



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

**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**  
**Université A. Mira de Bejaia**

**Département de Microbiologie**

## **Mémoire de fin de cycle**

Dans le cadre d'obtention du diplôme Master  
En Microbiologie Moléculaire et Médicale

### **Thème**

Etude du portage fécal des entérobactéries résistantes aux céphalosporines  
de 3<sup>ème</sup> génération chez des enfants âgés de moins de 5 ans admis aux  
niveaux des services de pédiatrie et d'urgence de l'hôpital d'AMIZOUR

**Membres du jury :**

**Président :** M<sup>me</sup> Belhamiche

**Promoteur :** M<sup>me</sup> GHAROUT A. (MAA)

**Co-promoteur:** M<sup>r</sup> TOUATI A. (Pr)

**Examineur 1 :** M<sup>r</sup> Belhadi

**Examineur 2 :** M<sup>r</sup> TOUATI A

**Invité :** M<sup>r</sup> ABDDELI M.

*Réalisé par :*

M<sup>elle</sup> AISSAT Assia  
M<sup>elle</sup> TOUGOUDI Chahina

2013/2014

## ***Remerciements***

La réalisation de ce mémoire fut une occasion merveilleuse de rencontrer et d'échanger avec de nombreuses personnes. On reconnaît que chacune a, des degrés divers, mais avec une égale bienveillance, apporté une contribution positive à sa finalisation. Nos dettes de reconnaissance sont, à ce point de vue, énormes à leur égard

Nous remercions notre promotrice Mme GHAROUT Alima qui nous a donné tout son amour et sa patience. Elle nous a orienté, encouragé et aidé pour mener ce travail en toute confiance, ce travail qui semble être une immense fierté pour nous tous.

Nous remercions également notre cher enseignant Pr TOUATI Abdelaziz, Professeur à l'université de Bejaia, nous vous exprimons tout notre respect et nous avons l'honneur de vous dire un simple merci d'avoir consacré un moment précieux de votre temps juste pour assister à notre soutenance.

Merci aux membres du jury.

Nous exprimons nos remerciements en s'adressant à notre invité Mr ABDELLI Mohammed chef de service de laboratoire d'analyse médical d'EPH d'AMIZOUR, pour ses conseils et sa gentillesse tout au long de ce mémoire.

Nous tenons à remercier l'équipe de pédiatrie, des urgences et d'analyse médicale particulièrement Mr NAIT HADDAD Kamel.

Nous remercions exceptionnellement BARIHK Makhloof (ammi Makhloof) qui nous a considérés comme ses propres filles si ce n'est pas plus. C'est un homme digne de ce nom qui nous a aidé moralement. Un grand merci pour vous monsieur.

Sans oublier TARAFT NACERA et ARGHIB FADILA et tous ceux et celles qui nous ont aidé dans la réalisation de ce mémoire. Merci à vous tous.

# Dédicace

Tout d'abord je voudrais ouvrir mes dédicaces et ma séance de remerciements par le nom du dieu. En premier lieu j'offre ce travail et cette réussite dont je suis incroyablement et énormément fière à la seule personne qui m'a permis de voir cette fabuleuse journée malgré son absence ; maman Allah yerhamha cette femme digne de ce nom qui a donné naissance à 07 êtres ; Nadia ma seconde mère, ma source de confiance, ratiba celle que le sourire ne quitte pas son petit visage, Samia celle qui a été à mes côtés dans tous les obstacles de vie ; celle qui a fait de sa maison mon chez moi, mounira celle qui ne cesse ne serait-ce qu'une journée de prendre son téléphone juste pour me passer un petit coucou ou un petit bonjour pour me consoler, Souad une source de courage, de solitude et de douceur. Comme les anciens ont dit : on laisse le meilleur pour la fin, même si je n'ai pas les mots, même si je suis émue, et même si je ne sais pas comment te rendre un seul de tes services, mon unique frère Mohamed je voudrais juste te remercier pour avoir pris la place de mon père, encore 1000 merci pour toi Mohamed ma source d'amour et d'existence... en second lieu, viennent mes beaux frères : arezki, belkasem, saleh, Azzedine et boualem ceux qui m'ont soutenu en toutes circonstances, triste ou heureuse ils sont toujours là pour essuyer mes larmes ou pour célébrer une réussite... ensuite viennent mes nièces qui occupent un espace vaste dans mon cœur merci à vous : sissa, sarah, ines et la petite warda. Bien sûr sans oublier mes beaux et chers neveux : Sofiane avec qui j'ai passé la moitié de mon enfance, dany, seif el ddin, zouhir, samir, faycel, massi et le nouveau-né wali. En dernier lieu, je remercie mes amis du plus proche au plus loin, assia je voudrais que tu saches que j'ai l'honneur de t'avoir comme sœur et copine au même temps, franchement tu es une boîte remplie de mes secrets, de mes peines et de mes joies ; rima, akila, kenza des visages débordés d'innocence qui seront gravés dans ma mémoire à jamais ; walida qui porte le parfum de la terre de mes grand-parents, hassiba, Yasmina, saaida, hakima taklit, assia, linda, je vous dois toute ma vie .pour la promotion de MMM2 exceptionnellement ibtisem, basma et pour mon frère ilyes Hamid DBK et Kamel. En conclusion, si je regarde la vie du bon côté et à travers un angle positif je crois qu'elle est parfaite et complète. Merci encore et encore ne suffit guère pour vous rendre un peu de tout ce que vous m'avez clôturé.



chahina

# Dédicace

*J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail  
A mes très **chers parents** que j'ai tant aimés avec beaucoup d'affection et je  
suis très fière de les avoir.*

*A mes très chers frères « ADEL, DAOUD et SALAH »  
A ma seule chère sœur « AICHA »*

*A ma grand-mère «nanna MEGHDOUDA »*

*A ma petit cousin « MEHDI »et sa maman « Taous »*

*A toute ma grande famille paternelle et maternelle, en particulier, mes  
adorables cousins :monira, Sarah et linda  
A mes adorables amis « , Katia, Alia, Nassima, Nassima » et mes copines de  
chambre « Hassiba, Imane et Malika »*

*A toutes mes collègues de travail (de stage) à l'hopital d'AMIZOUR*

*A toute ma promotion de « microbiologie moléculaire et médicale »*



**ASSIA**

## Sommaire

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

Introduction .....	1
--------------------	---

## Matériels et méthodes

I.1. Recueil de données .....	5
-------------------------------	---

I.2. Patients ciblés.....	5
---------------------------	---

I.3. Prélèvements .....	5
-------------------------	---

I.3.1. Milieux de cultures et réactifs utilisés .....	5
---	---

I.4. Isolement.....	5
---------------------	---

I.5. Purification.....	6
------------------------	---

I.6. Identification .....	6
---------------------------	---

I.6.1. Galerie biochimiques.....	6
----------------------------------	---

I.6.2. API20 E système.....	8
-----------------------------	---

II. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	8
--	---

II.1. Antibiogramme standard.....	8
-----------------------------------	---

II.2. Recherche de la production de $\beta$ -lactamase à spectre étendu (test de synergie).....	9
--	---

II.3. Détermination des CMI en milieu solide.....	9
---	---

III.4. Traitement statistiques des données.....	10
---	----

## Résultats et discussions

I. Caractéristique de la population.....	11
--	----

II. Souches bactériennes isolés.....	13
--------------------------------------	----

# Sommaire

---

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques .....	13
III.1.Résistance des souches à Gram négatifs isolés aux $\beta$ -lactamines.....	13
III.1.1. Recherche de BLSE.....	14
III.1.2.Détermination des CMI.....	15
III.1.3.Déduction des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines.....	15
III .2.Résistance associées aux d'autres familles .....	16
IV. Portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE(EBLSE).....	17
IV.1 .Portage fécal d'EBLSE identifiées.....	17
IV .2.Portage fécal d'EBLSE selon les services.....	18
IV.3. Portage fécal d'EBLSE selon le sexe.....	18
IV .4. Portage fécal d'EBLSE selon l'âge.....	19
IV.5. Portage fécal d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure.....	19
IV .6. Portage fécal d'EBLSE selon l'accouchement.....	20
IV.7. Portage fécal d'EBLSE selon l'allaitement.....	21
IV.8. Portage fécal d'EBLSE selon le motif d'admission.....	21
V. Discussion générale.....	22
Conclusion .....	24
Références bibliographiques	
Annexes	

# Liste des abréviations

---

**BLSE:** Béta-lactamase à spectre étendu.

**BMR:** Bactéries multi résistantes.

**C1G :** Céphalosporine de première génération.

**C2G :** Céphalosporine de deuxième génération.

**C3G :** Céphalosporine de deuxième génération.

**CA-SFM :** Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CAZ :** Ceftazidime.

**CMI :** Concentration minimale inhibitrice

**CTX:** Céfotaxime.

**CTX-M:** Cefotaximase, first isolated at Munich

**DD-test:** Double Disque test.

**FEP:** Céfépime.

**GN :** Gentamycine.

**IMP :** Imipénème.

**K.GR47 :** *Klebsiella* groupe 47

**NA :** Acide nalidixique

**NR :** Nitrate réductase.

**OXA:** Oxacillinase

**PER :** *Pseudomonas* extended resistant

**PLP:** Protéine de liaison aux pénicillines

**RM:** Rouge de méthyle

**VP :** Voges-Proskauer

**LISTES DES FIGURES**

<b>N°</b>	<b>TITRE</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Mécanisme d'hydrolyse d'une $\beta$ -lactamine par une $\beta$ -lactamases	<b>3</b>
<b>02</b>	Une galerie API20E	<b>8</b>
<b>3</b>	Répartition de la population étudiée selon le service	<b>11</b>
<b>4</b>	Répartition de la population étudiée selon l'âge au niveau de service pédiatrie et urgence	<b>12</b>
<b>5</b>	Répartition des patients selon le sexe	<b>12</b>
<b>6</b>	Répartition des souches au niveau de service urgence	<b>13</b>
<b>7</b>	Répartition des souches au niveau de service pédiatrie	<b>13</b>
<b>8</b>	Résistance des souches isolées aux $\beta$ -lactamines	<b>14</b>
<b>9</b>	Exemple de résultat du DD-test	<b>15</b>
<b>10</b>	Les phénotypes de résistance probables pour les souches résistantes aux C3G	<b>16</b>
<b>11</b>	Taux de résistance aux autres familles d'antibiotiques des souches résistantes aux C3G	<b>17</b>
<b>12</b>	Répartition des souches de BLSE par espèce	<b>18</b>
<b>13</b>	Répartition des souches de BLSE selon le service	<b>18</b>

14	Répartition des souches de BLSE selon le sexe	19
15	Répartition des souches de BLSE selon l'âge	19
16	Répartition des souches de BLSE selon l'antibiothérapie antérieure	20
17	Répartition des souches de BLSE selon le mode d'accouchement	20
18	Répartition des souches de BLSE selon l'allaitement	21
19	Répartition des souches de BLSE selon le motif d'admission	21

**Liste des tableaux**

N°	TITRE	Page
I	Critères de distinction des phénotypes de résistance probables	

La flore intestinale est l'ancienne dénomination du microbiote intestinal. Elle représente l'ensemble des bactéries peuplant notre tractus digestif. Sa subsistance est assurée par nos résidus alimentaires, nos sécrétions ainsi que par la desquamation de nos tissus. En retour, le microbiote participe activement à notre bonne santé (**Corthier, 2007**). La composition de la flore varie tout au long de tube digestif avec un gradient croissant dans le sens oral-anal, mais aussi transversalement entre la lumière et la muqueuse intestinale (**Signalet, 2004**). La flore intestinale est constituée par une flore autochtone résidente et une flore de transit ou allochtone (**Rambaud et al., 2004**).

Le nouveau-né, stérile *in utero*, se trouve à la naissance brutalement plongé dans un univers bactérien riche et se colonise rapidement avec une flore simple à partir des flores de sa mère et de l'environnement proche (**Tannock et al., 1990**). En effet, des études indiquent qu'en général, les nouveau-nés sont premièrement colonisés par des entérobactéries (*Escherichia coli*), des staphylocoques, des entérocoques (*Enterococcus faecalis*), des streptocoques et des lactobacilles qui semblent créer un environnement réduit favorable à l'établissement deux à trois jours après la naissance des bactéries appartenant à des genres comme *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Clostridium* ainsi que les lactobacilles supportant mal l'oxygène (**Favier, 2002**). Les étapes de l'installation de la flore intestinale et l'origine des germes rencontrés chez les nouveau-nés sont résumées dans le **tableau I (Annexe I)**

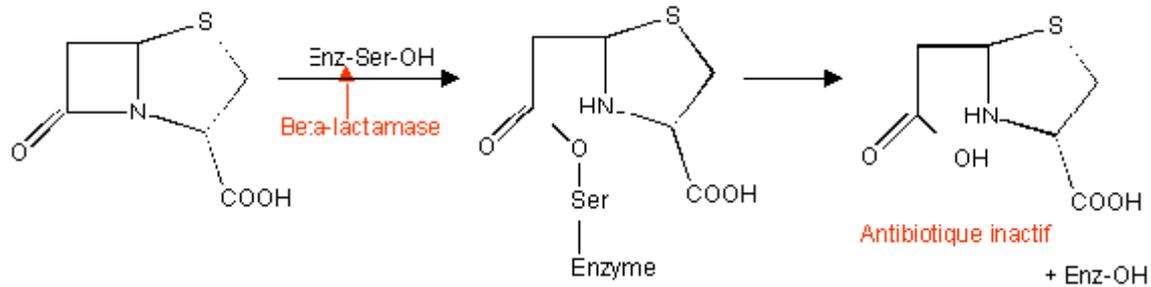
La colonisation du tube digestif chez un nouveau-né est relativement stéréotypée durant les premiers jours. Elle dépend en partie de la composition de la flore vaginale et fécale maternelle où prédominent des germes anaérobies facultatifs, *Escherichia coli* et Entérocoques. Pendant les premières 48 h, cette colonisation est indépendante du type d'alimentation. Elle est retardée chez les enfants nés par césarienne. Dès le 3ème jour de vie, apparaissent des Bifidobactéries et des Lactobacilles, parallèlement à l'apparition dans une moindre mesure de Bactéroïdes et de Clostridia. L'implantation de cette flore est directement dépendante du type d'alimentation reçue, des conditions environnementales et de la prescription éventuelle d'antibiotiques (**Langhendries et al., 1989**). La flore intestinale des enfants allaités est presque exclusivement composée de Bifidobactéries. Cette flore reste relativement constante tant que l'enfant est allaité. Par contre, dès que l'alimentation commence à être diversifiée, la différence entre la flore des enfants nourris au sein et celle des enfants nourris artificiellement s'estompe. Cette modification de flore est caractérisée par une augmentation de la concentration en *Escherichia coli*, *Enterococci* et Clostridia. Entre l'âge de 1 an et 2 ans, l'enfant acquiert une flore intestinale du même type que celle de l'adulte (**Campeotto et al., 2007**).

La découverte des antibiotiques au début du XXe siècle a constitué une véritable révolution pour le traitement des maladies infectieuses d'origine bactérienne. Depuis leur première utilisation en 1942, les  $\beta$ -lactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus largement développée et la plus diversifiée dans le monde. Cette utilisation est due à leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité et le faible coût de certaines Molécules (**Gaudy, 2008**).

Les  $\beta$ -lactamines constituent une famille majeure d'antibiotiques très largement utilisés en clinique. Ces molécules agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant les pénicillines (PLP), enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), il existe 3 types de mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par les  $\beta$ -lactamases.

