuses sont ubiquitaires, *Klebsiella pneumoniae* par exemple très présente dans

l'environnement ou elle participe aux grands cycles biochimiques naturels est aussi retrouvée dans l'intestin de nombreuses espèces de primates (**Bernard et Alain, 2002**).

II.2.4. Caractères bactériologiques

a) Caractères morphologique

Toutes les entérobactéries ont une morphologie habituellement typique, sous forme de BGN (2-6µm de longueur/0.3-1 µm de largeur), ces dimensions varient selon l'âge de la culture, l'espèce et la souche (**Avril et al., 2000**). Elles sont soit mobiles par ciliature péritriches (*Escherichia*) ou immobiles (*Klebsiella*, *Shigella*, *Yersinia pestis*), non sporulés et peuvent être encapsulés (*Klebsiella*) (**Joly et Reynaud, 2002**). La plupart des espèces pathogènes pour l'Homme possèdent des fimbriaes ou Pilis communs qui sont des facteurs d'adhésion (**Khayar, 2011**).

b) Caractères culturaux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobiose et en anaérobiose. Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Ce sont des germes mésophiles et neutrophiles (pH optimum voisin de 5,5 - 8) et ils sont assez tolérants aux variations de la pression osmotique. On distingue cinq types de colonies :

- Colonies S (smooth) : arrondies, lisses, humides, blanches ou translucides
- Colonies R (rugueuses) : sèches à contours irréguliers et mates (bactéries vieilles ou anormales).
- Colonies M (muqueuses) : grosses colonies ± confluentes (*Klebsiella spp*).
- Colonies envahissantes ou nappantes : formation d'un tapis uniforme (*Proteus*).
- Colonies naines : Elles s'observent avec des souches déficientes dans certaines de leurs chaînes métaboliques (**Delarras, 2007**).

c) Caractères biochimiques

Les caractères d'identification des *Enterobacteriaceae* sont essentiellement biochimiques on distingue (**Bernard et Alain, 2002**):

- **Les voies métaboliques de la fermentation des sucres** : Fermentation en acides mixte, fermentation butanediolique, fermentation de glycérol en 1,3-propane diol, fermentation des sucres et des poly alcools
- **Production d'un métabolite terminal** : production des nitrites, d'indole, de gaz
- **Recherche d'enzymes** : par exemple la bêta-galactosidase qui transforme le lactose en glucose et galactose mais qui agit aussi sur un substrat synthétique (ONPG)
- **Culture en utilisant une source de carbone définie** : citrate de Simmons comme seule source de carbone

Tableau II : Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries (**Ben moussa, A, 2016**).

	Glu	Lac	ONPG	Ind	VP	Cit	Mob	Urée	TDA	H ₂ S
<i>Escherichia</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+/-
<i>Enterobacter</i>	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Klebsiella</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	+	-	-
<i>Serratia</i>	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-
<i>Salmonella</i>	+	-	-	-	-	+/-	+	-	-	+
<i>Shigella</i>	+	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	-	-	+/-	-	+/-	+	+	+	+/-
<i>Providencia</i>	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-
<i>Yersinia</i>	+	-	+	+/-	+	-	+	+	-	-

d) Caractères antigéniques :

Toutes les entérobactéries possèdent des antigènes de paroi (somatiques) ou antigènes O qui correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) et qui constituent les endotoxines des bactéries à Gram négatif. Les espèces mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelles ou antigènes H de nature protéique, constitués de flagellines.

Certaines souches possèdent en plus un antigène K qui masque l'antigène O, et qui correspond à une enveloppe polysidique constituant une véritable capsule et donnant un aspect muqueux (Goro AA, 2021). Elles possèdent aussi l'antigène Kunitz, un antigène commun des Enterobacteriaceae qui n'est pratiquement retrouvé que dans cette famille et a un intérêt taxonomique (Avril et al., 2000).

II.2.5. Pouvoir pathogène

Les Entérobactéries sont à l'origine des maladies de gravité très variable, en raison de mécanismes pathogéniques distincts (Livermor, 1995). Il existe différents types d'*Escherichia coli* responsables d'infections intestinales, Enterotoxinogène *Escherichia coli* (ETEC) responsable de la « diarrhée des voyageurs » ou « turista » et des syndromes épidémiques, Entero-invasive *Escherichia coli* (EIEC) responsable de syndromes dysentériques avec invasion de la muqueuse intestinale, Entero-hémorragique *Escherichia coli* (EHEC) responsable de diarrhées sanglantes liées à la production de toxines, Entero-pathogène *Escherichia coli* (EPEC) responsable de gastro-entérites infantiles (Leclercq, 2006).

Les *Shigella* responsable de dysenterie bacillaire et elles sont la cause actuellement chez l'adulte de colites infectieuses et chez l'enfant de gastro-entérites sévères avec diarrhée mucopurulente et sanglante, fièvre et déshydratation (Le Minor et Veron, 1989). *Klebsiella* chez l'Homme est l'agent des pneumopathies aiguës, d'angines, d'otites, de cystites et d'affections rénales (Ould Baba Ali et Taibi, 2019). Les salmonelles responsables des fièvres typhoïdes et para typhoïdes dues aux *S. typhi* et *S. paratyphi* A, B et rarement C chez l'Homme, qui en est le seul réservoir, des toxi-infections alimentaires et des gastro-entérites dues aux salmonelles ubiquistes, dont les hôtes naturels sont les animaux, qui peuvent contaminer l'homme. Les entérobactéries sont responsables aussi des infections urinaires, méningites, infections pulmonaires... (Avril et al., 1992 ; Flandrois, 1997). *Proteus* et *Providencia* peuvent provoquer diverses infections : entérites, cystites, otites, méningites (Bennani, 2014).

II.3. Infections infantiles

II.3.1. Généralité

II.3.1.1. Définition des infections infantiles

Selon l'UNICEF France une maladie infantile est une pathologie qui touche particulièrement ou exclusivement les enfants. D'origine virale ou bactérienne, la plupart de ces infections peuvent être prévenues grâce à la vaccination, l'application de mesures d'hygiène appropriées ou la prise de médicaments. Il s'avère que ces infections sont beaucoup plus retrouvées chez les enfants en collectivités placés en crèches que chez ceux gardés à leurs domiciles (Antoine et al., 2004).

II.3.1.2. Mode de transmission des infections infantiles

Les modes de transmission sont variables selon la nature de la maladie et l'agent infectieux en cause. Dans les services de garde et les écoles, cinq modes de transmission sont particulièrement fréquents (Lambert D, 2015) :

- Transmission par contact direct (contact physique étroit, sans intermédiaire, entre une personne infectée et une personne réceptive) ou contact indirect (lorsqu'une personne entre en contact avec un objet ou des mains contaminés et porte le microbe à sa bouche, à son nez, à ses yeux ou à tout autre endroit pouvant constituer une porte d'entrée pour l'infection).
- Transmission par gouttelettes (lorsqu'une personne infectée projette dans l'air des gouttelettes respiratoires contenant l'agent infectieux en toussant, en éternuant ou en parlant. Ces gouttelettes sont projetées sur une courte distance et se déposent sur la muqueuse du nez, de la bouche ou des yeux d'une personne).
- Transmission par voie aérienne (lorsque le microbe, présent dans des microgouttelettes respiratoires ou dans des particules de poussière en suspension dans l'air est inhalé. Le microbe peut rester dans l'air pendant une longue période et être dispersé par les courants d'air sur une longue distance)
- Transmission par véhicule commun (implique une unique source contaminée : eau, aliment comme du jus non pasteurisé, air, eau d'une piscine ou objet à usage commun comme un thermomètre partagé, qui transmet l'infection à de nombreux individus).
- Transmission par vecteur (l'agent infectieux doit passer par un intermédiaire comme un insecte ou un moustique pour être transmis)

II.3.1.3. Les agents infectieux en cause

Peuvent être des bactéries, des virus, des champignons, des parasites ou tout autre agent pouvant causer des infections chez les enfants. Certains facteurs associés à l'agent infectieux influencent sa facilité à se transmettre et causer des maladies : La pathogénicité, la virulence, la DMI (la quantité minimale d'agents infectieux permettant l'infection), les modes de transmission, les portes d'entrée, le réservoir, la porte de sortie propres à l'agent infectieux et la capacité de l'agent infectieux à survivre dans l'environnement et à rester viable (**Lambert D, 2015**).

II.3.2. Les différentes infections infantiles retrouvées aux niveaux des crèches

a) La méningite

La méningite est une infection grave pouvant être mortelle. Il s'agit d'une inflammation des méninges, membranes enveloppant le système nerveux central, le cerveau et la moelle épinière, dont l'origine est généralement infectieuse. Elle se traduit par un syndrome méningé (céphalées, fièvre, raideur de la nuque et vomissements) (**Dusart et Coyette, 2010**) Les germes responsables des méningites varient en fonction de l'âge : Chez le nouveau-né et jusqu'à un mois, les principales bactéries causant de cette maladie sont *Streptococcus agalactiae* (ou streptocoques du groupe B), entérobactéries essentiellement *Escherichia coli* (surtout du groupe K1), les entérocoques et *Listeria monocytogenes* (**Goita, 2003**).

b) Les gastro-entérites

La gastro-entérite est une maladie infectieuse fréquente chez les enfants. C'est une inflammation de la muqueuse digestive, de l'estomac et des intestins qui provoque des diarrhées et/ou des vomissements, de la fièvre plus des douleurs abdominales et de l'anorexie. Une maladie très contagieuse par contact direct entre enfant et la personne déjà malade, par l'ingestion d'aliments contaminés ou d'eau souillée, par contact avec des objets sur lesquels se sont déposées de fines particules de selles ou de vomissements de personnes malades. Le risque essentiel chez le nourrisson et le jeune enfant étant la déshydratation. (**Houssin et al., 2009**). Les gastro-entérites infantiles sont dues essentiellement aux virus (rotavirus) ou d'origine bactérienne (*Salmonella, Escherichia coli*) (**Rodérick, 2018**).