Les premières  $\beta$ -lactamases (pénicillinases à spectre étroit) plasmidiques (TEM-1/2, SHV-1) ont été initialement décrites dans les années 60 chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*). Devant l'émergence de ces enzymes, de nouvelles  $\beta$ -lactamines stables (notamment céphalosporines à spectre élargi) ont été développées dans les années 70-80. Cependant, leur utilisation intensive en clinique s'est suivie de l'apparition précoce de résistance. Ainsi, la première  $\beta$ -lactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi (SHV-2, mutant ponctuel de SHV-1) a été décrite en 1985 dans une souche de *K. pneumoniae* en Allemagne. Du fait de leur élargissement de spectre d'activité, ces enzymes ont été appelées « $\beta$ -lactamases à spectre étendu» (BLSE), (**Bradford, 2001**) et à ce jour de nombreuses BLSE ont été décrites à travers le monde représentant un problème majeur de santé publique.

Les  $\beta$ -lactamases sont des hydrolases capables d'ouvrir le cycle  $\beta$ -lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable. Cette hydrolyse provoque la perte d'un groupement carboxyle et entraîne l'inactivation de l'antibiotique (**Figure 1**). C'est le principal mécanisme de résistance des entérobactéries. Ces enzymes peuvent être chromosomiques ou plasmidiques et produites d'une manière inductible ou constitutive. Elles sont sécrétées dans l'espace périplasmique chez les bactéries à Gram négatif ou dans le milieu de culture chez les bactéries à Gram positif (**Essack, 2001**).



**Figure 1** : mécanisme d'hydrolyse d'une  $\beta$ -lactamine par une  $\beta$ -lactamases (Ruppé, 2010)

### ✓ Classification d'Amblar

Elle a été établie selon la séquence protéique primaire, notamment au niveau du site actif. Elle définit quatre classes d'enzymes désignées A, B, C et D. Les protéines de classe A, C et D sont des enzymes à sérine et les enzymes de classe B correspondent aux métallo-enzymes à zinc

### ✓ Classification Bush et Jacoby

La classification fonctionnelle mise à jour dans l'article de Bush et Jacoby, est basée sur la proposition de Bush *et al.* en 1995. Cette classification inclut le groupe 1 (classe C) des céphalosporinases, le groupe 2 (classe A et D) des  $\beta$ -lactamases à large spectre, des BLSE et des carbapénèmases à sérine et le groupe 3 (classe B) des métallo- $\beta$ -lactamases. Plusieurs nouveaux sous-groupes de chacun des grands groupes sont décrits en fonction du substrat préférentiel de l'enzyme. **Tableau II (Annexe I)**

La colonisation dans le compartiment intestinal par des souches productrices de BLSE a été associée à un risque élevé de développer une infection extra-intestinale difficile à traiter due aux souches productrices de BLSE (Reddy *et al.*, 2007). En pédiatrie, ces souches sont principalement responsables de cystites et de pyélonéphrites (Birgy *et al.*, 2012), où elles peuvent mettre en échec les traitements de première intention. De rares cas d'infections materno-fœtales, de méningites néonatales impliquant ces souches ont été publiés (Moissenet *et al.*, 2010). La prévalence du portage de BLSE chez les enfants varie en fonction des études et des zones géographiques. Elle varie de 7,2% en Turquie (Kiremitçi *et al.*, 2011) à 31% au Niger (Woerther *et al.*, 2011). Les entérobactéries productrices de BLSE sont reconnues comme agents pathogènes nosocomiaux importants chez les enfants, et sont souvent associées à des épidémies (Moissenet *et al.*, 2010). Le dépistage du portage intestinal est crucial pour prédire le risque d'infection aux EBLSE, sachant que le côlon sert de réservoir pour les *E. coli* pathogènes Extra-intestinales (Emori *et al.*, 1993). *E. coli* productrice de BLSE a déjà été

décrite comme acquise dans la communauté chez les patients adultes (**Ho et al., 2007**). Puisque le portage digestif est un facteur clé dans l'épidémiologie de l'infection à EBLSE (**Valverde et al., 2008**), le dépistage de patients en milieu hospitalier se révèle Intéressant afin de limiter le risque d'infection par ces germes multi résistants et limiter leur Diffusion dans le milieu communautaire et hospitalier.

Dans ce contexte, l'évaluation pour l'homme du risque associé à des souches commensales résistantes dans le tractus digestif doit être envisagée, notamment pour leur capacité à diffuser leur gène de résistance aux bactéries pathogènes. Lors d'un traitement antibiotique, la pression de sélection favorise la colonisation et la multiplication du germe résistant dans le tractus digestif augmentant ainsi la probabilité de transfert de gènes de résistance et le risque d'échec thérapeutique. La surveillance de ces souches, à l'admission est un moyen fiable pour connaître l'ampleur du problème et instaurer des stratégies d'intervention et de lutte adaptées à nos hôpitaux.

Dans notre étude nous nous sommes intéressées au portage fécal des Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération chez enfants à leur admission à l'hôpital (EPH D'AMIZOUR).

### **I.1. Recueil de données**

Notre étude s'est déroulée durant la période du 25 Février 2014 au 08 MAI 2014 à le sein de l'EPH d' AMIZOUR. Elle a pour objectif l'étude du portage digestif de bactéries à Gram négatif résistantes aux céphalosporines de troisième génération. Chez des patients moins de 5ans, (les nouveau-nés et nourrissons) admission au service pédiatrie et urgence .Pour chaque patient a un questionnaire (**Annexe II**) est rempli afin de recueillir certaines informations susceptibles d'être utiles pour la détermination des facteurs de risque

### **I.2. Patients ciblés**

Notre étude a été portée sur les patients admis à l'hôpital d'AMIZOUR répartis au niveau des services suivants : Pédiatrie, et urgence

### **I.3. Prélèvements**

Chaque patient a bénéficié d'un prélèvement rectal après son admission au service sachant que le prélèvement est réalisé dans les 24 heures au plus tard à l'aide d'un écouvillon stérile, en veillant à ce que la tête de l'écouvillon Contienne un peu de selles. Les prélèvements sont ensuite acheminés au laboratoire d'hôpital en ajoute 1000µl d'eau physiologique au prélèvement puis en vortex pour êtreensemencés dans deux bouillons nutritif préalablement le premier additionne au antibiotique (le céfotaxime (CTX) à raison de 4 µg/ml dans le but de sélectionner les bacilles à Gram négatif résistants aux C3G et le deuxième bouillon additionne au CAZ a raison 2µg/ml. Les deux tubes additionne a la vancomycine (VAN) à raison de 16 µg/ml afin d'inhiber les bactéries à Gram positif).En incube les bouillons a 37°C la lecture réalise âpre 24h.partir de la en peu voire deux résultat, le bouillon trouble ça signifie le résultat positive donc on passe a l'étape d'isolement si l'absence de trouble dans ce cas en l'esse le bouillon 48h

#### **I.3.1. Milieux et réactifs utilisés**

Les milieux de culture et les réactives utilisés durant notre étude sont donnés dans le (**tableau II ANNEX III**) suivie par la composition de ces milieux dans le **Tableau I (ANNEXE III)**

### **I.4. Isolement**

Les bouillons nutritifs positifs sontensemencés en surface à l'aide d'une anse de platine sur Géluse de Mac Conkey additionné à l'antibiotique (CAZ ou CTX). L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h.

### I.5. Purification

Après 24h d'incubation, l'aspect des colonies ayant poussées sur le milieu de culture utilisé est examiné. Généralement on obtiens deux types des colonies roses ca signifie des bactéries a lactose positive et des colonies jaunes présente des bactéries a lactose négatifs Si la culture est poly microbienne, des repiquages successifs seront réalisés en effectuant des repiquages sur gélose, EMB ou Hektoen afin de purifier les souches isolées. Ces boites sont incubées à 37°C pendant 24 h.

### I.6. Identification

Après 24h d'incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussées sur la gélose EMB ou Hektoen. Lorsque la culture est pure, l'identification des bacilles à Gram négatif est réalisée sur la base de : la coloration de Gram, le test de catalase et d'oxydase et la galerie biochimique. Cette dernière comprend plusieurs tests (**Denis et al., 2007**). Les colonies présentant des aspects différents sont sélectionnées et ré purifiées sur gélose HEKTOEN. Les boites sont incubées à 37°C/24h. Une fois la culture est pure, on passe à l'identification à l'aide des colorations de Gram, le test de la catalase, une galerie biochimique et API20

#### 1. Galerie biochimique

##### a. Recherche du nitrate réductase

Après ensemencement du bouillon nitraté, avec la suspension bactérienne on incube à 37 °C pendant 24 heures. On ajoute 5 gouttes du réactif NRI puis 5 gouttes du réactif NRII. Après agitation, un nitrate réductase positive se traduit par l'apparition d'une coloration rose rouge. Si la réaction de Grises est négative, on ajoute une petite quantité de poudre de zinc au milieu incolore. On agite et on attend 5 minutes, le tube étant en position inclinée. Après ce délai, s'il y a apparition d'une coloration rouge, la bactérie étudiée ne possède pas la nitrate réductase.

##### b. Fermentation des sucres (glucose, saccharose et lactose), production du gaz et d'H<sub>2</sub>S sur gélose TSI

On ensemence la surface de la gélose TSI par stries, puis le culot par piqure centrale. On Incube à 37°C pendant 24 h. La lecture se fait comme suit :

- ✓ Fermentation du lactose + : virage au jaune de la pente.
- ✓ Fermentation du glucose + : virage au jaune au fond du tube.
- ✓ Fermentation du saccharose + : virage au jaune au centre du tube.
- ✓ Production de gaz : apparition de bulles.
- ✓ Production d'H<sub>2</sub>S : noircissement du milieu.

### **c. Utilisation du citrate (comme seule source de carbone)**

À partir d'une colonie, la pente du milieu citrate de Simmons est ensemencée par strie Longitudinale. L'incubation est effectuée à 37°C, la durée va de 24h jusqu'à 7 jours pour Certaines bactéries. Une coloration bleue du milieu due à l'alcalinisation indique un test positif.

### **d. Étude du type fermentaire (test VP et RM)**

On ensemence un milieu de Clark et Lubs avec la suspension bactérienne et on incube à 37°C/24h. À l'issue de la période d'incubation, le contenu du tube est divisé en 2 et la lecture se fait comme suit :

- **Tube 1** : on ajoute 5 gouttes de VPI et 5 gouttes de VPII. La suspension est chauffée et laissée

10 mn avant la lecture. L'apparition d'une couleur rouge cerise indique une réaction positive.

- **Tube 2** : on ajoute quelques gouttes du réactif RM. La lecture est immédiate, un virage au

Rouge indique une réaction RM positive.

### **e. Étude de la mobilité et de la fermentation du mannitol**

Le milieu Mannitol-mobilité est ensemencé par piqûre centrale à l'aide d'une pipette Pasteur. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h. La fermentation du mannitol se traduit par une coloration jaune du milieu. La mobilité est confirmée par la formation d'un voile qui diffuse de part et d'autre de la strie D'ensemencement.

### **f. Recherche d'uréase et de TDA, sur milieu urée-indole**

Ces deux tests sont recherchés simultanément sur milieu urée-indole. A partir d'une Suspension bactérienne, on ensemence le milieu urée-indole. On incube à 37°C pendant 24 h. La présence d'uréase se traduit par le virage du milieu au rose/rouge. La production de TDA se manifeste après addition du réactif TDA par l'apparition d'une coloration marron du milieu.

### **g. Recherche d'indole**

On ensemence le milieu eau peptonée exempte d'indole avec une suspension bactérienne et on incube à 37°C pendant 24h. La production d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge en surface après addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs.

## 2. API20E système



**Figure 2:** une galerie API20E

### ❖ Préparation de la galerie

- mettre de l'eau distillée sur le fond de la boîte (partie alvéolée), toutes les alvéoles doivent être remplies, éliminer l'excès d'eau en renversant la boîte au dessus de l'évier.
- Placer la galerie sur le fond de la boîte elle doit être manipulée avec la pince.
- Recouvrir la boîte avec son couvercle.
- Inscrire nom, référence souche, date et température d'incubation sur la languette latérale de la Boîte.

### ❖ Préparation de l'inoculum

Réalisez une suspension de la souche à étudier. La suspension doit avoir une densité suffisante

### ❖ Inoculation de la galerie

- remplir les cupules de suspension en évitant les bulles d'air.

Mode de remplissage, en incube la galerie a37°C/24h

## II. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité de toutes les souches d'entérobactéries qui sont purifiées et identifiées vis-à-vis de différentes famille d'antibiotiques **Tableau I (Annexe IV)** est testée par la méthode d'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller-Hinton, selon les Recommandations du CFA-SFM (2013). **Tableau II (Annexe IV)**

### II.1. Antibiogramme standard

La gélose Mueller-Hinton est utilisée pour l'étude de la sensibilité avec une épaisseur de 4 mm. Les boites sont ensuite séchées dans l'étuve à 37°C pendant 24h afin d'éliminer l'excès d'humidité. L'inoculum est préparé à partir d'une culture de 18 à 24h, en dissociant 3 à 5 colonies identiques dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Une dilution à 1/10ème ( $10^7$ UFC/ml) de la suspension préparée est réalisée. L'ensemencement est effectué par un écouvillon stérile et imbibé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant

fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger le maximum. Ensuite, l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et passant sur la périphérie de la gélose. Puis les disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile. Après incubation à 37°C pendant 24H

### ✓ **Lecture**

Après incubation, les différents diamètres des zones d'inhibition sont mesurés. L'interprétation en résistance (R), intermédiaire (I) ou sensible (S) est réalisée par comparaison avec les diamètres critiques édités par le Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie CASFM 2013.

## **II.2. Recherche de la production de $\beta$ -lactamases à spectre étendu (test de synergie)**

La production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime et céfotaxime (30  $\mu$ g chacun) à une distance de 1,5mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline-clavulanate) (20  $\mu$ g et 10  $\mu$ g, respectivement). L'augmentation de la zone de l'inhibition entre le disque d'augmentin et les disques de céftazidime et céfotaxime indique la production d'une BLSE (**Jarlier *et al.*, 1988**).

## **II.3. Détermination des CMI en milieu solide**

Les concentrations minimales inhibitrices sont déterminées pour 25 souches. L'antibiotique testé est la céftazidime (CAZ) par la méthode de dilution en milieu solide. Les dilutions utilisées sont résumés dans le **tableau III. (Annexa IV)**

### ✓ **Préparation des boîtes**

18 ml de milieu Mueller Hinton en surfusion sont additionnés à 2 ml de chacune des différentes concentrations de l'antibiotique préalablement déposés dans des boîtes de Pétri. Après homogénéisation, les boîtes sont séchées à l'étuve.

### ✓ **Ensemencement**

Une suspension bactérienne de  $10^8$  UFC/ml est diluée à  $1/100^{\text{ème}}$ , puis 10 $\mu$ l de cette dilution est déposé sur le milieu par spot en deux répétitions. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24h. La souche *E. coli* ATCC 25922 est utilisée comme témoin négatif.  $\mu$

### ✓Lecture

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotiques pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La présence d'une à deux colonies ou d'un film n'est pas pris en considération.

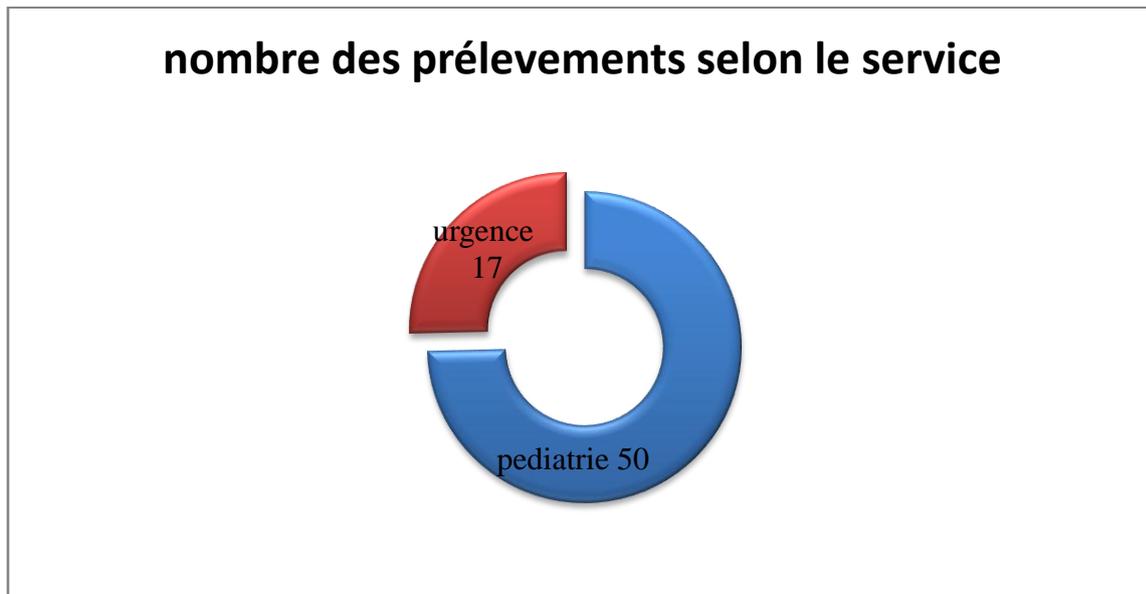
### **II.4. Traitement statistique des données**

L'analyse des données obtenues et la détermination des facteurs de risque sont réalisées par le Test Khi2.

### I. Caractéristiques de la population

#### I.1. Selon le service

Au cours de cette étude qui s'est déroulée du 25 Février au 11 Mai 2014 au niveau de l'EPH d' Amizour, nous avons effectué 67 prélèvements rectaux chez des enfants admis aux niveaux de deux services : 50 prélèvements sont effectués dans le service pédiatrie et 17 prélèvements sont effectués dans le service des urgences

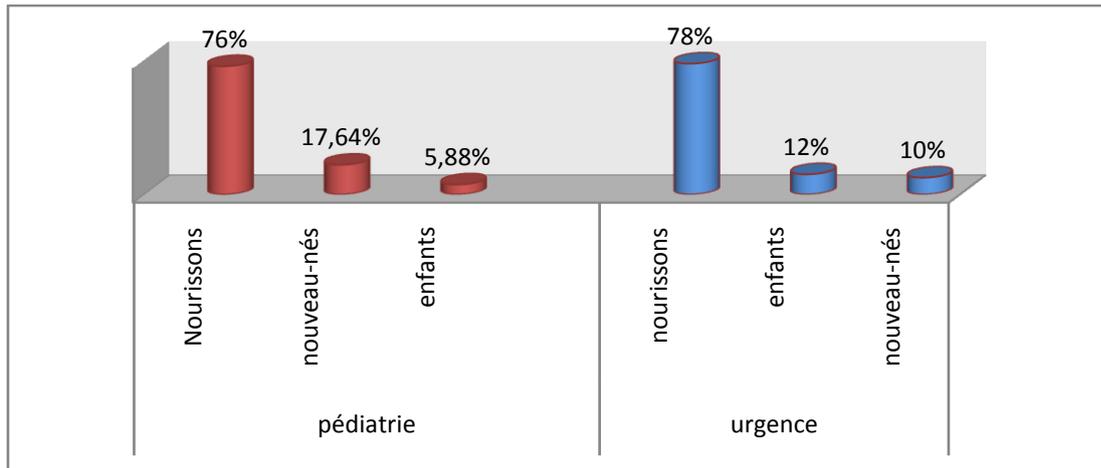


**Figure 03** : Répartition de la population étudiée selon le service

Nous avons isolés 69 souches de bacilles à Gram négatif dont 67 souches d'entérobactéries Répartir en 51 souches d'*entérobactérie* au niveau de service pédiatrie et 16 souches au niveau de service urgence avec 2 souches des *Pseudomonas aerogenosa* qui sont présentent donne le service pédiatrie.

#### I.2 Selon l'âge

La figure 04 montre que les prélèvements effectués ont touché trois tranches d'âge qui sont les nouveau-nés (1j-29j), les nourrissons (1mois-2ans) et les enfants (2ans-5 ans).

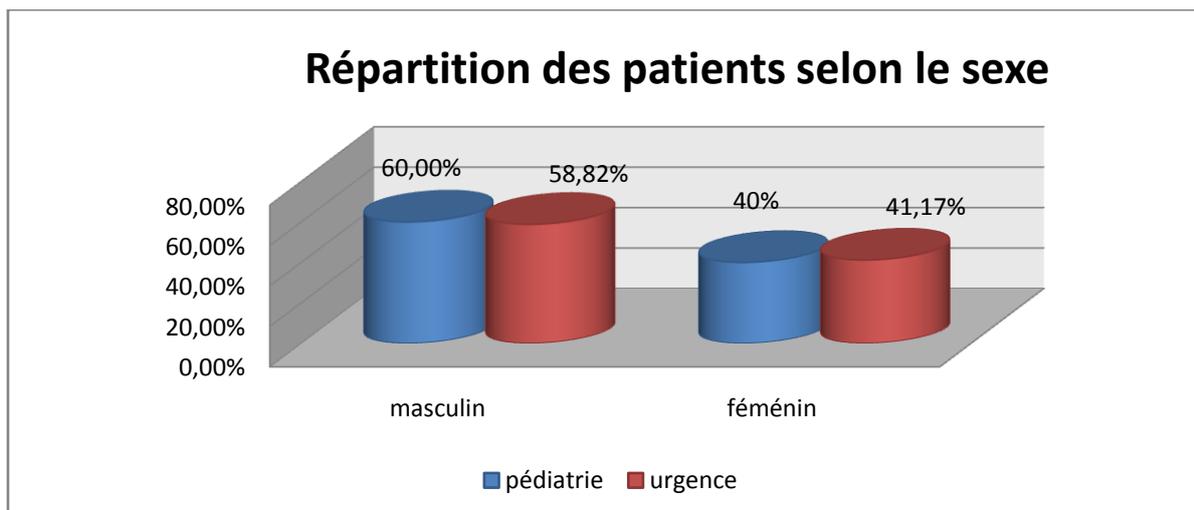


**Figure 04 :** Répartition des patients selon l'âge aux niveaux des services de pédiatrie et d'urgence

On remarque que le nombre d'hospitalisation le plus élevé est chez les patients d'âge compris entre 30 jrs -23 mois avec un taux de 78% pour le service urgence et 76% présente dans le service pédiatrie, suivi de ceux 1jrs-29 jrs avec un taux de 17.64% présente dans le service pédiatrie et 10% pour le service urgence et ceux entre 24mois-5ans qui présentent un taux le plus faible de 12% dans le service urgence et 5.88% pour le service pédiatrie.

### I.3 Selon le sexe

Le nombre de prélèvements effectués n'est pas homogène chez les deux sexes (masculin : 60%, féminin : 40%) aux niveaux des services pédiatrie et au niveau du service d'urgence (masculin : 58.82%, féminin : 41.17%). Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 05



**Figure 05:** Répartition des patients selon le sexe.

## II. Souches bactériennes isolées

Le nombre des souches de bacille à Gram négatif isolées est de 69 souches isolées sur gélose Mac Conkey additionnée de CTX et/ou de CAZ, dont 67 souches d'*Enterobacteriaceae*, 02 de *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats de l'identification sont donnés dans le (tableau I Annexe V).

### ✓ Répartition des souches isolées par espèce

Sur les 67 prélèvements effectués, 69 souches sont isolées à partir de 56 prélèvements positifs. La figure 06 et 07 ci-dessous montre la répartition des souches isolées par espèce au niveau des deux services.

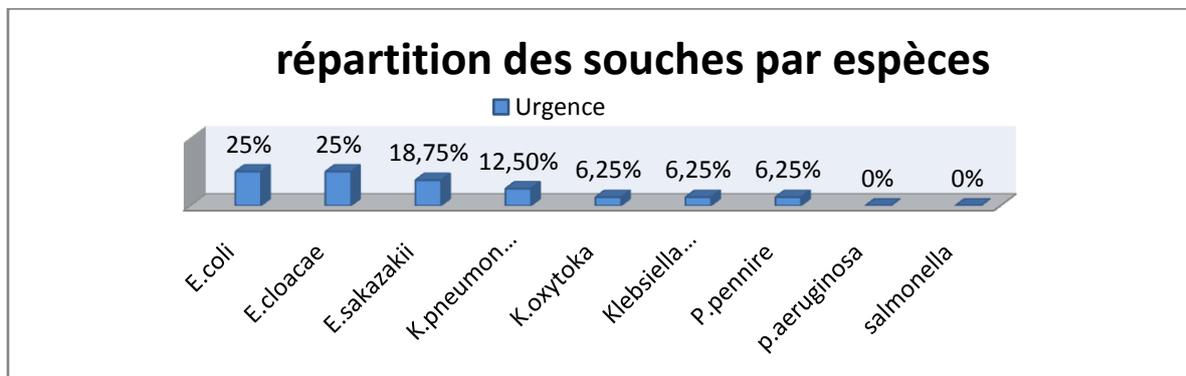


Figure 06: répartitions des souches au niveau de service urgence

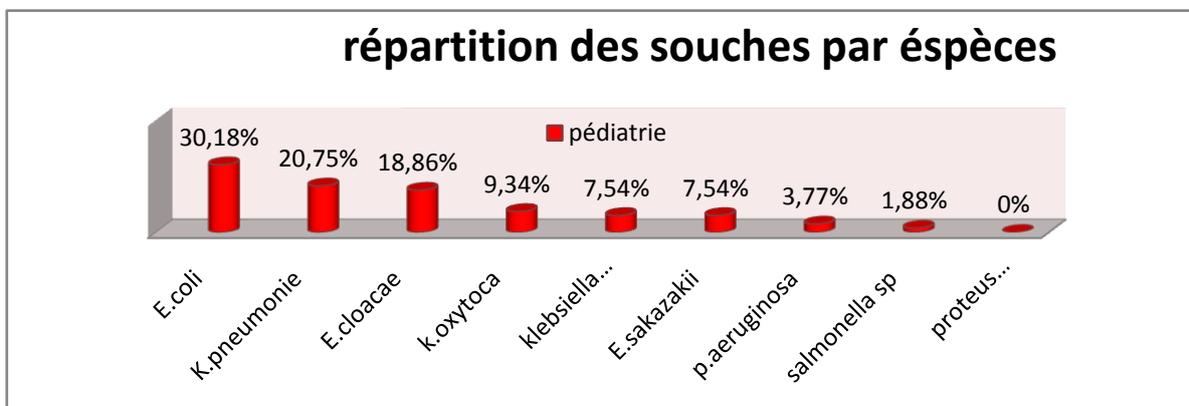


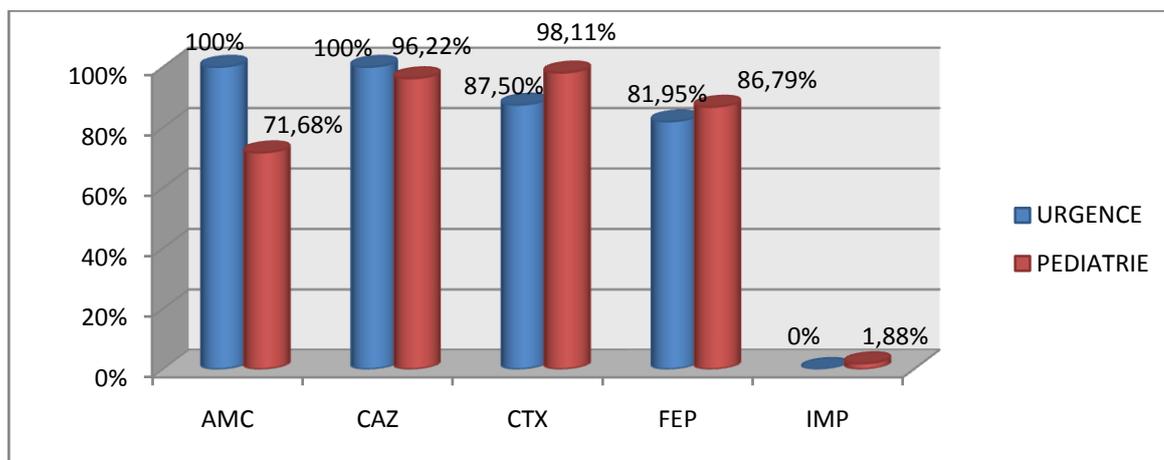
Figure 07 : Répartition des souches au niveau de service pédiatrie

La répartition des souches par espèce nous montre que la souche la plus retrouvée au niveau de service pédiatrie est *E. coli* (30.18%) suivi par *Klebsiella pneumonie* (20.75%). Contrairement au niveau de service urgence où la souche d'*E. Coli* et d'*Enterobacter cloacae* sont les plus fréquentes avec un taux de 25%.suive par *E. sakazakii* (18.75%).

## III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

### III.1. Résistance des bacilles à Gram négatif isolés aux $\beta$ -lactamines

Cinq antibiotiques de la famille des  $\beta$ -lactamines ont été testés sur les souches isolées. Les taux de résistance à ces  $\beta$ -lactamines de l'ensemble des souches sont donnés dans la figure 08



**Figure 08 :** Résistance des souches isolées aux  $\beta$ -lactamines.

### Légende:

**CAZ :** Céfotaxime, **AMC :** Amoxicilline+Acide clavulanique, **CTX :**Céfotaxime, **FEP :**Céfépime,**IMP :**Imipenème

Sur un total de 69 souches isolées, 16 souches sont isolées au niveau du service d'urgence et 53 souches au niveau du service de pédiatrie. D'après les résultats obtenus, nous notons une résistance importante vis-à-vis de l'AMC et de la CAZ avec un taux de 100% isolées au niveau du service d'urgence et de 71.69% vis-à-vis de l'AMC et de 96.22% vis-à-vis de la CAZ au niveau du service de pédiatrie. Pour le CTX, un taux de 98.11% est observé au niveau du service de pédiatrie et de 87.50% au niveau du service d'urgence.