c) Les infections respiratoires aiguës (IRA)

Elles touchent à l'ensemble des voies respiratoires supérieures (du nez, du pharynx, de sinus) et/ou inférieures (de l'épiglotte, du larynx, de la trachée, des bronches, bronchioles ou des poumons) (Penny et al., 2005). En fonction du niveau de l'atteinte de l'arbre respiratoire de l'enfant, on distingue les IRA hautes et basses. Les infections des voies respiratoires hautes sont dues à une infection virale ou bactérienne touchant les voies respiratoires supérieures, elles regroupent la rhinopharyngite, angine, sinusite et otite moyenne aiguë (Humair et Kaiser, 2013). Les infections respiratoires basses affectent le territoire sous glottique de l'arbre respiratoire. Elles regroupent les bronchites aiguës et les pneumonies ou pneumopathies (Castro et Molina, 2011).

d) Les infections urinaires

L'infection urinaire correspond à l'agression d'un tissu de l'arbre urinaire par un ou plusieurs micro-organismes, générant une réponse inflammatoire et des symptômes cliniques de nature et d'intensité variable selon le terrain (Remic, 2018). Il existe des infections urinaires basse (cystite) et haute (pyélonéphrite). Chez l'enfant, *E. coli* est responsable de près de 70% des infections urinaires, *Enterococcus spp* responsable de 10% des cas, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* de 7-8% des cas (Lart, 2017).

e) Otite moyenne aiguë (OMA)

L'otite moyenne aiguë peut être définie comme la présence d'un épanchement dans l'oreille moyenne avec des signes d'infection aiguë. Cette infection est souvent bactérienne (80 à 95 % des cas), les principales bactéries responsables sont *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus*, *Pseudomonas* et dans une moindre mesure, *Streptococcus pyogenes* est rarement en cause (Heinrichs et Frère, 2018).

II.3.3. Impacte des infections acquises en crèches sur la société

De très nombreux germes responsables des maladies infectieuses circulent dans les crèches et le risque infectieux est beaucoup plus élevé qu'aux domiciles. Ces maladies infectieuses ont probablement des conséquences sur la santé de l'enfant, elles peuvent se transmettre aux familles et aux personnels des crèches. Elles représentent un coût non négligeable à la société (Floret D et al., 1997).

II.3.4. Préventions des maladies infectieuses infantiles

On ne peut pas toujours éviter les maladies infectieuses, mais on peut les contrôler en éliminant ou en réduisant la source d'infection, en interrompant leur transmission ou en protégeant les personnes susceptibles de faire la maladie par (Cuzin L,2005) :

- La vaccination : les enfants qui fréquentent la garderie éducative sont particulièrement vulnérables aux maladies pouvant être prévenues par un vaccin qui peut avoir de graves incidences. La propagation de la maladie peut être considérablement réduite
- Contrôle des maladies transmissibles et surveillance systématique : Les personnes exploitantes des garderies éducatives peuvent déceler rapidement la présence d'une maladie dans leur garderie par une surveillance systématique quotidienne
- Nettoyage, assainissement et désinfection : les précautions d'hygiène sont les premières barrières pour prévenir et ralentir la propagation des infections bactériennes.

II.4. La résistance bactérienne aux antibiotiques

II.4.1. Généralité sur les antibiotiques

II.4.1.1. Définition

Les antibiotiques sont des substances élaborées par des micro-organismes (procaryotes ou eucaryotes) ou obtenues à l'heure actuelle par synthèse ou hémisynthèse, et capables d'inhiber spécifiquement la croissance d'autres micro-organismes par un mécanisme particulier jouant sur les paramètres vitaux du germe (**Gogny, 2001**).

II.4.1.2. Caractéristiques des antibiotiques

Les antibiotiques sont caractérisés par leurs :

- L'activité antibactérienne (les antibiotiques sont actifs sur les bactéries à Gram positif ou à Gram négatif : spectre étroit, ou sur les deux à la fois : spectre large).
- La toxicité sélective (mode d'action).
- L'activité en milieu organique (pharmacocinétique).
- Une bonne absorption et diffusion dans l'organisme.

Toutes ces caractéristiques conditionnent les indications de leur utilisation et les possibilités d'association à des différentes molécules afin d'élargir le spectre d'action (**Yala et al., 2001**).

II.4.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères : l'origine, la nature chimique, le spectre d'activité et le mécanisme d'action (**Yala et al., 2001**).

Selon la structure, les antibiotiques sont regroupés en familles dans lesquelles les différents produits ont en commun une structure chimique et un mécanisme d'action identique. Les antibiotiques actuellement utilisés en médecine sont regroupés en 10 familles : Les β -lactamines, les aminosides, les phénicoles, les cyclines, les macrolides, les lincosamines, les synergistines, les polypeptides, les glycopeptides et les quinolones (**Fauchère et Avril, 2002**).

A l'intérieur d'une famille, les ATB peuvent être regroupés selon leur spectre d'activité. Ils peuvent aussi être regroupés en fonction des modifications successives qui ont été apportés à leurs structures chimiques pour améliorer leur spectre d'activité ou leur pharmacologie ; on parle alors de « génération d'antibiotique » (**Fauchère et Avril, 2002**).

II.4.2.1. Les bêta-lactamines

Les β -lactamines constituent une famille majeure d'antibiotiques très largement utilisés en clinique (**Cattoir, 2008**). Le noyau de base est le cycle β -lactame. Dans cette famille on distingue deux groupes principaux : les pénicillines et les céphalosporines et des groupes de produits plus récents apparentés aux β -lactamines (**Fauchère et Avril, 2002**). Les β lactamines agissent au niveau de la paroi bactérienne en inhibant la dernière étape de la synthèse du peptidoglycane entraînant une lyse bactérienne (**Yala et al., 2001**).

a) Les pénames : Pénicillines

Des dérivés de l'acide amino-6 pénicillanique caractérisées par une structure de base. Selon la nature du radical fixé sur le carbone en position six (R6) on distingue :

- Les pénicillines G : ou benzyl pénicilline, produit historique qui reste encore sur certaines bactéries à Gram positif (*Streptocoques, Bacillus...*) (**Fauchère et Avril, 2002**)
- Les pénicillines V : ou phénoxy-méthyl-pénicilline administrable par voie orale (**Fauchère et Avril, 2002**).
- Les pénicillines M : (oxacilline, méticilline), intéressantes pour leur résistance à l'action des pénicillinases staphylococciques (**Fauchère et Avril, 2002**)
- Les pénicillines A : ou amino- pénicilline (ampicilline, amoxicilline...) ont un spectre qui s'élargit vers les Gram négatif. Elles sont encore très largement utilisées notamment à cause de leur excellente diffusion (**Fauchère et Avril, 2002**).
- Les carboxypénicillines : (ticarcilline), les uréido-pénicillines (mezlocine, pipéracilline) et les amidino-pénicillines (pivmecillinam) sont caractérisées par une activité élargie aux *Pseudomonas* et a certaines anaérobies stricts (**Fauchère et Avril, 2002**)

b) Les céphèmes : les céphalosporines

Ce sont des dérivées semi synthétique de la céphalosporine C. Le noyau de base associe un cycle bêta-lactame a un cycle dihydrothiazine afin d'obtenir l'acide-7-aminocéphalosporanique (**Cavallo et al., 2004**). Le radical R conditionne l'activité antibacter alors que R' conditionne la pharmacologie des dérivés. Selon la nature de ces deux substituant, un grand nombre de produits ont été synthétisés (**Fauchère et Avril, 2002**) :

- Les céphalosporines de première génération (C1G) : (céfazoline, céfalotine, céfradine, céfaclor) comprennent des produits surtout actifs sur les Gram positif (sauf les entérocoques) (**Fauchère et Avril, 2002**).

- Les céphalosporines de deuxième génération (C2G) : (céfamandole, céfotiam, céfoxitine, céfuroxime, céfotétan) ont un spectre étendu vers les entérobactéries (**Fauchère et Avril, 2002**).
- Les céphalosporines de troisième génération (C3G) : (céftazidime, céfotaxime, ...) constituent un groupe de très nombreux produits surtout actif sur les Gram négatif avec des CMI basses. Elles sont résistantes a beaucoup de β -lactamases et ont une très bonne diffusion dans de nombreux sites inaccessibles aux autres céphalosporines (**Fauchère et Avril, 2002**).
- Les céphalosporines de quatrième génération (C4G) : sont stable à l'hydrolyse des céphalosporinases hyper produites, les représentants de cette génération sont la céfépime et la cefpirome (**Essack, 2001**).

c) Les monobactames

Cette famille est caractérisée par la présence du noyau azétidine monocyclique lié au cycle bêta-lactame (**Essack, 2001**). L'aztréonam est actuellement le seul monobactame disponible.

d) Les carbapénèmes

Des dérivés de thianamycine (imipenème, ertapenème, ...), ont le plus large spectre d'activités de tous les antibiotiques de bêta-lactamines, caractérisées par une stabilité à l'hydrolyse des bêta-lactamases. Ils sont utilisés pour le traitement des infections sévères dues aux entérobactéries productrices des bêta-lactamases a spectre étendu (BLSE) (**Cuzon et al., 2010**).

e) Les inhibiteurs des bêta-lactamases

Incluent l'acide clavulanique le sulbactam et le tazobactam (**Cavallo et al., 2004**). Qui sont administrés sous forme antibiotique/inhibiteur tel que l'Agmentin (amoxicilline /acide clavulanique) (**Coleman, 2006**).

II.4.2.2. Les aminosides

Les aminosides sont produits par les Streptomyces et les Actinomyces. La structure de base de ces antibiotiques comporte un aminocyclitol (cycle a six chaines avec des groupements amines) (**Leclercq et al., 1999**). Ils ont un large spectre antibactérien qui comprend les bactéries à Gram positif et négatif. Seules les bactéries anaérobies strictes échappent naturellement à leur activité (**Duval et Soussy, 1990**). Ils perturbent la synthèse des protéines au niveau de la fraction 30S du ribosome entraînant la destruction bactérienne. Ils sont bactéricides (**Yala et al., 2001**).