### ✓ Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce

Les résultats présentés dans le tableau II (Annexe V) montrent que sur la totalité des souches 67/69 isolées, 20/67 souches d'*E. Coli* présente le pourcentage le plus élevé dans les deux services urgence et pédiatrie

#### III.1.1. Recherche de BLSE

Le DD-test effectué pour les souches isolées résistantes aux C3G a révélé la présence d'une image de synergie pour 16/67 (23,88%) Ve dire que sure 67 souches d'*entérobactérie* on a trouve 16 souches présentes l'image de synergie, ce qui indique la présence probable d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE). Les résultats de ce test sont résumés dans le (**tableau V annexe V**). La disposition des disques de  $\beta$ -lactamines sur la gélose Mueller Hinton ainsi que la présence d'une image de synergie sont données dans la figure suivante :



Absence de synergie



présence de synergie

Figure 09: Exemple de résultat du DD- test

### III.1.2. Détermination des CMI

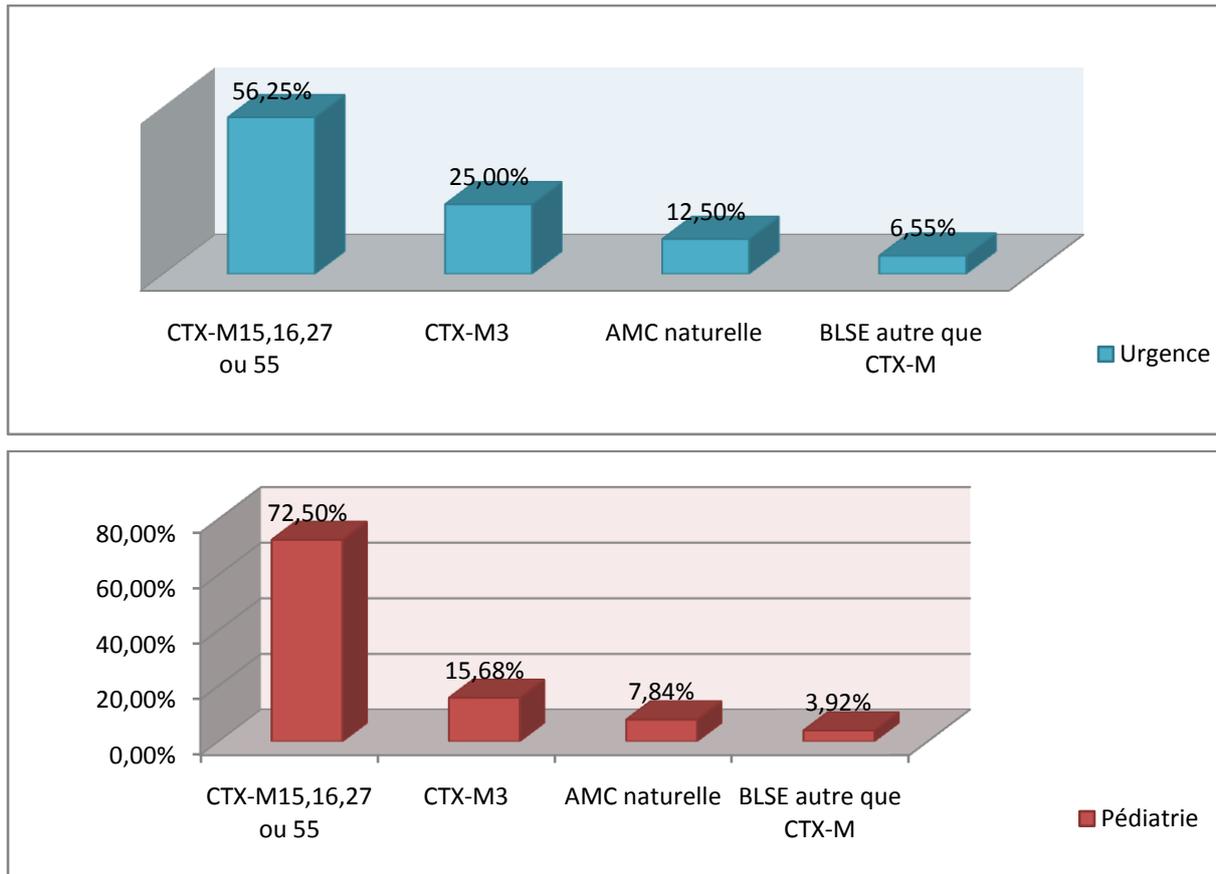
Nous avons testé les CMI pour 24/67 souches isolées vis-à-vis de la Cefotaxime (CTX) avec 04/24 (16,67%) des souches au niveau de service urgence et 20/24 (83.33%) des souches au niveau de service pédiatrie. Les valeurs des CMI varient entre 4µg/ml et 32µg/ml. Les résultats sont donnés dans le tableau III (annexe V). Nous remarquons que les CMI>32µg/ml sont beaucoup plus retrouvées chez la majorité des souches testées.

### III.1.3 Déduction des phénotypes de résistance aux β-lactamines

Le tableau ci-dessous résume les différents phénotypes de résistance probables.

Tableau I : Critères de distinction des phénotypes de résistance probables (Bonnet et al., 2006 cité par Aissou, 2007)

	CTX	CAZ	FEP	Synergie
CTX-M 3	R	S	S	Présence ou Absence
CTX-M 15, 16, 27 ou 55	R	R	R	Présence ou Absence
BLSE autre que CTX-M	R	R	S	Présence
BLSE type céftazidimase	S	R	S	Présence
Hyperproduction de céphalosporinase	R	R	S	Absence



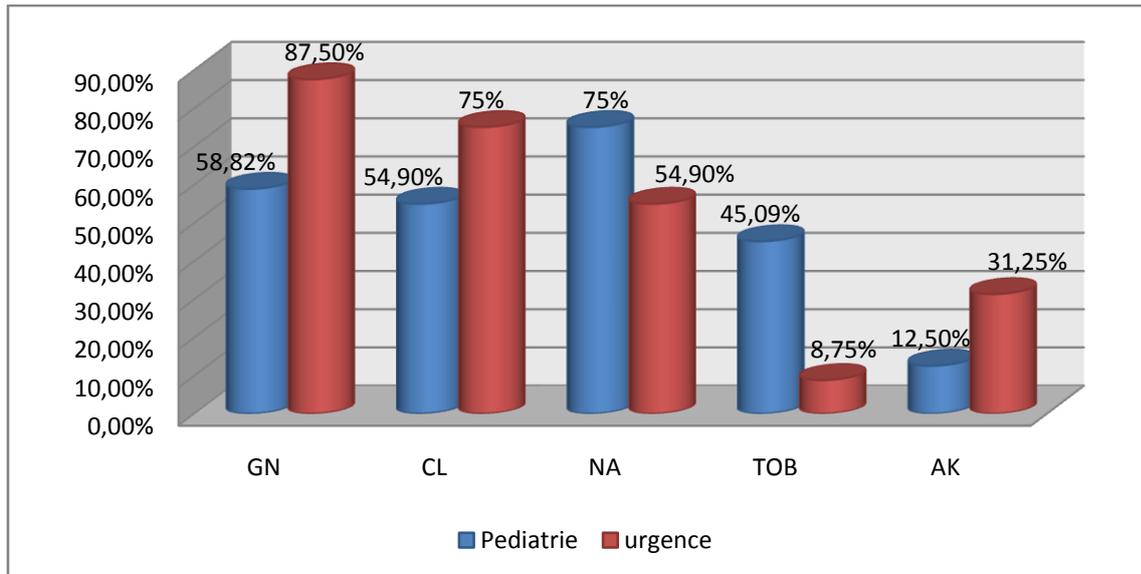
**Figure 10:** Les phénotypes de résistance probables pour les souches résistantes aux C3G.

Cette figure montre la dominance du phénotype CTX-M 15, 16,27 ou 55 avec le pourcentage de (72.50% pour le service pédiatrie et de 56.25% pour le service urgence)

Suivi du phénotype de CTX-M3 (15.68%) au niveau de service de pédiatrie par contre au niveau de service urgence en trouve le phénotype de CTX-M 3(25%) qui domine d'autre part en trouve AMC naturelle qui présente (6.25% dans le service pédiatrie et (12.5%) dans le service urgence et en fin on trouve le BLSE autre que CTX-M

### III.2. Résistances associées aux autres familles d'antibiotique

Des antibiotiques appartenant à des familles autres que les  $\beta$ -lactamines sont testés sur les souches isolées pour évaluer leur sensibilité vis-à-vis de ces antibiotiques (**figure 11**).



**Figure 11:** Taux de résistance aux autres familles antibiotiques des souches résistantes aux C3G

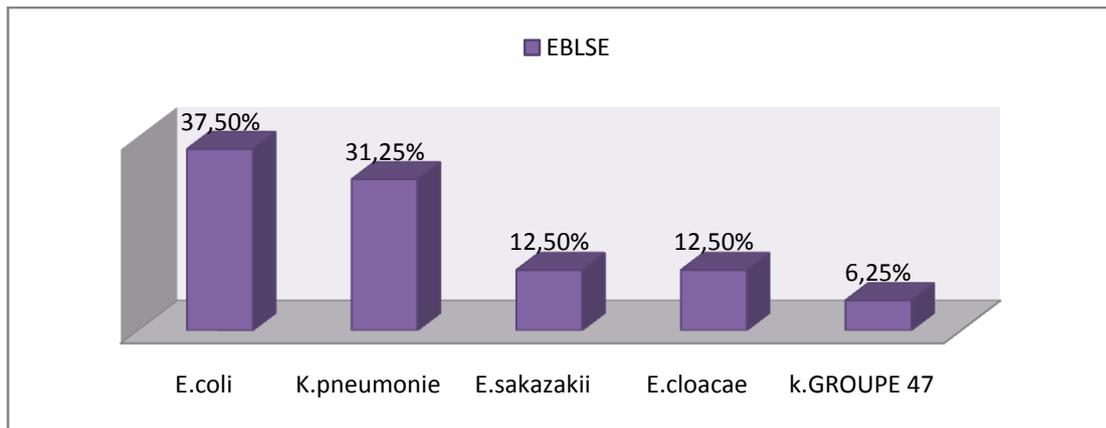
**Légende :** GN : gentamicine, CL : colistine, NA : acidenalidixique, TOB : tobramicine, AK : amikacine

Les aminosides sont représentés par trois antibiotiques qui sont la tobramycine (TOB), l'Amikacine (AK) et la gentamicine (GN). Le taux de résistance les plus élevés sont enregistrés vis-à-vis de la gentamycine (87.50% (14/16) au niveau du service d'urgence et 58.82% (30/51) au niveau de service pédiatrie. Nous notons que 68,75% (11/16) de ces souches sont productrices de BLSE. Un taux élevé est montré également pour l'acide nalidixique qui est 75% dans le service de pédiatrie. Ce même taux est enregistré pour le chloamphénicol dans le service d'urgence

#### IV. Portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE)

##### IV.1. Portage fécal d'EBLSE identifiées

Sur les 67 prélèvements collectés, 69 souches ont été isolées et identifiées comprenant 67 souches d'entérobactéries dont 16/67 (23.88%) souches sont productrices de BLSE.

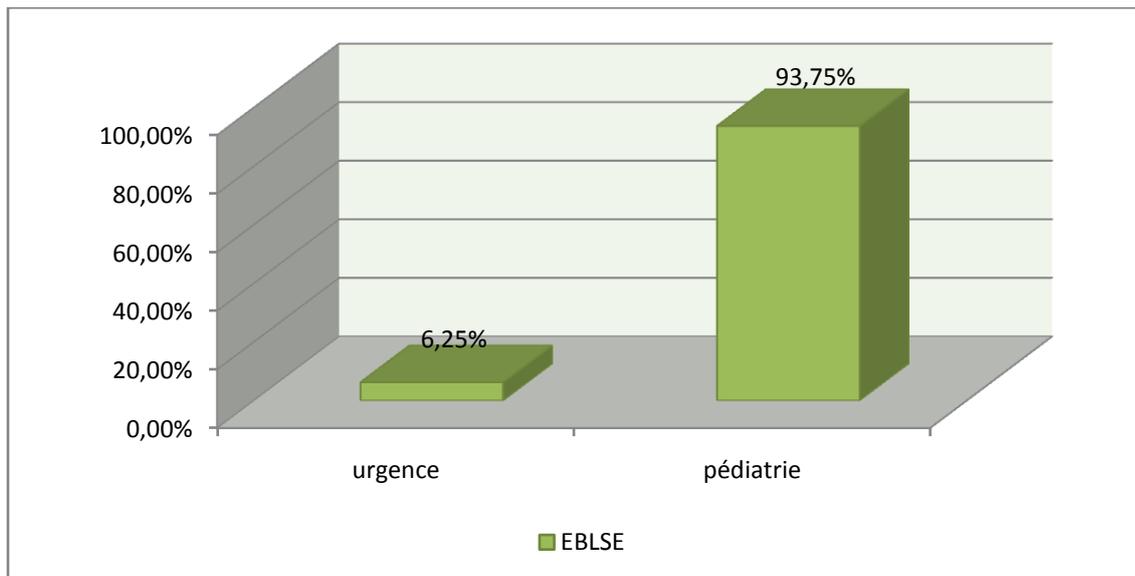


**Figure 12:** Répartition des souches d’EBLSE par espèce

La figure 10 montre une prédominance d’*E. Coli* (6/16) avec un taux de 37.50%, suivi Par *K. pneumoniae* (5/16) avec 31.25%. Les autres espèces sont faiblement représentées.

#### IV.2. Portage fécal d’EBLSE selon les services

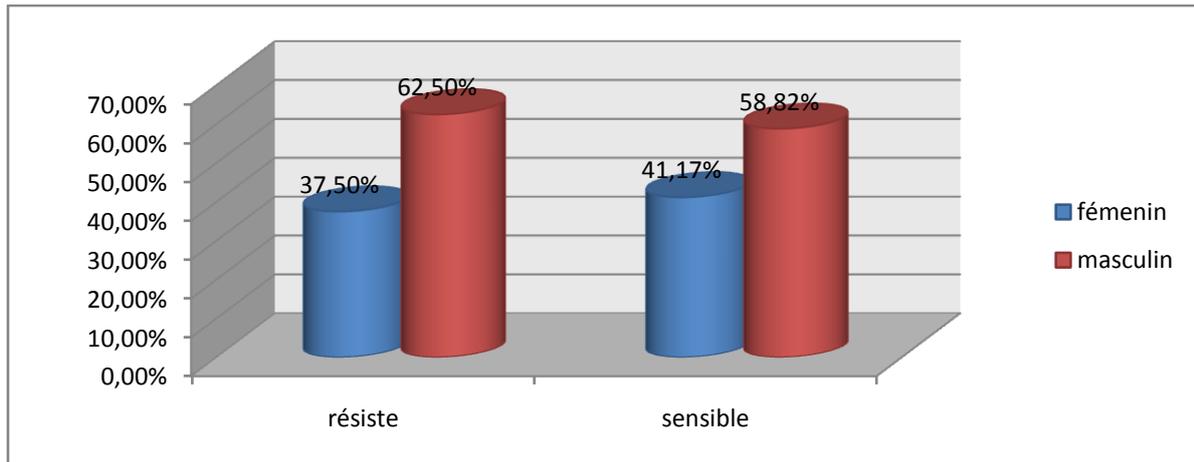
Le nombre total d’EBLSE retrouvées est de 16, réparti dans le service pédiatrie et urgence (1/16 EBLSE au niveau d’urgence et 15/16 EBLSE au niveau de service de pédiatrie (figure13).