II.4.2.3. Les macrolides et apparentés

Les macrolides sont des antibiotiques fréquemment utilisés en pratique de ville à cause de leur facilité d'emploi. Ils ont un spectre étroit, et sont parfaitement actifs sur les germes intracellulaires. Ils ont une excellente pénétration tissulaire. Ils possèdent un noyau lactone central qui est à la base de leur classification, selon le nombre d'atomes de carbone. Ce sont des molécules lipophiles. Ces substances ont un spectre relativement étroit limité aux germes suivants : Cocci à Gram positif (*Streptocoques*, *Staphylocoques*), Cocci à Gram négatif, Bacilles à Gram négatif, Bacilles à Gram positif, Germes anaérobies, Germes intracellulaires (*Chlamydiae*...) (Yala et al., 2001).

Les macrolides agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne. Ils se fixent sur l'unité 50 S du ribosome et bloquent ainsi la réunion du dernier stade de la synthèse. Ils sont bactériostatiques (Yala et al., 2001).

II.4.2.4. Les quinolones et fluoroquinolones

Les quinolones ont une structure générale dérivant de l'acide dihydro 1,4 oxo 4 quinoléine carboxylique. La première molécule des quinolones est Negram® acide nalidixique. Depuis, plusieurs molécules ont été synthétisées pour exalter le pouvoir antibactérien et améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques. Schématiquement on peut classer les quinolones sur la base de l'étendue du spectre antibactérien et la nature fluorée ou non du squelette en deux groupes : Les quinolones de première génération ou classiques (acide nalidixique, acide oxolonique,) et les quinolones de deuxième génération ou fluoroquinolones (Ofloxacin, Levofloxacin). Les quinolones de 1ère génération ont à peu près le même spectre d'activité dirigé essentiellement contre les bactéries à Gram négatif excepté *Pseudomonas spp*, les fluoroquinolones ont un spectre élargi, on retrouve les bactéries à Gram négatif, les cocci à Gram positif... Les quinolones inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et la transcription de l'ADN bactérien (Yala et al., 2001).

II.4.3. Mode d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises telles que la synthèse de la paroi (beta-lactamines, glycopeptides, fosfomycine), la réplication/transcription de l'ADN (4-quinolones, rifampicine, sulfamides, triméthoprime), la synthèse protéique (aminosides, tétracycline, macrolides et apparentés, chloramphénicol) ou encore la respiration cellulaire (polymyxines, daptomycine). Pour exercer leur action, ils

doivent se lier à des cibles moléculaires spécifiques le plus souvent intracellulaires (COURVALIN P *et al.*, 2006).

II.4.4. Résistance bactérienne

II.4.4.1. Généralités

a) Définition de la résistance

C'est la capacité pour une souche bactérienne de se multiplier dans une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe la majorité des souches appartenant à la même espèce. La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise (MUYLEAERT *et al.*, 2012).

b) Origine de la résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extra chromosomique) (Carle S, 2010).

- Résistance naturelle (intrinsèque) : La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. La résistance naturelle détermine les phénotypes « Sauvage » d'une espèce bactérienne vis-à-vis des antibiotiques (Mayer *et al.*, 2000).
- La résistance acquise : c'est un caractère qui ne concerne que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. Elle est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Elle résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce, et elle a été observée dès le début de l'antibiothérapie (Lozniewski *et al.*, 2010).

II.4.4.2. Mécanismes de résistance des entérobactéries aux antibiotiques

a) Résistance aux les bêta-lactamines

– Résistance non enzymatique

Imperméabilité de la membrane externe : Pour atteindre leurs cibles situées à la surface de la membrane cytoplasmique, les β -lactamines doivent se diffuser au travers des canaux spécialisés appelés porines. La diffusion est en fonction de la charge, de la masse moléculaire et de la polarité des molécules, Une diminution de la perméabilité résulte souvent d'une

mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines par lesquelles l'antibiotique peut pénétrer dans la bactérie (**Kumar et Schweizer, 2005**).

Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux : Il existe chez les bactéries des systèmes permettant d'excréter certains antibiotiques hors de la cellule. Ces systèmes jouent un rôle dans la résistance naturelle. Sous l'effet de mutations, leur niveau d'expression peut augmenter et faire apparaître une résistance acquise pouvant toucher simultanément plusieurs familles d'antibiotiques (fluoroquinolones et β -lactamines) (**Nauciel et Vilde, 2005**).

Modification des protéines liée aux pénicillines (PLP) : Cette résistance peut avoir lieu par des mutations dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou par l'acquisition de gènes étrangers codant pour des nouveaux PLPs ayant une affinité différente aux β -lactamines (**Lagha, 2015**).

– **Résistance enzymatiques**

Productions des bêta-lactamases : Les entérobactéries ont une capacité de produire des bêta-lactamases. Des enzymes bactériennes capables d'inactiver de nombreuses β -lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame. Elles catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β -lactame pour donner un acyl-enzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries Gram négatif (**Medeiros, 1984**). Deux types de classification sont principalement utilisés pour ces enzymes : la classification structurale proposée par Ambler (Classe A : elle comprend des pénicillinases, des céphalosporinases inductibles (AmpA) chromosomiques ou plasmidiques, et des β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Classe B : constitue le groupe des métallo-enzymes zinc-dépendantes (AmpB), pouvant être inhibées par acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA). Classe C : elle est constituée de céphalosporinases (AmpC) chromosomiques ou plasmidiques, résistantes à l'acide clavulanique. Classe D : oxacillinases (AmpD)) et la classification fonctionnelle de Bush qui est établie selon les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse. (**Bush et al., 1995**).

b) Résistance aux aminosides

Le mécanisme de résistance principal aux aminoglycosides est l'acquisition d'enzymes bactériennes inactivatrices qui modifient les antibiotiques : phosphotransférases (APH), nucléotidyltransférases (ANT) et acétylstranférases (AAC) qui catalysent la phosphorylation des groupements hydroxyles (OH), la nucléotidylation des groupements hydroxyle, et l'acétylation des groupements aminés (NH₂). Ces enzymes sont majoritairement codées par des gènes portés sur des plasmides. (**Fauchere, 1997**).

c) Résistance aux quinolones

La résistance aux quinolones est essentiellement due à des mutations chromosomiques sur les gènes *gyrA* et *parC* et parfois à une imperméabilité ou à un flux actif conduisant à différents phénotypes de résistance. Une résistance de type plasmidiques a également été décrite (**Soussy CJ, 2007**).

Chapitre II
Matériels et méthodes

III.1. Cadre de l'étude

Notre étude est réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie (laboratoire 03) bloc 12 de la faculté Science de la nature et de la vie de l'université A. MIRA-Bejaïa durant la période du mois d'Avril au mois de Mai 2023. Il s'agit d'une étude dont le but est en première parti l'isolement des différentes souches bactériennes a Gram négatifs ensuite l'identification des souches d'entérobactéries capable de contaminer les enfants en collectivité et enfin de tester la résistance et la sensibilité de ces souches vis-à-vis de différentes familles d'antibiotiques.

III.2. Méthodologie

III.2.1. Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés au niveau de trois crèches différentes dans la wilaya de Béjaïa : « Béjaïa ville » et « Kherrata », durant des périodes différentes (tableau III). Et cela à partir des surfaces les plus susceptibles de rentrer en contact avec les enfants ainsi que le personnel au sein des crèches (tableau IV).

Les prélèvements ont été fait au niveau de deux régions différentes et a des périodes différentes par écouvillonnage, en utilisant des écouvillons stériles préalablement humidifié dans du bouillon nutritif, pour frotter les surfaces concernées (25cm²) (**Leberton et Simon, 1998**). Ils sont par la suite acheminés vers le laboratoire de microbiologie de l'Université de Bejaïa pour être incubés à 37°C pendant 24 heures.

Tableau III : Nombre, région et période de prélèvements des échantillons.

<i>Crèche</i>	<i>Région</i>	<i>Nombre de prélèvement</i>	<i>Période de prélèvement</i>
<i>Crèche A</i>	Kherrata	15	02/05/2023
<i>Crèche B</i>	Bejaïa ville	15	07/05/2023
<i>Crèche C</i>	Bejaïa ville	12	16/04/2023

Tableau IV : Sites de prélèvements des échantillons au sein des crèches

<i>Surfaces</i>	<i>Sites de prélèvements</i>
<i>Sanitaire</i>	Robinet, poigné de porte, lavabo, porte savon, chasse d'eau.
<i>Salle à manger</i>	Chaise, table, poigné de porte.
<i>Salle de lecture</i>	Table, chaise, poigné de porte, stylos.
<i>Salle de jeux</i>	Grands jouets : balançoire, toboggan, vélo, cheval. Petits jouets : jeux de construction, cubes d'éveil, blocs et pyramides.
<i>Personnels</i>	Mains du personnel

III.2.2. Enrichissement

Réaliser juste après le prélèvement en mettant délicatement chaque écouvillon dans son bouillon nutritif en tube, bien fermer puis acheminer au laboratoire et incuber à 37°C pendant 24 heures.

III.2.3. Isolement

Réalisé sur gélose Mac Conkey qui est un milieu sélectif des bactéries à Gram négatif selon les étapes suivantes :

- A partir des suspensions bactériennes enrichies et à l'aide d'une anse de platine une boîte Pétri de gélose Mac Conkey estensemencée par stries serrées pour chaque prélèvement suivis d'une incubation pendant 24 heures à 37°C.
- Après 24 heures d'incubation, il a été procédé un repiquage de colonies obtenu à partir de premier ensemencement sur le même milieu (les colonies repiquer sont sélectionnés selon l'aspect et la morphologie) dans le but d'avoir des souches purifiées et cela à l'aide de pipettes pasteur, suivis d'une incubation à 37°C pendant 24 heures.
- Après les 24 heures d'incubation les souches résultantes sont ensemencées dans des tubes à conservation et conserver à 4°C.