**Figure 13 :** Répartition des souches d’EBLSE selon le service

#### IV.3. Portage fécal d’EBLSE selon le sexe

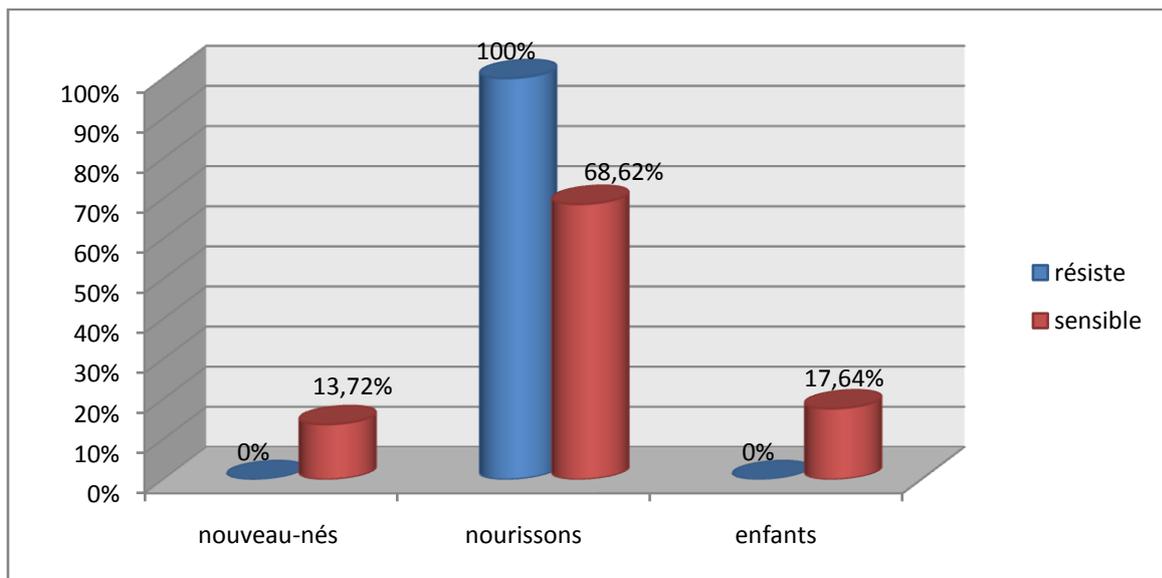
le portage des EBLSE est plus élève chez sexe masculin avec 62.5% (10/16). Que chez le sexe féminin avec un taux de 37.5% (6/16), L’analyse statistique des données faite par le test de X2 (Khi2) révèle que le sexe n’est pas considéré comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE (Annexe VI).



**Figure 14:** Répartition des souches d’EBLSE selon le sexe

#### IV.4. Portage fécal d’EBLSE selon l’âge

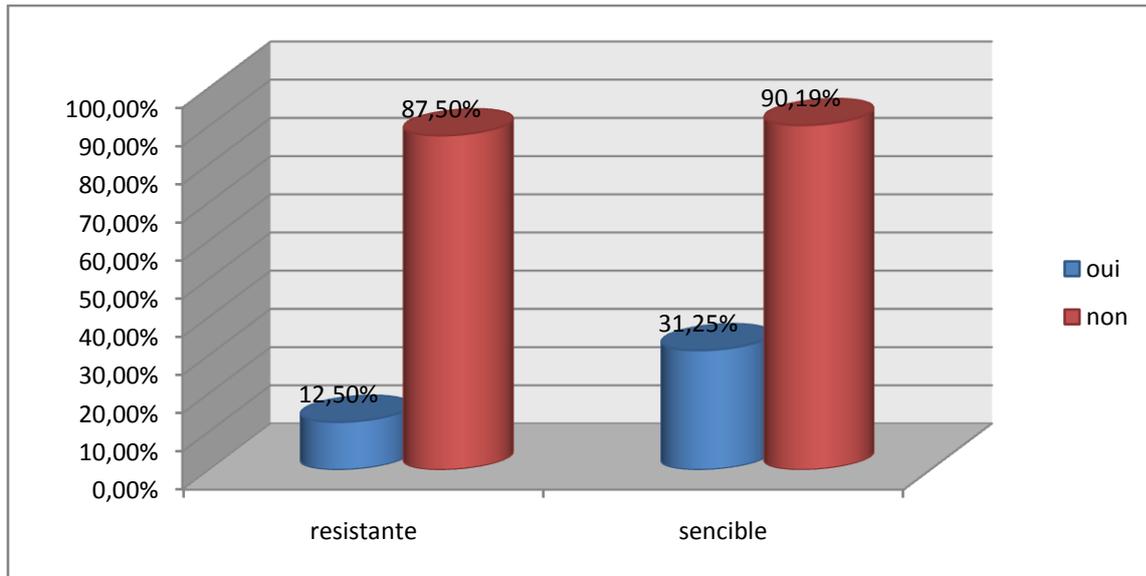
Les EBLSE sont retrouvées à un taux élevé chez les nourrissons qui est de (76.11%) Le Test de X2 révèle que l’âge est considéré comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE (**Annexe VI**). La répartition de ces EBLSE selon l’âge est dans la figure 15



**Figure 15 :** Répartition des souches d’EBLSE selon l’âge

#### IV.5. Portage fécal d’EBLSE selon l’antibiothérapie antérieure

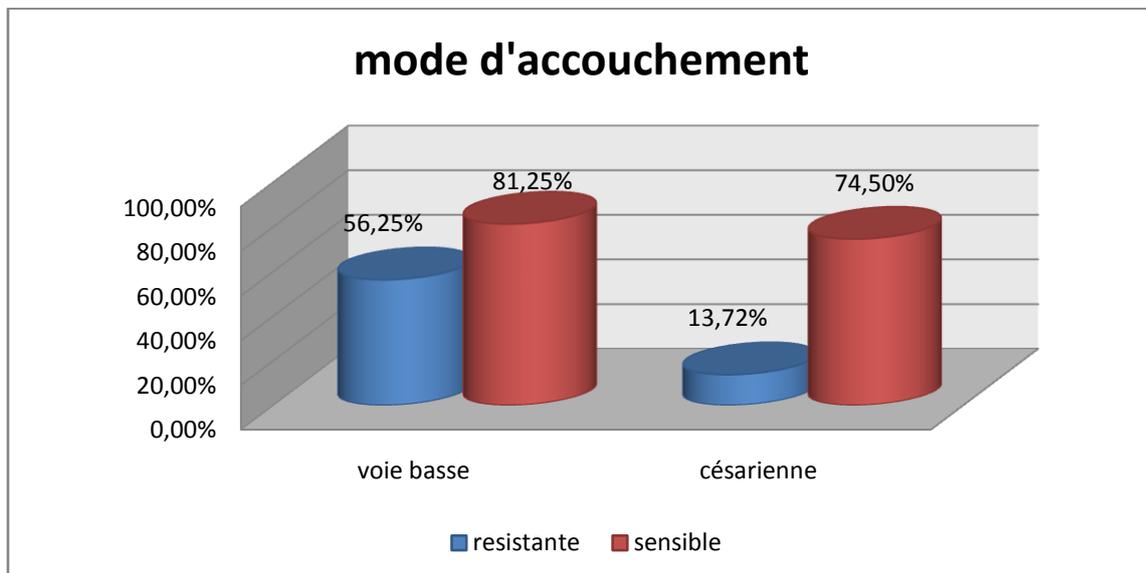
87.5 % (14/16) de souches productrices de BLSE sont identifiées chez des enfants sans Antibiothérapie au cours de notre étude. Selon le test de X2 (Khi2) effectué pour l’analyse Statistique, dans ce cas n’en peut pas avoir l’antibiothérapie comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE. La figure ci-dessous montre la répartition des EBLSE selon l’antibiothérapie antérieure



**Figure 16 :** Répartition des souches d’EBLSE selon l’antibiothérapie antérieure

#### IV.6. Portage fécal d’EBLSE selon mode d’accouchement

Il a été observé que le mode d’accouchement a un effet significatif sur l’acquisition de souches résistantes avec P valeur inférieure au 0,05. Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 17. Selon le test de  $\chi^2$  (Khi2) effectué pour l’analyse statistique de mode d’accouchement est considérée comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE. La figure ci-dessous montre la répartition des EBLSE selon le mode d’accouchement



**Figure 17 :** Répartition des souches résistantes et sensible selon le mode d’accouchement.

#### IV.7. Portage fécal d'EBLSE selon mode d'allaitement

Selon le test Khi-deux, l'allaitement n'est pas un facteur de risque de l'acquisition des Souches résistantes ( $P > 0,05$ ). Les résultats obtenus sont résumés dans la figure suivante

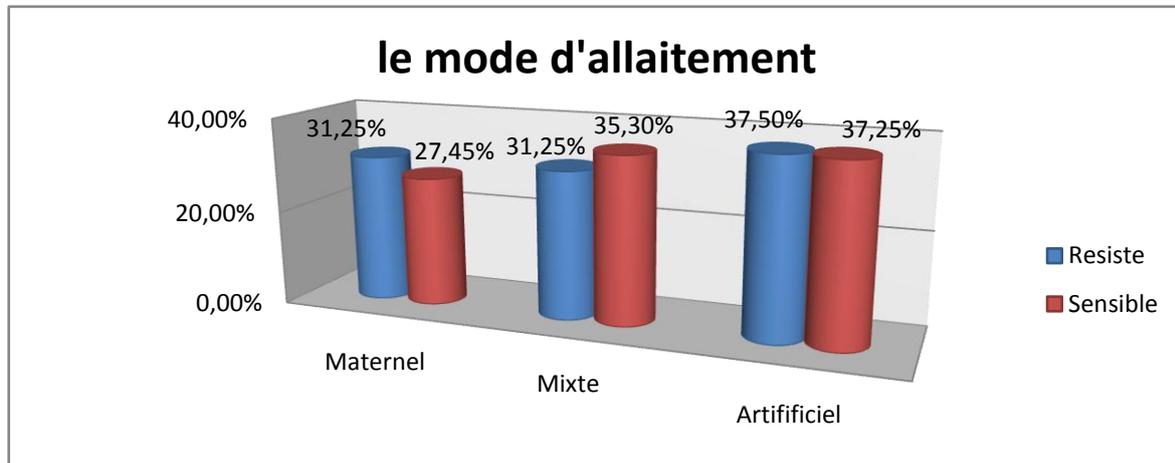


Figure18: Répartition des souches EBLSE selon le mode allaitement

#### IV.8. Portage fécal des EBLSE selon le motif d'admission

Nous remarquons une présence d'EBLSE plus importante chez les patients atteints de Bronchiolites et chez les patients souffrant de diarrhée au niveau des deux services. L'analyse statistique de ces données faite par le test de X2 a révélé que le motif d'admission n'est pas considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE.

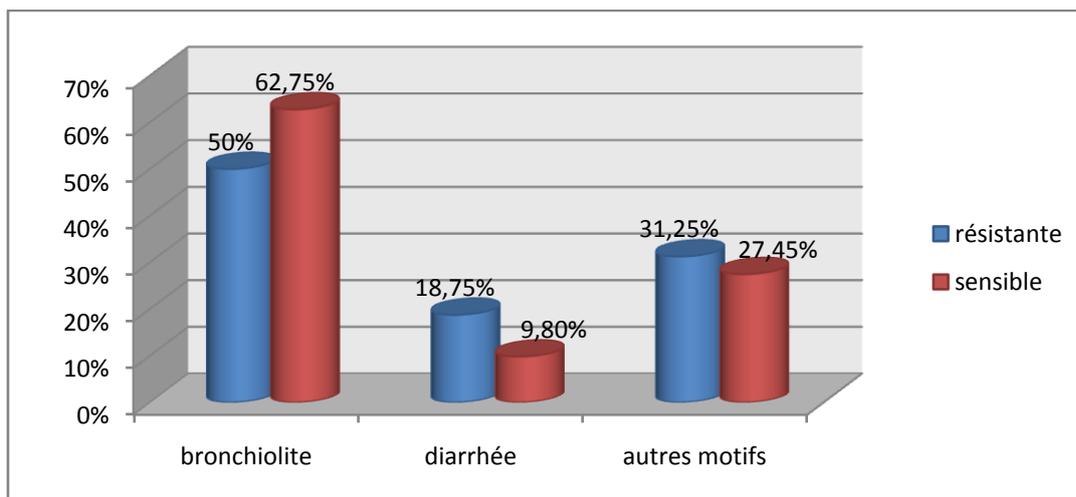


Figure 19: Répartition des EBLSE selon les motifs de consultation et d'admission

Légende :

Autres motifs : anémie, éctér- hypothermie, la varicelle et la crise convulsive

### V. discussion générale

La colonisation post-natale par des bactéries multi résistantes (BMR) peut être suivie d'infection en particulier chez les patients immunodéprimés et les nouveau-nés (**Szewczyk EM et al. 2000**). Dans la dernière décennie, de nombreuses études ont montré une augmentation spectaculaire de l'émergence d'entérobactéries productrices de BLSE, en raison d'une sur-utilisation de céphalosporines à large spectre. Cette émergence de la résistance devient préoccupante et pose un vrai problème de santé publique (**Birgy et al. 2012**). Depuis les années 2000, nous assistons dans le monde à une augmentation constante de la prévalence des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération. Les résistances aux  $\beta$ -lactamines chez les entérobactéries sont dominées actuellement par les problèmes de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) parmi les isolats hospitaliers. Dans la grande majorité des cas, les patients s'infectent à partir de leur propre flore fécale (Infections endogènes). Cette flore va se modifier au cours de l'hospitalisation avec l'acquisition de bactéries de l'environnement, le plus souvent bactéries à Gram négatif. Ces bactéries sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques et ont une grande capacité d'acquisition de nouveaux mécanismes de résistance ; elles survivent et se multiplient en milieu hospitalier, où elles sont favorisées par la pression de sélection qu'exercent les nombreux antibiotiques prescrits. A partir de l'environnement, elles vont coloniser les patients, apportées le plus souvent par les mains du personnel (**Godreuil et al. 2007**). Durant cette étude, nous avons réalisé 67 prélèvements chez des patients à l'admission, dans les deux services : urgence et pédiatrie au niveau d'EPH d'Amizour. Nous avons isolés 69 bacilles à Gram négatif dont 67 souches d'entérobactéries.

L'analyse des phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches d'entérobactéries a montré qu'elles résistent par plusieurs mécanismes (naturels et/ou acquis) et 16 souches sont productrices de BLSE. Elles sont réparties en 15 EBLSE au niveau du service de pédiatrie et 01 EBLSE au niveau du service d'urgence.

La prévalence de patients porteurs d'EBLSE avoisine les 23,88% (16/67). Cette prévalence témoigne l'émergence de ce phénomène dangereux en médecine de ville alors que Jusqu'à la fin des années 90, les BLSE étaient principalement identifiées dans des souches de *K. pneumoniae*. en milieu hospitalier (**Carrër et Nordmann, 2009**). Le taux noté durant notre étude concorde avec les résultats obtenus en Afrique. Notre résultat est comparé aux résultats des études précédentes dans le tableau IV (**Annexe V**)

Durant cette étude, nous avons remarqué que la majorité des souches isolées résistent Probablement par production de BLSE de type CTX-M. Cette classe de BLSE est connue comme un mécanisme important de la résistance aux C3G. Des études à l'échelle nationale ont montré que les CTX-M-15 et CTX-M-3 sont les plus isolées en Algérie (Ramdani Bougessa *et al.* 2006 ; Iabadene *et al.* 2008; Touati *et al.*, 2006; Messai *et al.*, 2008; Gharoutet *al.*, 2012). La majorité des études de portage réalisées ont montré que les CTX-M-15 sont les plus isolées et sont qualifiées de pandémiques.

En plus de la résistance aux C3G, les souches d'EBLSE sont aussi, dans leur très grande majorité, résistantes aux autres familles d'antibiotiques, notamment aux aminosides (TOB, AK, GN) et à quinolones représentées par l'acide nalidixique.

Au Sénégal, une étude a été menée par Ruppe *et al.* 2009, qui consistent à étudier le portage d'isolats d'*E. Coli* producteurs de CTX-M-15 chez les enfants vivant dans un village isolé au Sénégal. Cette étude a révélé qu'un clone d'*E. coli* qui porte le gène *bla*<sub>CTX-M-15</sub> et d'autres gènes de résistance, y compris *bla*<sub>OXA-1</sub>, *bla*<sub>TEM-1</sub>, *aac(6)'Ib-cr* et *Tet(A)*, était présent dans la flore fécale sous-dominante de deux enfants en bonne santé d'un village Sénégalais très éloigné et isolé avec un accès très limité à la médecine. Cette association des déterminants de résistance des souches détectées était très semblable à celle trouvée dans les *E. coli* productrices de BLSE qui circulent dans le monde entier dans les zones urbaines denses. Nombreuses sont les équipes qui se sont intéressées aux EBLSE ainsi qu'aux facteurs de risque de portage de telles bactéries chez les adultes. En milieu hospitalier, les facteurs de risque d'infection nosocomiale ont largement été étudiés (âge, sexe, allaitement, mode d'accouchement, antibiothérapie et le motif d'admission) (Vodovar *et al.*, 2012). Dans notre étude, l'analyse statistique a montré que l'âge et mode d'accouchement les deux facteurs d'acquisition d'EBLSE.

.

.

Au terme de cette étude effectuée au niveau du laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital d'Amizour, durant Une période de 71 jours, 69 souches de bacilles à Gram négatif (67 souches d'entérobactéries, et 02 de *Pseudomonas*) ont été isolées chez 67 patients.

Le nombre de travaux réalisés et au cours de réalisation sur la résistance aux antibiotiques est très important. Le danger auquel l'humanité est confrontée aujourd'hui devient alarmant.

La flore digestive est le principal réservoir d'entérobactéries. Concernant la résistance de ces souches, nous avons enregistré un taux de 95,52% de résistance vis-à-vis des C3G (CTX et/ou CAZ).

Le test de synergie a montré que 23.90% souches sont productrices de BLSE. Les phénotypes de résistance les plus couramment observés sont BLSE type CTX-M, suivi par le phénotype BLSE autres que CTX-M. Des CMI élevées de ces souches ont été notées vis-à-vis de la céftazidime (CAZ).

La prévalence du portage des EBLSE est de 23.88%. L'analyse statistique des données a montré que l'âge et mode d'accouchement peuvent être des facteurs d'acquisition des EBLSE.

Au vu des connaissances actuelles, il est cependant possible de faire des recommandations pour améliorer la colonisation bactérienne bénéfique du nourrisson :

- ✓ Privilégier au maximum la naissance par voie basse, qui est le meilleur moyen d'avoir une colonisation bactérienne adéquate ; la fréquence des césariennes dans les pays développés ne peut en aucun cas être considérée comme un indice de l'amélioration de la médecine périnatale ;

- ✓ Allaiter exclusivement, et ce pendant au moins les 6 premiers mois ; il convient d'éviter autant que possible l'allaitement mixte et les compléments : l'allaitement favorise une maturation progressive de la muqueuse intestinale et du système immunitaire et l'installation de la bonne flore

- ✓ Eviter autant que possible les antibiothérapies qui ne sont pas réellement justifiées chez les nourrissons et la mère ; si une antibiothérapie est indispensable, il faudrait utiliser une molécule ayant le spectre d'action le plus étroit possible ;

- ✓ La diversification alimentaire ne débutera pas avant 6 mois, et elle sera lente et progressive.

La réalisation de cette étude devrait sensibiliser le personnel soignant à la fréquence accrue de l'antibiorésistance souvent secondaire à des traitements antibiotiques inappropriés. Ce travail ouvre de nombreuses perspectives, il serait intéressant de compléter cette étude en :

- Etudiant un échantillon plus grand pour rendre l'étude statistique plus fiable.
- Caractérisant les gènes de résistance par PCR et séquençage.
- Recherchant un lien clonal entre les souches par les techniques de typage moléculaire.

### *Bibliographies*

- ❖ Andermont A. (1995). Ecosystème bactérienne du tube digestif .rapports avec le traitement des péritonites .*Médecine maladie infectieuse*. 5,1123-1126.
- ❖ Armand-Lefevre L A, Ruppe E, Barbier F, et al. (2011). Massive increase, spread, and exchange of extended spectrum beta-lactamase-encoding genes among intestinal *Enterobacteriaceae* in hospitalized children with severe acute malnutrition in Niger. *Clin Infect Dis*, 53(7):677-685.
- ❖ Berthelot P, Grattard F, Mallaval O, Ros A, Lucht F et Pozzetto B. (2005). Epidemiology of nosocomial infections due to *P.aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *Pathol Biol*. 53, 341-348.
- ❖ Birgy, R. Cohen, C. Levy, P. Bidet, C. Courroux, M. Benani, F. Thollot and E. Bingen. (2012). Community faecal carriage of extended-spectrum betalactamaseproducing *Enterobacteriaceae* in french children. *BMC Infectious Diseases*. 12:315
- ❖ Bonnet R., Courvalin P., Leclerc R. et Bingen E. (2006).  $\beta$ -lactamines et entérobactéries. In: eds. ANTIBIOGRAMME, 2ème ed. ESKA, Paris. pp. 141-162.
- ❖ Bradford PA. (2001). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*.14, 933-51
- ❖ Bush K, Jacoby G A et Medeiros A A. (1995). A functional classification scheme for betalactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother*. 39, 1211-1233.
- ❖ Bush K. et Jacoby A. (2010). Updated Functional Classification of  $\beta$  Lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*. Rev.54, 969-976.

- ❖ Campeotto F , Waligora-Dupriet A-J , Doucet-Populaire F, Kalach N , Dupont C, Butel M-J (2007). Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né Gastroenterol. *Clin Biol.* 31, 533-542.
- ❖ Cavallo J D, Fabre R, Jehl F, Rapp C et Carrabé E. (2004).  $\beta$ -lactam antibiotics. *MED MALADIES INFECT*, 01: 129-202.
- ❖ Charpentier E et Novak R. (2000). Mort bactérienne et antibiotiques de la famille des  $\beta$ - lactamines. *Médecine/Sciences*, 16 : 1125-1127.
- ❖ Chatellet M.C. (2007). Doctorat vétérinaire, faculté de médecine. 22p
- ❖ Denis F, Ploy MC, Martin C, Bengen et Quenten R. (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Edition : Elsevier Masson ; 70p
- ❖ Duval V, Barbe C, Fusellier A, et al. *Escherichia coli* producteur de beta-lactamase a spectre étendu : un nouveau pathogene hospitalier? *Hygienes* 2008;16:319-26.
- ❖ Ducluzeau R. (1993). Installation, équilibre et rôle de la flore microbienne chez le nouveau-né. *Ann Pédiatr.* 40, 13-22.
- ❖ Emori TG, Gaynes RP. (1993). An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. *Clin MicrobiolRev.* 6(4):428-442.
- ❖ Essack SY. (2001). The development of  $\beta$ -lactam antibiotic in response to the evolution of  $\beta$ -lactamase. *Pharm. Res.*18, 1391-1399
- ❖ Favier, C. Vaughan, W. M. De Vos & A. D. (2002). Akkermans Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. *Appl Environ Microbiol.* 68, 219-26

- ❖ Fauchère J I et Avril J I. (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed. Ellipses. Paris. 520p.
- ❖ Faure S. (2010). Transfert d'un gène de résistance aux  $\beta$ -lactamines *bla*CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une antibiothérapie. Thèse de Doctorat. Université de Rennes. 190p.
- ❖ Florence CAMPEOTTO (1), Anne-Judith WALIGORA-DUPRIET (2), Florence DOUCET-POPULAIRE (2, 4), Nicolas KALACH (1, 3), Christophe DUPONT (1), Marie-José BUTEL (2) Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroenterol Clin Biol* 2007;31:533-542
- ❖ Jacoby A G et Munoz price LS. (2005). The new  $\beta$ -lactamases. *The New England journal of medicine* . 352, 380-391.
- ❖ Jacoby G. A. (2009).  $\beta$ -lactamase Nomenclature. *Antimicrob Agent Chemother*. 50 (4): 1123–1129.
- ❖ Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, and Philippon A. (1988). Extended-broad-spectrum  $\beta$ -lactamases conferring transferable resistance to newer  $\beta$ -lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*. 10:867-878.
- ❖ Harmsen HJ., Gibson GR., Elfferich P., Raangs GC., Wildeboer-Veloo AC. Et Argatz A. (2000). Comparison of viable cell counts and fluorescence in situ hybridization using specific rRNA-based probes for the quantification of human fecal bacteria. *FEMS Microbiol Lett* .183, 125-9.
- ❖ Ho PL, Poon WW, Loke SL, Leung MS, Chow KH, Wong RC, Yip KS, Lai EL, Tsang KW. (2007). Community emergence of CTX-M type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases among urinary *Escherichia coli* from women. *J Antimicrob Chemother*. 60(1):140-144.

- ❖ Gaston. M. (1988). Enterobacter: an emerging nosocomial pathogen. *J Hosp Infect.* 11, 197-208
- ❖ Gaudy C et Buxeraud J. (2008). Antibiotiques : pharmacologie et thérapeutique. Ed. Masson.Paris. 269p.
- ❖ Giraud-Morin C. et Fosse T. (2008). Évolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005–2007). *Pathologie Biologie.* 56, 417-423.
- ❖ Godreuil S, Torrea G, Terru D, Chevenet F, Diagbouga S, Supply P, Van de Perre P, Carriere C, et Banuls A. L. (2007). First Molecular Epidemiology Study of *Mycobacterium tuberculosis* in Burkina Faso. *J. Clin. Microbiol.* 45 (3) :921–927.
- ❖ Goulet O. (2009) La flore intestinale : un monde à préserver. *Journal de pédiatrie et de puériculture* 22, 102-106.
- ❖ Kiouba J C. (2002). L'usage des antibiotiques en milieu hospitalier. Thèse de Doctorat, Université de Bamako .75p.
- ❖ Langhendries JP, Paquay T, Hannon M, Darimont J. (1998). Acquisition de la flore intestinale néonatale : rôle sur la morbidité et perspectives thérapeutiques. *Arch Pediatr.* 5,644-53.
- ❖ Langhendries J.-P., P. Maton, A. François, A. Marguglio, W. Marion, S. Smeets, P. Philippet. Établissement du microbiote intestinal en bas âge et qualité de l'immunité ultérieure. © 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés. *Archives de Pédiatrie* 2010;17:S110-S118
- ❖ Lepelletier D, Corvec S, Caroff N, Reynaud A et Potel G. (2008). Impact de l'antibiothérapie et des facteurs liés à l'hôte et à l'hospitalisation sur le risque de colonisation digestive par des bactéries multirésistantes. *Antibiotiques.* 10, 88-95.

- ❖ Moissenet D, Salauze B, Clermont O, Bingen E, Arlet G, Denamur E, Merens A, Mitanchez D, Vu-Thien H. (2010). Meningitis caused by *Escherichia coli* producing TEM- 52 extended-spectrum beta-lactamase within an extensive outbreak in a neonatal ward: epidemiological investigation and characterization of the strain. *J Clin Microbiol.* 48(7):2459-2463.
- ❖ Moreau. (2004) .Flore microbienne intestinale : physiopathologie et pathologie digestive. John Libbey Eurotext .Paris.132p. Sakasaki R. (1984). Serology of *Enterobacter* and *Hafnia*. In : Bergan T. (Ed.), *Methods in microbiology*. Edition : Academic Press INC. London. pp. 165-186.
- ❖ Nitenberg G. (1997). Prévention des infections à bactéries multirésistantes en réanimation. 16eme conférence de consensus en réanimation. *Réan Urg*, 6 (2): 167-173.
- ❖ Paterson D. L. and R. A. Bonomo. (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 18:657-86. *PediatrJ. Enterobacteriaceae* in Hospitalized and Ambulatory Children. *Inf.* 5: 54-8.
- ❖ Quinet1\*, B. Mitanchez2D., B. Salauze3, A. Carbonne4, E. Bingen5, S. Fournier6,D. Moissenet3, H. Vu-Thien3 Description and investigation of an outbreak of extendedspectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* strain in a neonatal unit c 2010 Elsevier Masson SAS. Tous droits reserves. *Archives de Pédiatrie* 2010;17:S145-S149
- ❖ Rambaud J., Buts J., Corthier G. et Flourié B. (2004). Flore microbienne intestinale. PARIS: John Libbey Eurotext. Riché D. (2008). *Micronutrition, santé et performance*. Paris: De boeck.
- ❖ Reddy P, Malczynski M, Obias A, Reiner S, Jin N, Huang J, Noskin GA, Zembower T. (2007). Screening for extended-spectrum beta-lactamase-producing

*Enterobacteriaceae* among high-risk patients and rates of subsequent bacteremia. Clin Infect Dis. 45(7):846-852

- ❖ Ruppé E. (2010). Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTXM. Antibiotique. 12, 3-16.
- ❖ Seignalet J. (2004). L'alimentation ou la troisième médecine. Paris: François-Xavier de Guibert.
- ❖ Sepp E., Naaber P., Voor T., Mikelsaar M. et Björkstén B. (2000). Development of intestinal microflora during the first month of life in Estonian and Swedish infants. Microbiol Ecol Health Dis. 12, 22-6.
- ❖ Sghir A, Gramet G, Suau A, Rochet V, Pochart P and Doré J. (2000). Quantification of bacterial groups within human fecal flora by oligonucleotide probe hybridization. Appl Environ Microbiol, 66:2263–2266.
- ❖ Szewczyk EM, Piotrowski A, Rozalska M. Predominant staphylococci in the intensive care unit of a paediatric hospital. J Hosp Infect 2000;45:145–54
- ❖ Tannock GW, Fuller R, Smith SL, Hall MA. (1990). Plasmid profiling of members of the family *Enterobacteriaceae*, *lactobacilli*, and *bifidobacteriato* study the transmission of bacteria from mother to infant. J ClinMicrobiol. 28:1225-8.
- ❖ Valverde A, Grill F, Coque TM, Pintado V, Baquero F, Canton R, Cobo J: High rate of intestinal colonization with extended-spectrum-beta-lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. J ClinMicrobiol. 46(8):2796-2799.