III.2.4. Identification

A partir des cultures fraîches et pures, les souches sont soumises au testes d'identification bactériennes :

a) Examen macroscopique

Le premier critère qui oriente vers l'identification des entérobactéries après l'isolement est celui de l'aspect macroscopique des colonies observer à l'œil nu basé sur l'observation de : la taille des colonies, la forme du relief (bombées, semi bombées, plates), la couleur, l'aspect, l'odeur, la transparence, l'allure des contours (réguliers, dentelés), virage de couleur des milieux de cultures sélectifs...

b) Examen microscopique : coloration de Gram

Après la réalisation de frottis à partir de culture fraîche et fixation à la chaleur une coloration de Gram est mise au point pour chaque souche selon les étapes suivantes :

- Coloration avec le Violet de Gentiane pour une minute suivis d'un rinçage à l'eau de l'excès de colorant.
- Mordantage au lugol pour 30 à 60 secondes puis rinçage.
- Décoloration à l'éthanol pour 30 seconds suivis de rinçage à l'eau.
- Contre coloration a la fuchsine pendant 1 minute suivis d'un rinçage et séchage avec papier absorbant

Après séchage, lire sous microscope optique à l'objectif x100 à l'aide de l'huile à immersion. On peut observer deux types de cellules les bactéries à Gram négatif sont de couleur rose et les bactéries à Gram positif sont colorées en violet.

c) Galerie biochimiques classique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée à la base de quelque caractère biochimique :

- Utilisation du glucose, du lactose et production de gaz et d'H₂S sur gélose TSI.
- Recherche d'uréase, production d'indole sur milieu liquide urée indole.
- Fermentation du mannitol et mobilité sur milieu mannitol-mobilité.
- Utilisation du citrate comme seul source de carbone sur gélose Citrate de Simmons

Tableau V : Tests biochimiques d'identification réalisée sur les entérobactéries isolée
(Denis et al., 2007)

Test	Principe du test	Lecture	Interprétation
Utilisation du glucose, Lactose, saccharose et production du gaz et de H ₂ S Sur gélose TSI	Ensemencement de la pente Par des stries et Piqueur centrale Puis Incubation à 37°C/24h	Virage de la pente au jaune	Lactose positif
		Virage du culot au jaune	Glucose positif
		Apparition de bulles Ou translocation de la gélose	Production du gaz
		Noircissement du milieu	Production d'H ₂ S
Utilisation du citrate comme seul source de carbone sur gélose Citrate de Simmons	Ensemencement par stries de la pente puis Incubation à 37°C pendant 1 à 7 jours	Croissance sur la pente et virage du milieu au bleu	Utilisation du citrate
Utilisation du Mannitol et détection de la Mobilité sur Gélose Mannitol Mobilité	Ensemencement par piqueur Centrale Incubation à 37°C/24h	Coloration jaune du Milieu	Fermentation du mannitol
		Diffusion homogène	Mobilité
Dégradation de l'urée et production d'indole Sur le milieu liquide Urée-indole	Ensemencement à partir D'une culture sur milieu Liquide Incubation à 37°C/24h	Couleur rouge	Présence d'une Uréase
		Anneau rouge en Surface après l'ajout du réactif de Kovacs	Production d'indole

III.2.5. La sensibilité aux antibiotiques

a) Antibiogramme standard

L'étude de la sensibilité des souches cultivées aux différents antibiotiques (tableau) a été déterminée par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosé Mueller Hinton (Courvalin et Soussy, 1996), selon le protocole suivant :

- Standardisation de l'inoculum : A partir d'une culture pure et fraîche, des colonies sont prélevées et inoculés dans 3ml d'eau physiologique stérile ensuite bien homogénéiser la suspension bactérienne au vortex.
- Ensemencement : Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum, l'essorer contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum. Le milieu gélosé Mueller Hinton en boîte Pétri par la suite est ensemencer sur toute la surfaces par des stries serrées, en tournant la boîte trois fois (60°) et finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dépôt des antibiotiques : à l'aide d'une pince préalablement flambée, les disques d'antibiotiques sont déposés à la surface de la gélose puis les boîte sont incubé les dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, couvercle en bas.
- Lecture : La lecture de l'antibiogramme se fait par la mesure des diamètres des zones d'inhibition et l'interprétation : Sensible (S), Intermédiaire (I), Résistante (R) est effectuée selon les critères définis par les recommandations de l'EUCAST 2019.

Tableau VI : Liste des antibiotiques testés et leurs concentrations

Familles	Antibiotique	Abréviatio n	Concentration (µg)	R S≥	S R<
β-lactamines	Imipénème	IPM	10	22	22
	Ertapénème	ETP	10	25	25
	Céfoxitine	FOX	30	19	19
Aminosides	Gentamycine	CN	120	17	17
	Tobramycine	TOB	10	16	16
	Amikacine	AK	30	18	18
Fluorquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	25	22
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30	20	15

b) Test de détection de BLSE : DD-test (ou test de synergie)

La production d'une bêta-lactamase à spectre étendu est détectée par le test de la synergie qui consiste à placer après ensemencement d'un milieu gélosé Mueller Hinton, des disques de céphalosporines de 3ème génération : céftazidime et céfotaxime (30 µg chacun) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque combiné d'amoxicilline et d'acide clavulanique (AMC) (30 µg). Après incubation pendant 24h à 37°C, l'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'AMC et les disques de céftazidime (CAZ) et céfotaxime (CTX), indique la production d'une BLSE (**Jarlier et al., 1988**)

Chapitre III

Résultats et discussion

IV.1. Résultats

IV.1.1. Population étudiée

Au cours de notre étude qui s'est déroulée durant la période de mois d'avril au mois de mai 2023, un total de 42 prélèvements ont été réalisés sur différentes surfaces au niveau des trois crèches A, B et C dans la wilaya de Bejaia.

Après l'enrichissement dans du bouillon nutritif, parmi la totalité des prélèvements 30 échantillons ont donné un milieu trouble ce qui indique que les bactéries ont poussé sur ce milieu et 16 seulement ont donné cultures sur le milieu gélosé Mac Conkey ce qui donne un taux d'isolement de 38.1%.

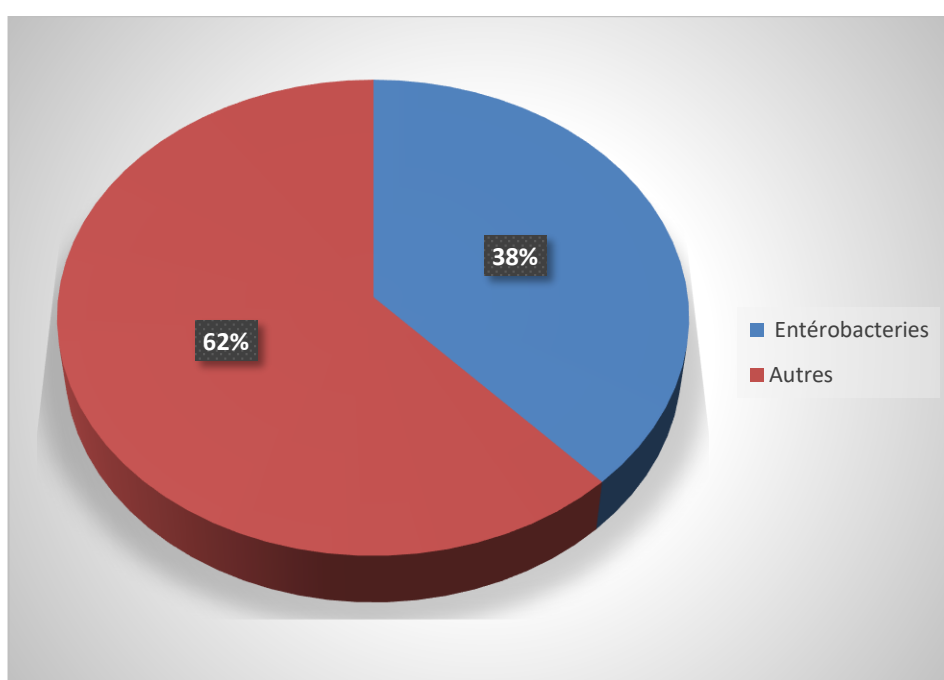


Figure 2: graphique représentant le taux d'isolement des entérobactéries.

IV.1.2. Identification des souches

IV.1.2.1. Aspect macroscopique

- La première orientation vers l'identification des entérobactéries est basée sur l'observation de l'aspect des colonies après repiquage sur gélose Mac Conkey.
- Les entérobactéries présentes sur ce milieu des colonies rose ou incolores de taille variable grandes à moyennes, muqueuses, bombés ou plates ...
- La fermentation du lactose est révélée en présence de rouge neutre par la formation des colonies roses ou rouge (**figure3 : A**) et les microorganismes lactose négatifs présentent des colonies incolores (**figure3 : B**).

– Un travail de sélection a été réalisé en se basant sur l'observation visuelle des colonies. 8 souches seulement ont été sélectionnées (AP1, AP2S2, BSM2S1, BSM2S2, BPJ1S1, BPJ1S2, BPJ2S1, BS2S1).