## ANNEXE I

**Tableau I: Etapes de l'installation de la flore intestinale et l'origine des germes rencontrés chez les nouveau-nés (Langhendries, 2006).**

Phase	Origine des germes rencontrés	Germes rencontrée
La phase I	La flore vaginale et fécale	Germe anaérobie facultatif (streptocoques, Entérobactéries, staphylocoques) Les anaérobies stricts sont très peu fréquents
La phase II	L'alimentation exclusive au sein	Germes anaérobies stricts (bifidobactéries et bactéries lactiques) 10 <sup>9</sup> UFC /ml. Augmentation du nombre d' <i>Escherichia coli</i> et <i>Bacteroides spp</i>
La phase III	Début de la diversification alimentaire	Augmentation parallèle d'entérocoques et de streptocoques et les clostridies. Flore anaérobie stricte plus diversifiée.
La phase IV	L'alimentation et l'hygiène.	Une très grande augmentation de la flore anaérobie stricte dans la partie distale du côlon

**Tableau II Relation entre la classification moléculaire d'Ambler et celle fonctionnelle de Bush et *al.*, (Bush et Jacoby, 2010).**

Groupe de Bush-Jacoby (2009)	Groupe de Bush-Jacoby (1995)	Classe moléculaire d'Ambler	Substrat préférentiel de l'enzyme	Inhibition par		Caractéristiques	Enzymes représentatives
				AC ou TZB	EDTA		
1	1	C	Céphalosporines	Non	Non	- Hydrolyse meilleure des céphalosporines que de la benzylpénicilline; - Hydrolyse des céphamycines	ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI	C	Céphalosporines	Non	Non	Hydrolyse accrue de la ceftazidime et souvent autres oxyimino- $\beta$ -lactamines	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Pénicillines	Oui	Non	Hydrolyse meilleure de la benzylpénicilline que des céphalosporines.	PC1
2b	2b	A	Pénicillines et C1G	Oui	Non	Hydrolyse similaire de la benzylpénicilline et des céphalosporines	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Céphalosporines à spectre étendu et monobactames	Oui	Non	Hydrolyse augmentée vis-à-vis des oxyimino- $\beta$ -lactamines	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Pénicillines	Non	Non	Résistance au clavulanate, sulbactam et tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Céphalosporines à spectre étendu et monobactames	Non	Non	- Hydrolyse augmentée vis-à-vis des oxyimino- $\beta$ -lactamines ; - Résistance aux inhibiteurs de $\beta$ -lactamases	TEM-50
2c	2c	A	Carbénicilline	Oui	Non	Hydrolyse meilleure pour la carbénicilline	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbénicilline, céfépime	Oui	Non	Hydrolyse de la carbénicilline, céfépime et ceftiofime	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacilline	Variable	Non	Hydrolyse de la cloxacilline ou l'oxacilline	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Céphalosporines à spectre étendu	Variable	Non	Hydrolyse de la cloxacilline ou l'oxacilline mais aussi des oxyimino- $\beta$ -lactamines	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapénèmes	Variable	Non	Hydrolyse de la cloxacilline ou l'oxacilline et des carbapénèmes	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Céphalosporines à spectre étendu	Oui	Non	- Hydrolyse des céphalosporines; - Inhibition par le clavulanate mais pas par l'aztréonam	CepA
2f	2f	A	Carbapénèmes	Variable	Non	Hydrolyse des carbapénèmes, oxyimino- $\beta$ -lactamines et céphamycines	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapénèmes	Non	Oui	Hydrolyse à large spectre incluant les carbapénèmes mais pas les monobactames	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapénèmes	Non	Oui	Hydrolyse préférentielle des carbapénèmes	CphA, Sfh-1
NI	4	inconnu					

## ANNEXE II

Hôpital :

<b>Code :</b>	<b>Hôpital :</b>	<b>Service :</b>	<b>Salle :</b>
<b>Date d'admission :</b>		<b>Motif d'admission :</b>	
<b>Age :</b>	<b>Sexe :</b>	<b>Cathéter :</b> oui / non	
<b>Grossesse à terme : oui / non</b> <b>Nbre de semaines :</b>		<b>Prématuré : oui/non</b> <b>Nbre de semaines :</b>	
<b>Type d'accouchement :</b> <b>Voie basse</b> <b>césarienne</b>		<b>Allaitement maternel:</b> oui/non	<b>Poids à la naissance :</b>
<b>Jumeaux : oui/non</b>		<b>Malformation :</b> oui/non	<b>Maladies sous-jacente :</b>
<b>Prélèvement admission :</b>		<b>Date de prélèvement :</b>	
<b>Séjour en réanimation :</b>		<b>Date :</b>	<b>Hôpital :</b>
<b>Antécédents chirurgicaux :</b>		<b>Date :</b>	<b>Hôpital :</b>
<b>Patient transféré d'un autre service :</b>		<b>Date :</b>	<b>Service :</b>
<b>Patient transféré d'un autre hôpital :</b> oui / non		<b>Date :</b>	<b>Hôpital :</b>
<b>Antibiothérapie :</b> oui / non	<b>Date :</b>	<b>ATB administrés :</b>	

## ANNEXE III

**Tableau I : Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée, en g/L) (Guiraud, 2003)****Bouillon nutritif :**

Peptone .....	10g
Chlorure de sodium .....	5g
Extrait de viande .....	5g

pH : 7,2

**Gélose Hektoen :**

Protéose peptone .....	12g
Extrait de levure .....	3g
Chlorure de sodium .....	5g
Thiosulfate de sodium .....	5g
Sels biliaires .....	9g
Citrate de fer ammoniacal .....	1.5g
Salicine .....	2g
Lactose .....	12g
Saccharose .....	12g
Fuchsine acide .....	0.04g
Bleu de bromothymol .....	0.065g
Agar .....	14g

pH : 7.5

**GéloseEMB :**

Peptone .....	10 g
Lactose .....	10 g
Phosphate bipotassique .....	2g
Eosine .....	0.4g
Bleu de méthylène .....	0.065g
Gélose .....	15g

pH : 7.1

**Gélose Mac Conkey :**

Peptone de caséine .....	17g
Peptone de viande .....	03g
Lactose .....	10g
Mélange de sels biliaires .....	1,5g
Chlorure de sodium .....	05g
Rouge neutre .....	0,03g
Cristal violet .....	0,001g

pH : 7,4

## Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de bœuf .....	3g
Hydrolysate de caséine .....	17, 5g
Amidon.....	1, 5g
Agar.....	17g

pH :7,4

## Gélose TSI(Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de bœuf .....	3g
Extrait de levure .....	3g
Peptone tryptique .....	20g
Chlorure de sodium .....	5g
Citrate ferrique .....	0.3g
Thiosulfate de sodium .....	0,3g
Lactose .....	10g
Glucose.....	1g
Saccharose.....	10g
Rouge de phénol.....	0,05g
Agar.....	12g

PH : 7.4

## Mannitol- Mobilité :

Peptone .....	20g
Nitrate de potassium.....	1g
Mannitol .....	2g
Rouge de phénol.....	0,04g

PH : 8,1

## Milieu de Citrate de Simmons :

Citrate de sodium .....	2g
Chlorure de sodium .....	5g
Sulfate de magnésium .....	0,2g
Phosphate monoammoniaque.....	...1g
Phosphate bipotassique .....	1g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar.....	15g

pH : 7.0- 7.2

## Bouillon nitraté :

Bouillon nutritif.....	1L
Nitrate de potassium .....	1g

## Eau peptoné :

Peptone exempte d'indole .....	15g
Chlorure de sodium .....	5g
pH : 7,2	

### Milieu Urée-Indole :

L-tryptophane .....	3g
Phosphate monopotassique .....	1g
Phosphate bipotassique .....	1g
Chlorure de sodium .....	5g
Urée .....	20g
Alcool à 95 .....	10ml
Rouge de phénol.....	0,025g
pH : 7	

### Milieu Clark-Lubs :

Peptone tryptique de viande.....	5g
Phosphate bipotassique .....	5g
Glucose.....	6g
pH : 7	

### Gélose nutritive :

Extrait de viande .....	5g
Peptone .....	10g
Chlorure de sodium .....	5g
Agar.....	20g
pH: 7	

### Composition des réactifs utilisés

#### Réactif de Griess (NRI et NRII) :

##### NRI :

Acide sulfanilique .....	0, 8ml
Acide acétique 5N .....	100ml

##### NRII :

Diméthylamine .....	0, 6ml
Acide acétique 5N .....	100ml

#### Réactif de Kovacs :

p-diméthylaminebenzaldéhyde .....	10ml
Acide chloridrique .....	50ml
Alcool amylique .....	150ml

#### Réactifs de Voges-Proskauer (VPI-VPII) :

##### VPI :

$\alpha$ -naphthol .....	6g
--------------------------	----

Alcool à 90° ..... 100 ml

**VPII:**

NaOH 4N

**Rouge de méthyle (RM) :**

Rouge de méthyle..... 0,5g

Alcool éthylique à 60% ..... 100 ml

## ANNEXEIII

**TABLEU II : Les milieux de culture et les réactives utilisés durant notre étude**

LES MILIEU UTILISENT	L'UTILISATION
Bouillon nutritif additionné de CTX et de VAN	Sélection des Bactéries résistantes au CTX et inhibition des bactéries à Gram positif
Bouillon nutritif additionné de CAZ et de VAN	Sélection des Bactéries résistantes au CAZ et inhibition des bactéries à Gram positif
Gélose Mac Conkey	Isolement des entérobactéries
Gélose Hektoen	Ré-isolement
EMB	purification des souches
Gélose nutritive	Conservation des souches
Gélose Mueller Hinton	Réalisation de l'antibiogramme
TSI	Etude de l'utilisation des sucres (saccharose, lactose, glucose), production de gaz, d'H <sub>2</sub> S
citrate de Simmons	Etude de l'utilisation du citrate comme seule source du carbone
Clark et Lubs	Etude de la voie de fermentation
Urée-Indole	Etude de la production d'uréase et d'indole

LES REACTIVES UTILISENT	L'UTILISATION
VP1, VP2	Révélation de la formation d'acétoïn
Mannitol mobilité	Etude de la production de mannitol et la mobilité
Rouge de Méthyle	Révélation de la formation d'acides mixtes
Réactif de Kovacs	Révélation de la production d'indole
TDA	Révélation de tryptophane désaminase

## ANNEXE IV

Tableau I : Liste des familles de quelques antibiotiques utilisées

Famille	Antibiotiques	Abréviation	Charge du disque µg	Marque
β-lactamines	Amoxicilline + Clavulanate	AMC	20 µg+10 µg	HIMEDIA®
	Céfotaxime	CTX	30 µg	HIMEDIA® BIO-RAD®
	Céftazidime	CAZ	30 µg	HIMEDIA®
	Céfépime	FEP	30 µg	HIMEDIA®
	Imipenème	IPM	10 µg	HIMEDIA®
	(Amoxicilline)	AX	15µg	HIMEDIA®
	Amikacine	AK	30 µg	HIMEDIA®
Aminosides	Tobramycine	TOB	30 µg	HIMEDIA®
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30 µg	HIMEDIA®
polypeptide	Colistine	CL	15µg	HIMEDIA®
aminoside	Gentamicine	GN	15µG	HIMEDIA®

Tableau II : Diamètres des zones d'inhibitions édités par le CFA-SFM- 2013

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µg)	Ø critique (mm)		Concentration critique µg /ml	
			S	R	S	R
Amoxicilline/Acide clavulanique	AMC	20/10	≥ 21	< 16	≤ 4/2	> 8/2
Céfotaxime	CTX	30µg	≥ 26	< 23	≤ 1	> 2
Céftazidime	CAZ	30µg	≥ 26	< 21	≤ 1	> 4
Céfépime	FEP	30 µg	≥ 24	< 21	≤ 1	> 4
Imipenème	IMP	10µg	≥ 24	<17	≤ 2	> 8
Amikacine	AK	30µg	≥ 17	< 15	≤ 8	> 16
Tobramycine	TOB	10µg	≥ 18	< 16	≤ 2	> 4
Gentamicine	GN	10µg	≥ 18	< 16	≤ 2	> 4
Acide nalidixique	NA	30µg	≥ 20	< 15	≤ 8	> 16
Colistine	CL	30µg	≥ 15	< 15	≤ 2	> 2

**Tableau III : Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI (CA-SFM, 1995)**

Solutions initiales mg/l	Solution mère ml	Volume du diluant (ml)	Concentrations obtenues (mg/l)	Concentrations finales (µg/l)
5120	1	7	640	64
5120	1	15	320	32
32	4	4	160	16
32	2	6	80	8
8	4	4	40	4

## ANNEXE V

**Tableau I : Résultats des tests d'identification de bacilles à Gram négatif les plus représentatifs**

CODE	NIT	LAC	H2S	CIT	VP	URE	IND	MAN	MOB	Espèce
SPM07CAZ	+	+	+	+	-	-	-	+	+	<i>Salmonella sp ; O9</i>
SPM07CTX	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM09CAZJ	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM09CAZR	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM09CTXJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM09CTXR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM12CAZJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM12CAZR	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM12CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM12CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM13CTXR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM13CTXJ	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM17CTXJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM17CTXR	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aerogenosa</i>
SPM20CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM20CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.oxytoka</i>
SPM20CAZAC	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM20CAZSC	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM21CTXRF	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM21CTXGR	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM22CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM22CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>k.gr47</i>
SPM23CAZGR	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM23CAZJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM24CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM32CTXJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM32CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.oxytoka</i>
SPM34CAZR	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>K.oxytoka</i>
SPM34CTXJ	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM34CTXRF	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM39CTXR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM39CAZR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM40CAZR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM40CTXR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM42CTXR+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>k.gr47</i>
SPM42CTXR-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	<i>k.gr47</i>

SPM42CAZJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM42CTXRSE	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM42CTXJSE	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>k.gr47</i>
SPM42CTXJAE	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM47CAZJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM47CAZR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM47CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM47CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM48CAZR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM49CAZJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	<i>E.sakazakii</i>
SPM49CAZR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.oxytoka</i>
SPM49CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.oxytoka</i>
SPM49CTXR	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM50CAZR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM50CTXJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM50CTXR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM51CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM51CTXJ	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	<i>Proteus pinnere</i>
SPM53CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM53CTXJ	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM56CAZR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM56CTXR	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.oxytoka</i>
SPM64CAZVF	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM61CAZV	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM64CTXR	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM64CAZV	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	<i>E.cloacae</i>
SPM64CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM65CTXVS1	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>K.pneumoniae</i>
SPM65CTXVS2	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM65CTXJ	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM67CTXJ	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	<i>k.gr47</i>
SPM67CTXR	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>
SPM67CAZJ	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	<i>E.coli</i>

**Tableau II : Profil de résistance aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération**

Code	Espèce	CTX	CAZ	AMC	SYNER GIE	AX	FEP	IMP	AK	TOB	GN	CL	NA
SPM07 CAZ	<i>Salmonella.sp</i>	23 I	2/S	21S	NON	13R	24S	26S	22S	22S	26S	20S	20S
SPM07 CTX	<i>E.coli</i>	22R	24S	21S	NON	6R	20R	38S	22S	30S	24S	12R	6R
SPM09 CAZR	<i>K.pneumoniae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	6R	27S	21S	30S	6R	13R	19R
SPM09 CTXJ	<i>E.cloacae</i>	6R	9R	6R	NON	6R	14R	27S	19S	26S	21S	16S	6R
SPM09 CTXR	<i>E.coli</i>	6R	6R	11R	NON	6R	10R	36S	20S	27S	6R	14R	6R
SPM12 CAZJ	<i>E.cloacae</i>	6R	12R	6R	NON	6R	19R	32S	21S	30S	6R	16R	19I
SPM12 CAZR	<i>E.cloacae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	16R	29S	24S	31S	6R	15S	17R
SPM12 CTXJ	<i>K.pneumoniae</i>	6R	10R	6R	NON	6R	19R	32S	18S	28S	7R	13R	19I
SPM12 CTXR	<i>K.pneumoniae</i>	13R	15R	16I	OUI	6R	19R	29S	20S	29S	12R	15S	16I
SPM13 CTXR	<i>E.coli</i>	11R	6R	8R	NON	6R	16R	30S	20S	28S	13R	13S	23S
SPM13 CTXJ	<i>E.coli</i>	14R	10R	16I	OUI	6R	21I	35S	22S	29S	16I	15S	30S