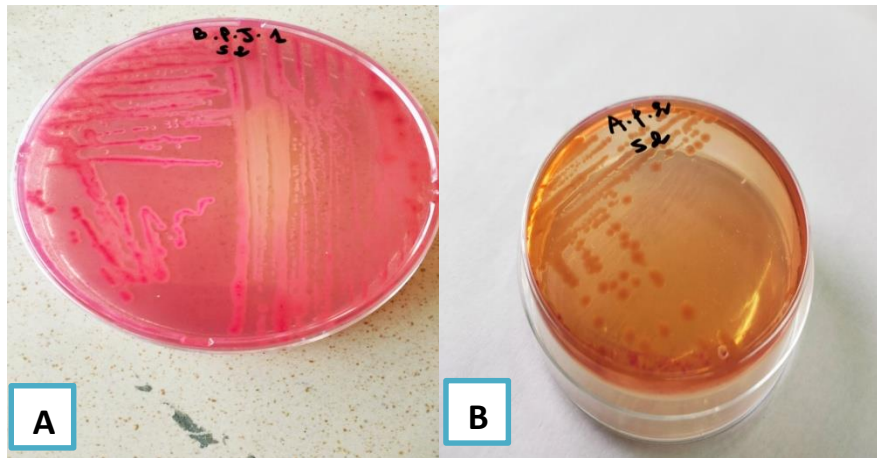


Figure 3: Aspect des colonies isolées sur gélose Mac Conkey

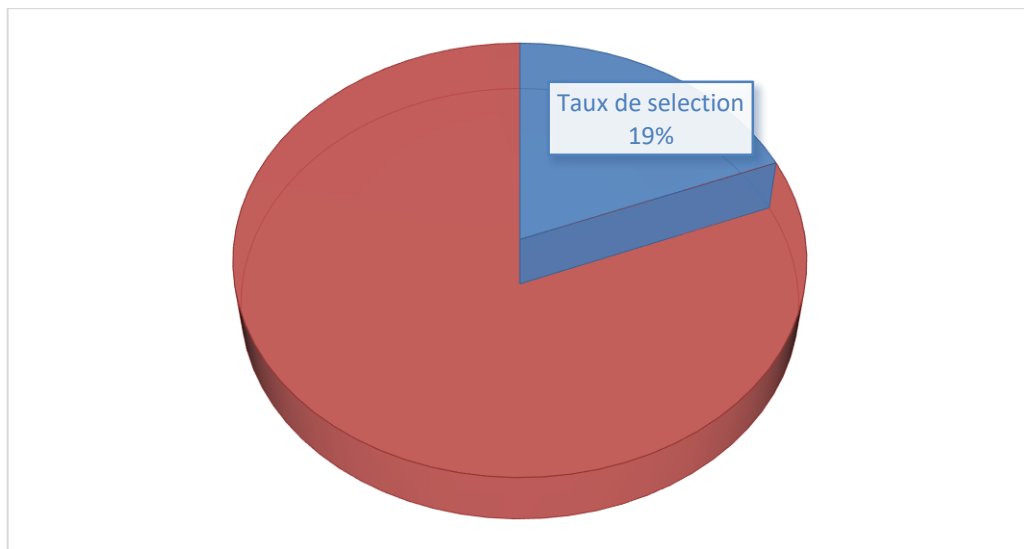


Figure 4: Graphique représentant des Taux de sélection des entérobactéries après repiquage.

IV.1.2.2. Aspect microscopique après coloration de gram

La coloration de Gram nous a permis d'observer la forme (Cocci, bacille, coccobacille), la couleur (rose et violet) et le regroupement (isolés, chaînette...) des bactéries (Figure 5).

L'observation microscopique a révélé la prédominance des bacilles à gram négatifs colorés en rose avec 6 souches (tableau VII).

Tableau VII : Résultat de l'observation microscopique après colorations de Gram.

<i>Souches</i>	<i>Forme</i>	<i>Couleur</i>	<i>Gram</i>
AP1	Bacille	Rose	Négatif
AP2S2	Bacille	Rose	Négatif
BSM2S1	Bacille	Rose	Négatif
BSM2S2	Bacille	Rose	Négatif
BPJ1S1	Bacille	Rose	Négatif
BPJ1S2	Cocci	Rose	Négatif
BPJ2S1	Bacille	Rose	Négatif
BS2S1	Cocci	Rose	Négatif

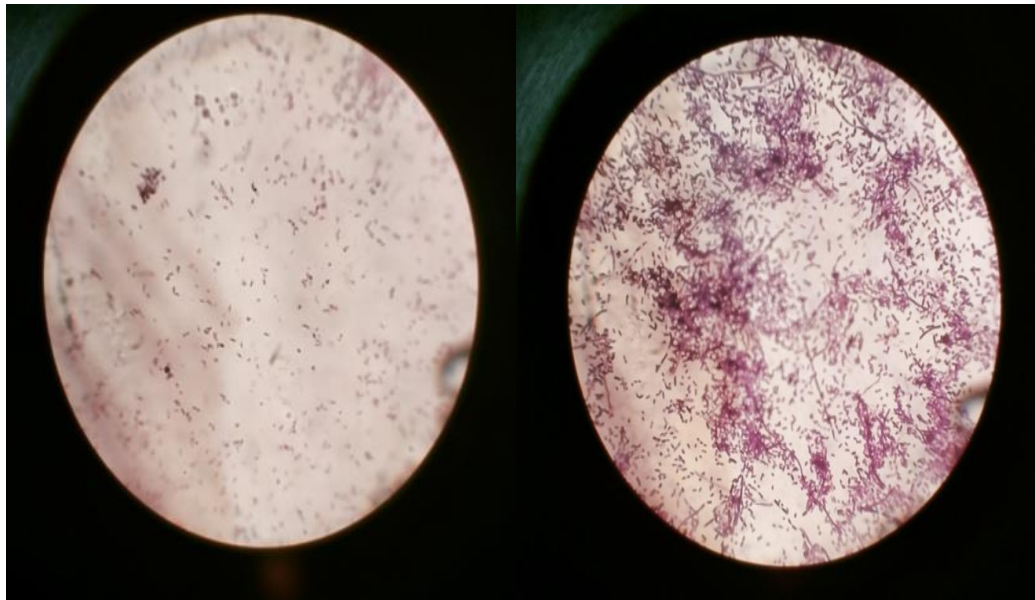


Figure 5: Observation microscopique après coloration de Gram des entérobactéries isolées.

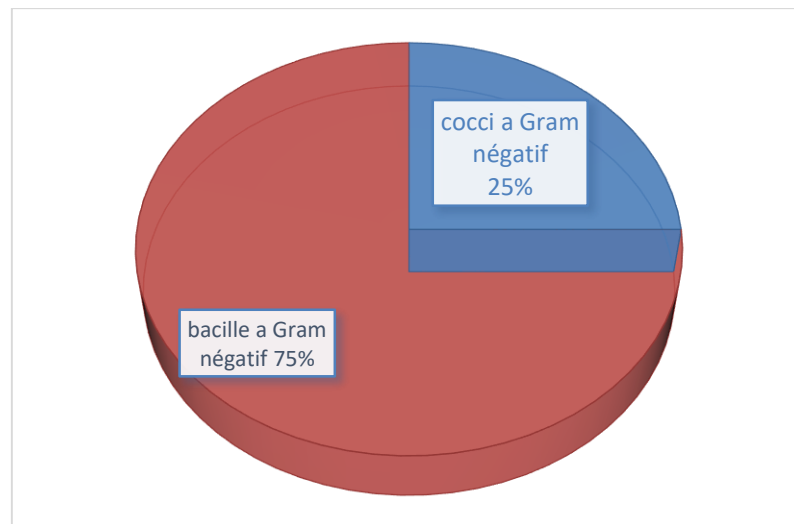


Figure 6: Représentation graphique des pourcentages des Cocci et bacilles à Gram négatif

IV.1.2.3. Résultats des tests biochimiques

Un ensemble de tests biochimiques (test TSI, urée indole, citrate de Simmons, mannitol mobilité) ont été effectués sur les six souches de bacilles à Gram négatif et les résultats sont interprétés dans le tableau VIII.

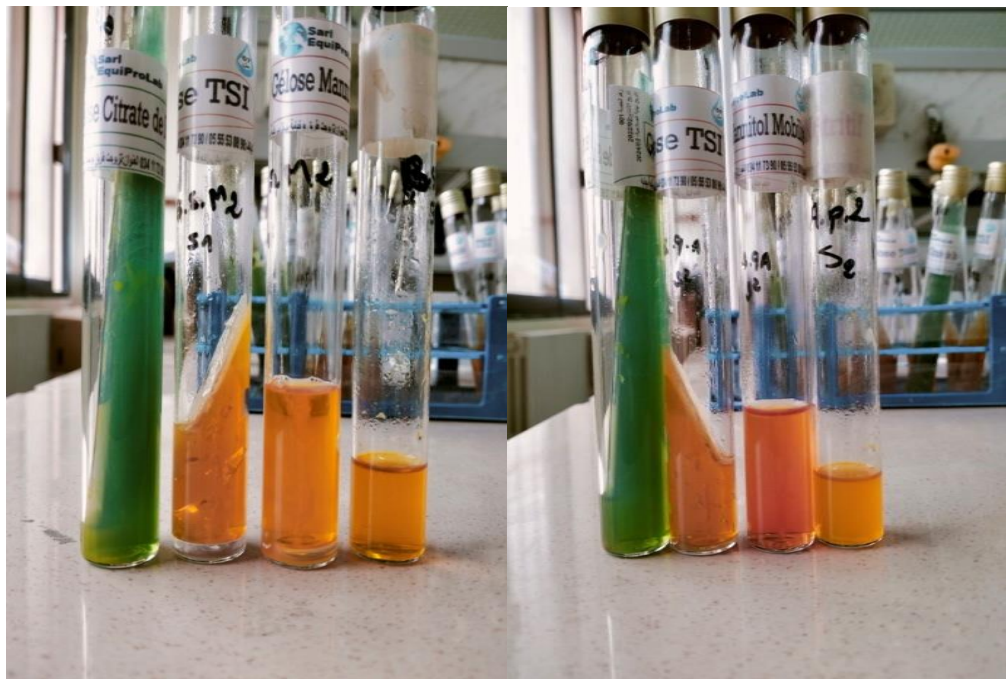


Figure 7: Les résultats de la galerie biochimique classique pour quelques souches d'entérobactéries isolées

Tableau VIII : Lecture des résultats des tests biochimiques des six souches d'entérobactéries étudiées.

Souche	Citrates de Simmons	TSI				Mannitol Mobilité		Urée indole	
		Glucose	Lactose	H ₂ S	Production de gaz	Mannitol	Mobilité	Urée	Indole
AP2S2	-	+	+	-	+	-	-	-	+
AP1	+	+	+	-	+	/	/	-	-
BSM2S2	-	+	+	-	+	+	+	-	-
BPJ1S1	-	+	+	-	-	/	/	-	-
BPJ2S1	-	-	+	-	-	/	/	-	-
BSM2S1	-	+	+	-	+	+	+	-	+

- : Négatif , + : Positif , / : non réaliser

Après la détermination de type bactérien, les tests biochimiques ont permis d'identifier le genre et l'espèce des différentes entérobactéries isolées :

AP2S2	<i>Morganella morganii</i>
AP1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
BSM2S2	<i>Citrobacter freundii</i>
BSM2S1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
BPJ1S1	<i>Proteus mirabilis</i>
BPJ2S1	/

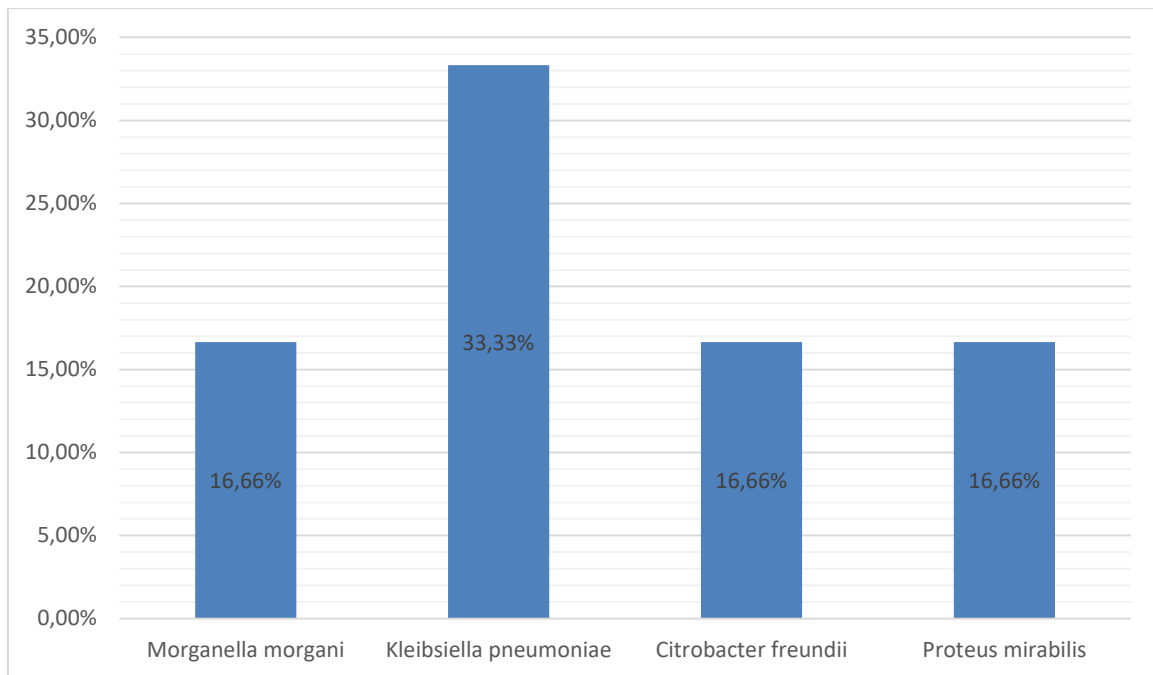


Figure 8: Représentation graphique des pourcentages des espèces d'entérobactéries identifier

IV.1.3. La sensibilité aux antibiotiques

A. Antibiogramme standard

Après 24 heures d'incubations les diamètres d'inhibitions des antibiotiques a la croissance bactérienne, ont été mesuré et interprété dans le tableau IX.

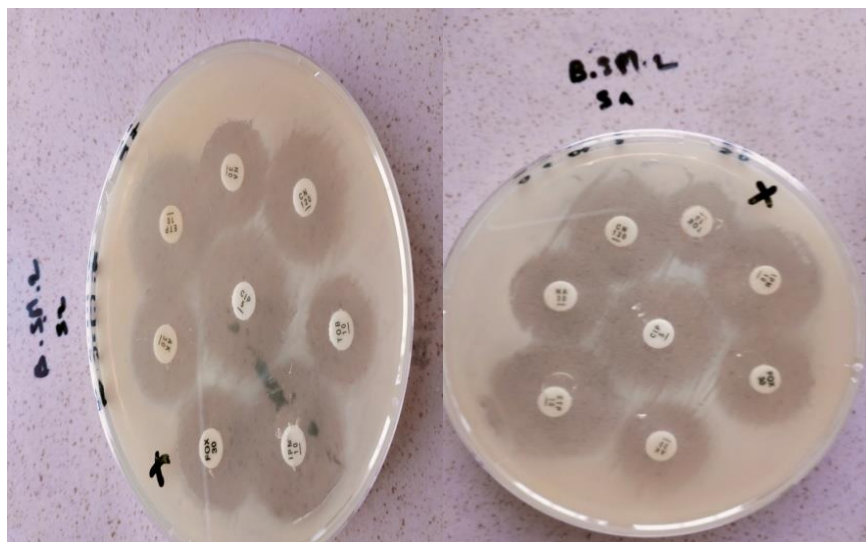


Figure 9: Antibiotogrammes standard de quelque souche d'entérobactéries

Tableau IX : Diamètres d'inhibitions des antibiotiques pour chaque souche

Souche	Diamètres d'inhibitions des antibiotiques (cm).							
	CIP	TOB	IPM	FOX	AK	ETP	NA	CN
AP1	3 S	2.2 S	3.1 S	1.6 R	2.5 S	3 S	1.7 I	2.8 S
AP2S2	3.2 S	1.8 S	2.4 S	1.5 R	2.1 S	3.1 S	2.3 S	2.5 S
BPJ1S1	2.1 R	1.8 S	2.1 I	1.8 R	2.2 S	2.3 R	2 S	2.2 S
BPJ2S1	2.2 I	1.9 S	2.2 S	2.1 S	2.3 S	3 S	2.4 S	2.5 S
BSM2S1	2.5 S	1.3 R	2.4 S	2.1 S	1.7 R	2.1 R	1.8 I	2.2 S
BSM2S2	2.6 S	1.7 S	2.6 S	2.1 S	2 S	2.3 R	1.9 I	2.2 S

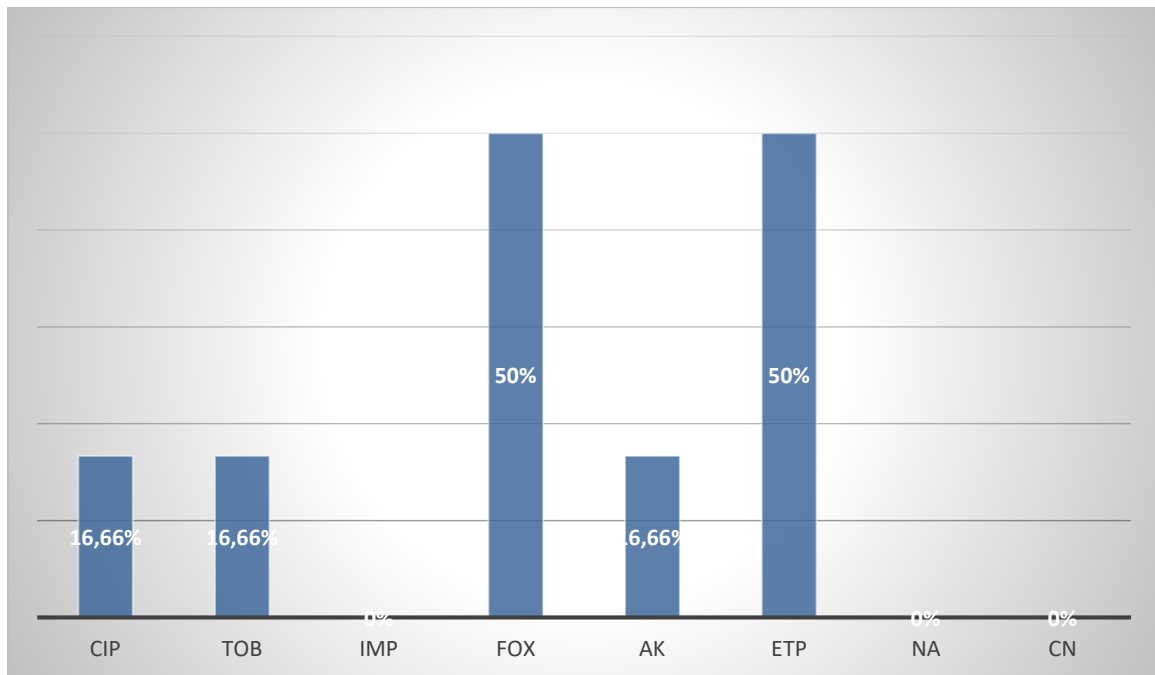


Figure 10: Représentation graphique des pourcentages de résistance des souches d'entérobactéries aux différents antibiotiques.

B. Teste de synergie : DD-Test

Les résultats des tests de confirmation de la production de BLSE par la méthode double disque (DD) sont présentés dans le tableau X.

Parmi les six souches d'entérobactéries, quatre souches ont montré un résultat probablement positif pour la production d'une BLSE avec un pourcentage de 66,66%.



Figure 11: Résultat positif de DD-Test.

Tableau X : Lecture des résultats de DD-Test.

SOUCHE	BPJ2S1	BPJ1S1	BSM2S1	BSM2S2	AP2S2	AP1
BLSE	+	+	+	+	-	-

IV.2. Discussions

Les entérobactéries forment une vaste famille de bactéries Gram-négatif, qui sont à l'origine de maladies de gravité très variable, elles constituent plus de 80% des germes isolés en laboratoire (*Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Morganella* et *Yersinia*).

Au cours de cette étude, une analyse a été effectuée sur 42 prélèvements provenant des surfaces de différentes crèches dans la wilaya de BEJAIA. Dans l'objectif est d'isoler, d'identifier et d'étudier les profils de résistances aux antibiotiques des entérobactéries isolées à partir de ces différentes surfaces.