# Annexes

SPM17 CTXJ	<i>P.aerog nosa</i>	12R	13	6R	NON	6R	22I	30S	22S	32S	6R	14R	30S
SPM17 CTXR	<i>Paerog enosa</i>	11R	12R	6R	NON	6R	21I	15R	21S	32S	6R	7R	25S
SPM20 CTXJ	<i>E.sakaz akii</i>	6R	14R	6R	NON	6R	16R	29S	22S	32S	6R	16S	29S
SPM20 CTXR	<i>K.oxyto ka</i>	6R	14R	6R	NON	6R	16S	31S	21S	34S	19S	6S	30S
SPM20 CAZA C	<i>E.cloac ae</i>	13R	6R	16I	OUI	6R	22I	32S	23S	30S	20S	8R	26S
SPM20 CAZS C	<i>E.coli</i>	6R	6R	6R	NON	6R	6R	35S	19S	32S	21S	14R	6R
SPM21 CTXR F	<i>E.coli</i>	6R	6R	8R	NON	6R	15R	33S	18S	32S	21S	12R	6R
SPM21 CTXG R	<i>E.cloac ae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	13R	31S	18S	23S	6R	13R	6R
SPM22 CTXR	<i>E.sakaz akii</i>	8R	12R	6R	NON	6R	14R	24S	18S	17I	6R	6R	11R
SPM22 CTXJ	<i>k.gr47</i>	6R	14R	6R	NON	6R	16R	29S	19S	6R	6R	6R	29S
SPM23 CAZG R	<i>E.cloac ae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	11R	28S	20S	6R	21S	6R	16I
SPM24 CTXJ	<i>K.pneu moniae</i>	6R	14R	16R	OUI	6R	19R	27S	20S	6R	6R	6S	16I
SPM24 CTXR	<i>E.cloac ae</i>	14R	6R	16R	OUI	6R	19R	23S	21S	18S	21S	6S	25S
SPM24 CAZR	<i>E.cloac ae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	10R	27S	19S	6R	6R	6S	6R
SPM32 CTXJ	<i>E.cloac ae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	11R	25S	15I	6/R	6R	6S	7R
SPM32 CTXR	<i>K.oxyto ka</i>	6R	14R	6R	NON	6R	11R	23S	20S	6R	11R	6S	19R
SPM34 CTXJ	<i>E.coli</i>	13R	15R	16I	OUI	6R	16R	22I	20S	6R	16I	15S	6R
SPM34 CTXR F	<i>E.coli</i>	6R	6R	6R	NON	6R	7R	27S	19S	6R	8R	6R	6R
SPM39 CTXR	<i>E.coli</i>	6R	6R	7R	NON	6R	6/R	29S	18S	6R	8R	6R	6R
SPM40 CTXR	<i>E.coli</i>	6R	6R	6R	NON	6R	6R	31S	19S	6R	9R	8R	6R
SPM42 CTXR +	<i>k.gr47</i>	8R	10R	6R	NON	6R	10R	29S	19S	6R	18S	7R	19I
SPM42 CTXR- SPM42 CAZJ	<i>k.gr47</i>	14R	11R	6R	OUI	6R	12R	30S	18S	6R	16I	6R	18I
SPM42 CTXJS E	<i>E.sakaz akii</i>	6/R	15/R	6/R	OUI	6R	15/R	29/S	12R	6R	17I	6R	10R
SPM42 CTXJ AE	<i>k.gr47</i>	10R	6R	6R	NON	6R	12R	27S	10/R	6R	6R	6R	17R
SPM47 CAZJ	<i>K.pneu moniae</i>	10R	6R	6R	NON	6R	10R	28S	19/S	7R	8R	6R	12R
SPM47 CAZR	<i>E.cloac ae</i>	6R	6R	6R	NON	6R	9R	30S	18S	6R	17I	6R	6/R
SPM47 CTXJ	<i>K.pneu moniae</i>	12R	6R	6R	NON	6R	8R	29S	19S	7R	17I	6R	6R
SPM47 CTXR	<i>K.pneu moniae</i>	6R	15R	14R	OUI	6R	18R	30S	17S	8R	19S	6R	17I
SPM48 CAZR	<i>E.sakaz akii</i>	15R	6R	14R	OUI	6R	30S	28S	16I	7R	21S	6R	6R
SPM49 CAZJ	<i>E.coli</i>	6R	6R	7R	NON	6R	31S	27S	18S	16I	19S	6R	8R
SPM49	<i>E.sakaz akii</i>	6R	6R	7R	NON	6R	14R	28S	20S	7R	18S	6R	15R
SPM49	<i>K.oxyto</i>	6R	6R	8/R	NON	6R	13R	28S	20S	9R	6R	6R	12R



**Tableau III : Résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices**

Codes	Espèces	Synergie	CMI
07 CAZ	<i>Salmonella sp</i>	-	>16 µg/ml
09 CAZ J	<i>E. coli</i>	-	>32µg /ml
09 CAZ R	<i>K .pneumonie</i>	-	>32µg /ml
12 CAZ R	<i>E. cloacae</i>	-	>32µg /ml
12 CAZ J	<i>E.cloacae</i>	-	>32µg /ml
20 CAZ RSCN	<i>E .coli</i>	-	>32µg /ml
20 CAZ ACNR	<i>E.cloacae</i>	+	>32µg /ml
23CAZ J	<i>E.sakazakii</i>	-	>32µg /ml
23 CAZ GR	<i>E.cloacae</i>	-	>32µg /ml
34 CAZ R	<i>K .oxytoka</i>	-	>32µg /ml
39 CAZ R	<i>E.sakazakii</i>	-	>32µg /ml
40 CAZ R	<i>E .coli</i>	-	>32µg /ml
42 CAZ J	<i>E.sakazakii</i>	+	>32µg /ml
47 CAZ R	<i>K .pneumonie</i>	-	>32µg /ml
47 CAZ J	<i>E.cloacae</i>	-	>32µg /ml
48 CAZ R	<i>E .coli</i>	-	>32µg /ml
49 CAZ R	<i>K .pneumonie</i>	-	>32µg /ml
49 CAZ J	<i>E.sakazakii</i>	-	>32µg /ml
50 CAZ R	<i>K .pneumonie</i>	-	>32µg /ml
56 CAZ R	<i>E .coli</i>	-	>32µg /ml
61 CAZ VR	<i>E .coli</i>	+	>32µg /ml
64 CAZ V	<i>E .coli</i>	-	>32µg /ml
64CAZVF	<i>K .pneumonie</i>	-	>32µg /ml
67 CAZ J	<i>E .coli</i>	-	>32µg /ml

Tableau IV : Comparaison de nos résultats avec des résultats précédents

	Thème d'étude	Prévalence	Référence
Afrique	Portage fécal des entérobactéries résistants aux C3G au niveau de service pédiatrie et urgence d'hôpital d'AMIZOUR	23,88%	Cette étude
			(Isendah <i>et al.</i> 2012)
	L'évaluation du portage fécal des EBLSE chez des enfants, Guinée-Bissau	32,6%	
	La prévalence du portage d'EBLSE dans un hôpital pédiatrique (dépistage à l'admission) en Afrique	21,2 %	Andriatahina, 2010)
	La prévalence du portage d'EBLSE chez des enfants vivants dans un orphelinat au Mali	100%	(Tandé <i>et al.</i> 2009)
Asie	La prévalence du portage d'EBLSE à Madagascar	10,1%	(Herindrainy <i>et al.</i> 2011).
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE dans un hôpital de Hong Kong	43,5%	(Lo <i>et al.</i> 2010).
Europe	La prévalence du portage fécal d'EBLSE dans une étude israélienne	8%	(Friedmann, 2009)
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE en Arabie Saoudite.	26,1%	(Kader, 2007)
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE en France	4,6%	(Birgy <i>et al.</i> , 2012).
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE au Portugal chez des enfants sains	2,6%	(Guimaraes <i>et al.</i> 2009)
	En Espagne	7,0%	(Valverde <i>et al</i> 2003)
Turquie	l'évaluation prospective de la prévalence et des facteurs de risques importants pour le portage fécal d'EBLSE chez des enfants hospitalisés et en ambulatoire à Eskisehir en Turquie	24,4% hospitalisés	(Kiremitçiet <i>al.</i> , 2011)
	La prévalence du portage fécal d'EB-BLSE comportant les adultes et les enfants	47% hospitalisés	(Kurt-Azap <i>et al.</i> 2007)
Bolivie et Pérou	La prévalence du portage fécal d'EB-BLSE des enfants sains	0,1%.	(Pallecchi <i>et al.</i> 2004)

**Tableau V : Répartition des souches isolées par espèce**

Souche	<i>E.coli</i>	<i>E.cloacae</i>	<i>k.pneumonie</i>	<i>E.sakazakii</i>	<i>k.oxytoca</i>	<i>k.de</i> groupe 47	<i>P.pinneri</i>	<i>salmonella</i>
Nb de souches C3G « R »	20/67	14/67	13/67	7/67	6/67	5/67	1/67	1/67
% de résistance	29.85%	20.89%	19.40%	10.44%	8.95%	7.46%	1.49%	1.49%

**ANNEX VI**✓ **le Sexe****Tableau N°I : Fréquence des EBLSE selon le sexe.**

SEXE	Souche Résiste	Souche Sensible	total	Taux de résistance
féminin	06	21	27	37.5%
masculin	10	30	40	62.5%
total	16	51	67	100%

Nous notons par H0 l'hypothèse que la répartition des EBLSE selon le sexe est la même que celle de la population totale.

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil  $\alpha=0,05$ , on peut valider l'hypothèse nulle H0.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est de 79,36%.

Alors, le sexe ne considéré pas comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE.

✓ **L'AGE****Tableau II : Fréquence des EBLSE selon l'âge**

âge	Souche Résiste	Souche Sensible	total	Taux de résistance
Nouveau-né	0	7	7	0%
Nourrissent	16	35	51	100%
enfant	0	9	9	0%
total	16	51	67	100%

Nous notons par H0 l'hypothèse que la répartition des EB-BLSE selon l'âge est la même que Celle de la population totale.

Khi <sup>2</sup> (Valeur observée)	6,594
Khi <sup>2</sup> (Valeur critique)	5,991
DDL	2
p-value	0,037
alpha	0,05

La valeur de X<sup>2</sup> observée sur la table pour ddl=1 est 3,84 qui correspond à 5% (0,05).

X<sup>2</sup><sub>obs</sub> < X<sup>2</sup> critique, donc H<sub>0</sub> est acceptée.

Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification alpha=0,05, on doit rejeter l'hypothèse nulle H<sub>0</sub>, et retenir l'hypothèse alternative H<sub>a</sub>.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H<sub>0</sub> alors qu'elle est vraie est inférieur à 3,70%.

Alors, dans notre étude l'âge est considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE.

## ✓ L'Antibiothérapie

**Tableau III** : Fréquence des EBLSE selon l'antibiothérapie.

ATB	Souche Résiste	Souche Sensible	total	Taux de résistance
Oui	2	5	7	9.80%
non	14	46	60	90.8%
total	16	51	67	100%

Nous posons H<sub>0</sub> l'hypothèse que la répartition des EBLSE selon l'antibiothérapie est la même que celle de la population totale.

Khi <sup>2</sup> (Valeur observée)	0,004
Khi <sup>2</sup> (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,950
alpha	0,05

La valeur de X<sup>2</sup> observée sur la table pour ddl=1 est 0.004 qui correspondent à 5% (0,05).

X<sup>2</sup> critique supérieur a X<sup>2</sup><sub>obs</sub>, donc H<sub>0</sub> est accepte

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil alpha=0,05, on peut valider l'hypothèse nulle H<sub>0</sub>.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H<sub>0</sub> alors qu'elle est vraie est de 95,04%.

.L'analyse statistique des données selon l'antibiothérapie ne révèle pas une différence significative Pour le taux de portage d'EBLSE

### ✓ Le mode d'accouchement

#### • Tableau IV : la fréquence des EBLSE selon le type d'accouchement

accouchement	Souches résistantes	Souches sensibles	total	Taux de résistances
Voie basse	9	13	22	56.25%
césarienne	7	38	45	43.75%
total	16	51	67	100%

Khi <sup>2</sup> (Valeur observée)	5,225
Khi <sup>2</sup> (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,022
alpha	0,05

Etant donné que la p-value calculée est inférieure au niveau de signification  $\alpha=0,05$ , on doit rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$ , et retenir l'hypothèse alternative  $H_a$ .

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$  alors qu'elle est vraie est inférieur à 2,23%. Alors, dans notre étude le mode d'accouchement est considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE.

### ✓ Le type d'allaitement

#### • Tableau V : la fréquence des EBLSE selon le type d'allaitement

allaitement	résiste	sensible	total	Taux de résistance
maternel	5	14	19	31.25%
mixte	5	18	23	31.25%
artificiel	6	19	25	37.5%
total	16	51	67	100%

Nous posons  $H_0$  l'hypothèse que la répartition des EBLSE selon l'allaitement est la même que celle de la population totale

Khi <sup>2</sup> (Valeur observée)	0,005
Khi <sup>2</sup> (Valeur critique)	5,991
DDL	2
p-value	0,998
alpha	0,05

La valeur de  $X^2$  observée sur la table pour  $ddl=1$  est 0.005 qui correspondent à 5% (0,05).

$X^2$  critique Supérieur à  $X^2_{obs}$ , donc  $H_0$  est acceptée

Etant donné que la p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil  $\alpha=0,05$ , on peut valider l'hypothèse nulle  $H_0$ .

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle  $H_0$  alors qu'elle est vraie est de 99,75%. L'analyse statistique des données selon l'allaitement ne révèle pas une différence significative Pour le taux de portage d'EBLSE

## Résumé

**But :** Le but de cette étude est d'évaluer le portage fécal des entérobactéries résistantes aux Céphalosporines de troisième génération chez des enfants moins de 5 ans admis au niveau des services de pédiatrie et d'urgence d'hôpital d'Amizour.

**Matériel et méthodes :** Des écouvillonnages rectaux sont réalisés chez 67 enfants. L'identification des isolats a permis d'étudier la sensibilité aux antibiotiques par l'antibiogramme, La détection des BLSE par le test de synergie et la réalisation d'autres tests (CMI). L'analyse statistique est utilisée pour déterminer les associations possibles entre les facteurs de risque et les EBLSE Identifiées.

**Résultats :** Sur 69 souches de bacilles à Gram négatif identifiées, 67 souches d'entérobactéries sont isolées présentant des taux importants de résistance vis-à-vis des C3G avec 16 souches BLSE. L'espèce retrouvée majoritaire est *E. coli* dans les deux services. Le phénotype le plus retrouvé est BLSE de type CTX-M. La résistance associée à d'autres antibiotiques est également enregistrée.

**Conclusion :** La prévalence des porteurs d'EBLSE est de 33%. Les deux facteurs de risque déterminés sont bien le mode d'accouchement et l'âge.

**Mots clés :** Portage fécal, enfants, hôpital, entérobactéries, BLSE.

## Abstract

**Purpose:** The purpose of this study is to assess the faecal carriage of Enterobacteriaceae resistant Third-generation cephalosporins in children under 5 years admitted in pediatric wards and hospital emergency Amizour

**Materials and methods:** Rectal swabs were performed in 67 children. The identification of isolates was used to study the sensitivity to antibiotics susceptibility testing, detection of ESBLs by the synergy test and the achievement of other tests (CIM). Statistical analysis is used to determine possible associations between risk factors and ESBL Identified.

**Results:** Of 69 strains of Gram-negative bacilli identified 67 strains of Enterobacteriaceae are isolated with high rates of resistance vis-à-vis 3GC with 16 ESBL strains. The species is *E. coli* found majority in both services. The most phenotype is found ESBL CTX-M. The resistance associated with other antibiotics is also recorded.

**Conclusion:** The prevalence of ESBL carriers is 33%. The two identified risk factors are the mode of delivery and age.

**Keywords:** Portage fecal, children, hospital, Enterobacteriaceae, ESBL.