Le profil bactériologique des isolats a permis de mettre en évidence six souches d'entérobactéries avec une prévalence de 14%. De ce fait, le manque de données sur des études locales, régionales et nationales concernant la prévalence des entérobactéries responsable des infections chez les enfants en collectivité rendent à cette étude toute son originalité.

Parmi les espèces identifiées : *Klebsiella pneumoniae* est l'espèce la plus retrouvée avec une prévalence de 33,33%, généralement cette espèce est impliquée dans les infections urinaires. Des résultats qui se rapprochent à ceux rapportés dans une étude similaire menée sur « La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech » avec une prévalence de 30% (**Moutachakir M et al., 2015**). *Proteus mirabilis* et *Citrobacter freundii* présentent toutes les deux une prévalence de 16,66%. Des résultats supérieurs à ceux retrouvés dans une étude identique à la nôtre à l'Université de Bouira en Algérie (**Bouaggar S et Fehetah A, 2022**), ce sont des germes responsables des infections urinaires, bactériémies, pneumonies, septicémies, les méningites ainsi les infections néonatales (**MacDonald T, 2003**). *Morganella morganii* à son tour aussi présente un taux d'identification de 16,66%, germe responsable des infections urinaires, infections extra intestinales, infections materno-fœtales (**Boussebart T, 2004**).

La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques est une étape essentielle, nos résultats montrent une résistance considérable à la majorité des antibiotiques testés. Un taux de résistance de 50% vis-à-vis l'Ertapénème et Céfoxitine, un taux de résistance de 16,66% pour chaque un des aminosides testée (Amikacine et Tobramycine) plus un taux de résistance similaire de 16,66% au Fluorquinolones (Ciprofloxacine). Depuis plus de 20 ans, la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération ne cesse de se

renforcer notamment par l'acquisition de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) (**Belmonte.O et al., 2010**). Parmi les souches identifiées, la fréquence des souches productrices de β -lactamases à spectre étendu dans notre étude était de 66.66%.

La présence des entérobactéries dans les échantillons prélevés à partir des surfaces des crèches peut s'expliquer par un manque dans les protocoles d'hygiène établis au sein des structures. Les surfaces jouent un rôle important dans la dissémination des germes (les entérobactéries), il s'avère que ces bactéries peuvent survivre sur les surfaces pendant des heures, voire des jours, augmentant ainsi le risque de contamination.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

Notre étude concernant l'exploitation des 42 échantillons collecté à partir des différentes crèches collectives dans la région de Bejaïa, a peut donner un aperçu sur la fréquence d'isolement (38,1%) et d'identification (14%) des entérobactéries présentent dans les échantillons, il ressort que *K. pneumoniae* étaient la souche majoritairement isolée. La surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des souches a montré un taux considérable de résistance par rapport à la majorité des antibiotiques. Les tests de synergie (DD-test) ont montrées une prédominance de souches productrice de β -lactamases à spectre élargi (BLSE).

L'émergence des bactéries résistantes aux différentes familles d'antibiotique est un phénomène mondial qui ne cesse d'inquiéter les scientifiques. Afin de prévenir la dissémination de ces bactéries dans les structures d'accueil de la petite enfance il est essentiel de mettre en place de nouvelles stratégies :

- Respecter les règles d'hygiène.
- La maîtrise de la prise des antibiotiques.
- Détecter les individus infectés les isoler pour s'opposer à la propagation des souches à l'intérieur et l'extérieur des structures.

En perspectives, notre travail reste préliminaire et mérite d'être élargie sur une population plus vaste et approfondie pour une meilleure étude statistique afin de confirmer l'identité des souches retrouvée et caractériser les mécanismes génétiques de cette résistance.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

1. Antoine G, Francesco G, Nafsica S. (2004). Le séjour en crèches des jeunes enfants : sécurité de l'attachement, tempérament et fréquence des maladies. Presses Universitaire de France.
2. Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. (1992). Bactériologie clinique. Ed Ellipses, paris, Paris, 511p.
3. Avril JL, Dabernat H., Denis F., Monteil H. (2000). Bactériologie Clinique, Ellipses, paris, 2ème édition : 171-177.

B

4. Belmonte O, Drouet D, Alba J, Moitin MP, Kuli B, Lugagne Delpon N, Mourlan C et Jaffar-Bandjee MC. (2010). Evolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques sur l'île de la réunion : émergence des bêta lactamases a spectre élargi. Pathologie biologie. 58 : 18-24.
5. Benmoussa M, Hamadi A. (2016). Profils de sensibilité des antibiotiques aux fluoroquinolones au CHU de RABAT. Thèse de doctorat en Pharmacie. Rabat. University Mohammed V.
6. Bennani M. (2014). Recherche d'Entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu isolées dans les selles. Projet de fin d'études. Licence Sciences et Techniques en Biologie et Santé. Fes, Maroc : Université Sidi Mohammed ben Abdellah, 31p.
7. Bergey DH, Boone DR, Castenholz RW, Garrity GM. (2001). Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume One : The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria : *Springer Science & Business Media*.
8. Bernard J, Alain R. (2002). Entérobactéries : systématiques et méthodes de diagnostic. Ed Lavoisier : 29-38.
9. Bouaggar S, Fechetah A. (2022). Isolement, identification et étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir des différentes surfaces des crèches. Mémoire Master. Université de BOUIRA.
10. Boussemart T, Piet-Duroux S, Manouana M, Azi M, Perez JM, Port-Lis M. *Morganella morganii* et infection maternofoetale [*Morganella morganii* and early-onset neonatal infection]. Arch Pediatr. 2004 Jan;11(1):37-9. French. doi: 10.1016/j.arcped.2003.10.004. PMID: 14700759.

Références bibliographiques

11. Bush K., Jacoby G. A. and Medeiros A. A. (1995). A functional classification scheme for β lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39 (6).

C

12. Carle S. (2010). Le parrainage des antimicrobiens. *Pharmactuel Vol. 42 Supplément* 2.
13. Cavallo JD, Fabre R, Jehl F et al. (2004). Bêtalactamines. EMC Maladies infectieuses ; 1 : 129-202.
14. CLSI. (2008). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 3rd Edn., Approved Standard, CLSI Document M31-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. Coleman K. (2006). Extending the life of β -lactam antibiotics: New β -lactamase inhibitors. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 3 (2).
16. Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. (2006). *Antibiogramme 2ème édition* Paris : Editions ESKA.
17. Cuzin L et Delpierre C. (2015). Epidémiologie des maladies infectieuses. EMC-Maladies infectieuses, 2(4) : 157-162.

D

18. Delarras C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Edition Lavoisier Paris.
19. Denis F, Ploy MC. (2007). *Bactériologie médicale : techniques usuelles*. Elsevier Masson SAS.Paris. P139.
20. Dusart J, Coyette J. (2010). *Microbiologie*. 2 -ème édition de Boeck, 1088p.
21. Duval J, Soussy CJ. (1990). *Antibiothérapie*. Masson, 4 -ème édition.

E

22. Essack SY. (2001). The development of β -lactam Antibiotics in Response to the evolution of β -lactamases. *Pharmaceutical Research*, 18 (10) : 1391-1399.

Références bibliographiques

F

23. Faucher, J.L. et Avril, J.L. (2002). Bactériologie générale et médicale : Edition Ellipses Marketing. Paris. 250-260.
24. Floret D et Collet JP. (1997). Risque infectieux pour les enfants en crèche collective. *Hygiène*.
25. Floret, D et Collet, JP. (1997). Risque infectieux pour les enfants en crèche collective. *Hygiènes*, V (3).

G

26. Gogny M. (2001). Classification des principes actifs. L'arsenal thérapeutique vétérinaire. Edition le point vétérinaire. 165-168
27. Goita L., 2003, Les méningites purulentes de l'enfant : fréquence, aspects clinique, étiologique, thérapeutique et évolutif. Thèse Méd Bamako N°77.56p.
28. Goro AA. (2021). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolé à Bamako de janvier 2020 a juin 2020 (doctorat dissection, USTTB).
29. GUIDE DES BONNES PRATIQUES D'HYGIÈNE RELATIF À LA CRÈCHE DU SECRÉTARIAT GÉNÉRAL DU CONSEIL DE L'UNION EUROPÉENNE. 19/03/2018 : 11.

H

30. Heinrichs, V., Frère, J. (2018). Comment je traite. L'otite moyenne aiguë chez l'enfant,73, 41,67-172p.
31. Houssin D, TREGOAT J et ROEKEGHEM F. (2009). Collectivités de jeunes enfants et maladies infectieuses, Assurance Maladie, 6,16p.
32. Humblet P. (2014). L'enfant à la crèche : un accueil équitable. *Santé conjugée*, n° 67 - mars 2014.

J

33. Jarlier V., Nicolas M. H., Fournier G. and Philippon A. (1988). Extended-broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae : hospital prevalence and susceptibility patterns. *Infectious Diseases*.
34. Joly B, Reynaud A. (2002). Entérobactéries : Systématique et Méthodes de Diagnostic. Editions DOC et Editions Médicales Inter Nationales. Paris :356.

Références bibliographiques

35. Jeblaoui.K. (2017). Mécanismes de transmission des infections. IFSI 1ere année septembre 2017.
36. JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE. (2019). Conventions et accords internationaux, Lois et Décrets, Arrêts et Décisions, Communications et Annonces. N° 58 - septembre 2019.

K

37. Khayar Y. (2011). Comportement des entérobactéries isolées des urines vis-à-vis de l'amoxicilline-acide clavulanique l'Imipenème et l'Ertapénème. Thèse de doctorat en Pharmacie University Mohammed V. Rabat.
38. Kumar A, Schweizer HP. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Active efflux and reduced uptake. *Adv Drug Delivery Rev* ; 57 .

L

39. Lagha ,N. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, Algérie, 84 p.
40. L'air intérieur en crèche et école dans Qualité de l'air intérieur. 2021 Imsep.
41. Lambert D. (2015). LA TRANSMISSION DES INFECTIONS DANS LES SERVICES DE GARDE À L'ENFANCE. Le guide d'intervention prévention et contrôle des infections dans les services de garde à l'enfance.
42. LART. (2017). L'antibiorésistance en Tunisie (www.infectiologie.org.tn).
43. Le Minor L, Veron N. (1989). Bactériologie Médicale Med. Science, Edition Flammarion Paris.
44. Lebreton-Doussaud V, Simon L. (1998). Assurance qualité des préparations stériles : évaluation des techniques de prélèvement microbiologiques sur des surfaces. *journal de pharmacie clinique*. 17 Suppl. 4 : S227-31.
45. Leclercq M. (2006). Enterobacter sakazakii. Agence Française de Sécurité Sanitaire des aliments AFSSA, 1-6.
46. Livermor DM. (1995). β -Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* ; 8(4): 557.
47. Lozniewski A, Rabaud C. (2010). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Infections associées aux soins. Nancy : CCLIN Sud-Est ; 4 :1.

M

48. MacDonald T, Frankel T, Dougan G, Goncaves NS et Simmons C. (2003). Host defences to *Citrobacter rodentium*. *International journal of medical microbiology*, 293(1) :87-93.
49. Mayer K, Opal, S and Medeiros A. (2000). Mechanisms of antibiotic resistance. In: Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone. 2: 236-253.
50. Medeiros AA. (1984). β -lactamases. *Bnt. Med. Buli.* 40 : 18-27.
51. Ministère des solidarités et de la santé. (2021). Qualité de l'air intérieur dans les crèches et les écoles. *2021 Airparif*.
52. Molina M, Castro E. (2011). Un acercamiento a la investigación de diseño a través de los experimentos de enseñanza. Enseñanza de las Ciencias. *Enseñanza de las Ciencias*, 29(1), 75–88.
53. Moutachakir M, Chinbo M, Elkhoudri N, Sora N. (2015). La résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries uropathogènes en milieu pédiatrique au CHU de Marrakech. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, Volume 28, Issue 1 :16-22, ISSN 0987-7983, <https://doi.org/10.1016/j.jpp.2014.10.007>.
54. Muylaert A, Mainil JG. (2012). Résistances aux fluoroquinolones : la situation actuelle 157, 15-26.

N

55. Nauciel et Vilide J.L.(2005) . Bactériologie médicale- connaissances et pratique. Edition Masson. Paris. 257p.
56. Noya F. (2005). Prévenir la transmission des infections dans un milieu hospitalier. Montréal.

O

57. Ould Baba Ali R, Taibi K. (2019). Etude de l'antibiorésistance des Entérobactéries productrices de Beta-lactamases à spectre étendu isolées à l'Hôpital de Boufarik. Mémoire de Master : Microbiologie. Blida, Algérie. Université de Blida 1,76p.

Références bibliographiques

P

58. Pecorini M, Ruffinen O. (2002). Garde et éducation de la petite enfance dans le canton de Genève : état des lieux de l'offre et de la demande de places d'accueil pour les 03 ans en 2001. Document de travail. *SRED*.
59. Perriere G. (1992). Application d'une présentation par objet des connaissances de modélisation de certains aspects de l'expression des gènes chez E. coli UCBL. Thèse de Doctorat : Lyon, France : Université de Lyon I. 14 : 77.
60. Pilet C, Bourdon J, Thomas B et al. (1979). Les Entérobactéries : Bactériologie médicale et vétérinaire : Systématique bactérienne. Edition Doins. Paris. 109-187.

R

61. Rémic. (2018). Référentiel en microbiologie médical. 6 -ème édition *SFMM*.
62. REYKERS M. (2022). Livre blanc : La qualité de l'air intérieur en milieu tertiaire. *NatéoSanté* : 6.
63. Rodérick. (2018).La gastro-entérite. (En ligne). (Consulter le 21/05/2020) <https://decontaminationquebec.com/les-differentes-face-de-la-gastro/>
64. RODIERE K et LESTERQUY M. (2020). L'HYGIÈNE EN MILIEU D'ACCUEIL. *Flash accueil 39 ONE 2020* :8-9.
65. Rodriguez-Villalobos H, Struelens MJ. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation* 15 (3) : 205-213.

S

66. Scistri S. (2016). Protocole d'hygiène en crèche. ALPHA DISTRIBUTION HYGIENE
67. Sens, D. (2009). Les liens parents-enfants-professionnels en crèche collective. *Le Journal des psychologues*, 2(265) :47-50. <https://doi.org/10.3917/jdp.265.0047>.
68. Soussy CJ. (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. In: Les infections urinaires. Monographies en urologie. Springer, Paris. https://doi.org/10.1007/978-2-287-48617-3_2

Références bibliographiques

T

- 69.** Talbet M, Willoquet et Geravis R. (2009). Le guide pharmaco clinique. *Wolters Kluwer*, France, 1043.

W

- 70.** Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2013 Aug;26(4):338-44. doi: 10.1097/QCO.0b013e3283630f04. PMID: 23743816.

Y

- 71.** Yala D, Merad AS, Mohamdi D, OuarKorich MN. (2001). CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION DES ANTIBIOTIQUES. *Médecine du Maghreb* n°91.

Annexes

Annexes 01

Matériels

a) Verreries et appareillage :

- Boite pétrie
- Ecouillons stérile
- Tubes a hémolyse
- Tubes en verre
- Pipette pasteur
- Ance de platine
- Lames
- Etuve
- Erlin de Mayer
- Bec bunsen
- Vortex
- Microscope optique
- Plaque agitatrice chauffante
- Bain marie
- Pince
- Flacons
- Becher
- Balance
- PH mètre

b) Milieux de cultures :

- Bouillon nutritif
- Gélose Mac Conkey
- Gélose Muller-Hinton

c) Teste biochimique :

- Milieu TSI
- Milieu urée indole
- Milieu citrate de Simmons
- Milieu Mannitol Mobilité

d) Les réactifs :

- Réactif Kovacs
- Violet de gentiane
- Lugol
- Alcool
- Fuschine
- Huile a immersion

Eau distillée

Annex 02

Composition des milieux de culture

a) Milieu Mac Conkey :

- Peptone 20g/l
- Lactose 10 g/l
- Sels biliaires 5g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Rouge neutre 0.075g/l
- Agar agar 12g/l
- PH 7.4 ± 0.2 (37°C)

b) Milieu Mueller Hinton :

- Infusion de viande de bœuf 2g/l
- Hydrolysate de caséine 17.5 g/l
- Amidon 1.5 g/l
- Agar agar 17g/l
- PH 7.3 ± 0.2 (25°C)

c) Bouillon urée-Indole :

- Tryptophane 3g
- Phosphate bi potassique 1g
- Chlorure de sodium 5g
- Urée 20g

d) Gélose TSI :

- Peptone 15g/l
- Extrait de viande 3g/l

- Peptone peptique de viande 5g/l
- Glucose 1g/l
- Lactose 10g/l
- Saccharose 10g/l
- Rouge de phénol 0.024g/l

e) Citrate de Simmons :

- Citrate de sodium 1g/l
- Sulfate de magnésium 0,2g/l
- Phosphate dipotassique 1g/l
- Agar 15g/l
- Chlorure de sodium 5g/l
- Phosphate monoammonique 1g/l
- Bleu de bromothymol 0,08 g/l
- Ph : $6,8 \pm 0,2$ (25°C)

f) Bouillon nutritive :

- Extrait de bœuf 1 g/l
- Extrait de levure 2g/l
- Peptone 10 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- Ph : $6,8 \pm 0,2$ (25°C)

g) Milieu Mannitol Mobilité :

- Hydrolysate tryptique de caséine 10g/l
- Mannitol 7,5 g/l
- Rouge de phénol 0,04 g/l

Annexes

- Nitrate de potassium 1g/l
- Agar 3,5 g/l
- Ph= 7,6

Isolement, identification et étude de la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir des différentes surfaces des crèches de la région de Bejaia

Résumé

L'objectif de cette étude était l'isolement l'identification et l'étude de la résistance vis-à-vis différentes familles d'antibiotique des entérobactéries présentes dans les prélèvements récolter à partir des surfaces de différentes crèches dans la wilaya de BEJAIA. Au total de 42 prélèvements 16 ont été isolées sur le milieu gélosé Mac Conkey avec un taux d'isolement de 38.1% et 8 souches seulement ont été sélectionnées (19%) dans 6 qui ont été identifié avec un taux d'identification de 14%. *Klebsiella pneumoniae* étaient la souche majoritairement isolée (33,33%), suivi de *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* et *Proteus mirabilis* (16,66%). La sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques a montré un taux de résistance de 50% vis-à-vis chaque un des β -lactamines : Ertapénème et Céfoxitine, un taux de résistance de 16,66% pour chaque un des aminosides : Amikacine et Tobramycine, plus un taux de résistance similaire de 16,66% au Fluoroquinolone : Ciprofloxacine. Parmi les souches identifiées 66.66% étaient productrice de BLSE.

Mots clés : Crèches, Entérobactéries, Résistance aux antibiotiques, BLSE.

Abstract

The aim of this study was to isolate, identify and study the resistance to different antibiotic families of enterobacteria present in samples collected from the surfaces of various nursery centers in the wilaya of BEJAIA. From a total of 42 samples, 16 were isolated on Mac Conkey agar medium, with an isolation rate of 38.1%, and only 8 strains were selected (19%) from 6 that were identified, with an identification rate of 14%. *Klebsiella pneumoniae* was the most commonly isolated strain (33.33%), followed by *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* and *Proteus mirabilis* (16.66%). Enterobacteriaceae sensitivity to antibiotics showed a resistance rate of 50% to each of the β -lactams: Ertapenem and Cefoxitin, a resistance rate of 16.66% to each of the aminoglycosides: Amikacin and Tobramycin, plus a similar resistance rate of 16.66% to the Fluorquinolones: Ciprofloxacin. Of the strains identified, 66.66% were ESBL producers.

Keywords: Nursery, Enterobacteria, Antibiotics resistance, ESBL.