

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

Université Abderrahmane Mira de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie

Mémoire de Fin de Cycle

*En vue de l'obtention du diplôme Master en
Microbiologie Moléculaire et Médicale*

Thème

**Etude du portage fécal des entérobactéries
résistantes aux céphalosporines de troisième
génération chez des patients admis dans le
service de pédiatrie de l'hôpital Khellil
Amrane de Bejaia.**

Réalisé par :

M^{elle} : Boukhanoufa Fahima

Membres du jury :

Président : M. Touati A.

Promoteur : M^{me} Gharout A.

Examineur : M^{me} Zenati K.

Examineur : M^{elle} Tafoukt R.

Année Universitaire : 2013 / 2014

Remerciement

✎ Tout d'abord, je remercie Dieu, le Généreux qui a enseigné à l'homme ce qu'il ne savait pas et aussi de nous avoir donné la force afin d'accomplir ce modeste travail.

✎ Je tiens à remercier ma promotrice, Mme GHAROUT Alima, de m'avoir encadré, orienté, encouragé, et pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire.

J'adresse mes vifs remerciements :

✎ Aux membres du jury pour l'examen et l'évaluation de notre travail.

✎ A La Direction de l'hôpital de Khellil Amrane, pour son accueil au sein de ses locaux sur une période de trois mois et d'avoir mis à ma disposition le personnel et les équipements du laboratoire.

✎ A Mr. Ben Said, pour leurs aides et leurs conseils.

✎ A Madame Azouaou, Chef de service de laboratoire de l'hôpital Khellil Amrane pour ses conseils d'ordres techniques.

✎ A Mr. Bourai pour ses conseils d'application et les diverses consignes qu'il a eu l'occasion de m'inculquer.

✎ A L'équipe du laboratoire de Microbiologie de l'université (enseignants, doctorants, ingénieurs et étudiants) pour leur soutien et pour le matériel mis à notre disposition.

✎ A Tous les enfants hospitalisés ayant participé à cette étude, en particulier ceux qui ont contribué dans la collecte des échantillons.

✎ A Tous ceux et celles qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire. Qu'Allah le clément et miséricordieux vous accorde son aide dans tous vos projets et toute votre vie quotidienne.

Merci.

Dédicace



Je dédie ce travail

À mon père que dieu tout puissant ait pitié de son âme et l'accueil dans son vaste paradis.

À ma mère, la lumière de ma vie, qui m'a toujours soutenu en toutes circonstances qui me donnent la force et la volonté d'avancer.

À mes frères Mahmoud, Hamza, Mouloud, Khaled et Mokrane et mes sœurs Naima, Nouria, Houria qui m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés rencontrées au cours de mes années d'études avec leurs patiences et leurs encouragements.

À tout les membres de ma famille petit et grand.

À tous mes amis qui m'ont encouragé et soutenu en particulier Narimane, Amina, Fouzia, Djouhra, Kahina, Sid ali, Meriem, Safia et surtout Katia.

Sans oublier tous les étudiants de la promotion MMM 2014.

*Pour votre irremplaçable et inconditionnel
Soutien,*

Pour vos encouragements, vos conseils

Pour votre confiance,

Pour avoir cru en moi,

Ce mémoire est le votre aussi..

Fahima.

Sommaire

- Liste des abréviations
- Liste des figures
- Liste des tableaux

Introduction

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

Matériel et méthodes

I.1. Recueil de données	5
I.2. Prélèvements	5
I.3. Isolement et Purification.....	5
I.4. Identification.....	5
I.5. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	6
I.5.1. Antibiogramme standard.....	6
I.5.2. Recherche de la production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE).....	7
I.5.3. Recherche de la production de carbapénémase.....	7
I.5.4. Détermination des CMI en milieu solide.....	8
I.6. Traitement statistique des données.....	9

Résultats et discussions

I. Caractéristique de la population.....	10
I.1. Selon l'âge.....	10
I.2. Selon le sexe.....	10
II. Souches bactériennes isolées	10
III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	11
III.1. Résistances des souches isolées aux bêta-lactamines	11
III.1.1. Recherche de β -lactamases à spectre élargi (BLSE).....	12
III.1.2. Recherche de la production de Carbapénémase.....	13
III.1.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices.....	13
III.1.4. Dédution des phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	14

III.2. Résistances aux autres familles d'antibiotiques.....	15
IV/Portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE(EBLSE).....	16
IV.1.Portage fécal d'EBLSE identifiées.....	16
IV.2. Portage fécal d'EBLSE selon le sexe.....	17
IV.3. Portage fécal d'EBLSE selon l'âge.....	17
IV.4. Portage fécal d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure.....	17
IV.5. Portage fécal d'EBLSE selon l'antibiotique administré.....	18
IV.6.Portage fécal des EBLSE selon le type d'accouchement.....	18
IV.7. Portage fécal des EBLSE selon le motif d'admission.....	18
IV.8. Portage fécal d'EBLSE selon d'autres facteurs.....	19
V. Discussion générale.....	21
Conclusion générale.....	25
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

<i>N°</i>	<i>Tableau</i>	<i>Page</i>
I	Liste des antibiotiques testés.	7
II	Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI.	8
III	Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce.	12
IV	Critères de distinction des phénotypes de résistance probables.	14
V	Répartition des souches d'EBLSE selon l'âge.	17
VI	Types d'antibiotiques administrés.	18
VII	Répartition des EBLSE selon les motifs d'admission	19

Liste des figures

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Répartition des patients par tranche d'âge.	10
02	Répartition des souches isolées par espèce.	11
03	Résistance des souches isolées aux β -lactamines.	11
04	Images de synergie obtenues pour les souches P03 (CAZ) <i>E. coli</i> et P64 (CAZ) <i>Citrobacter sp.</i>	13
05	Test de Hodge négatif pour la souche P10M (CAZ) <i>Enterobacter sp.</i>	13
06	Les phénotypes de résistance probables pour les souches résistantes aux C3G	15
07	Taux de résistance aux autres antibiotiques des souches résistantes aux C3G.	15
08	Répartition des souches d'EBLSE par espèce.	16
09	Répartition des souches d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure	17
10	Répartition des souches d'EBLSE selon le type d'accouchement.	18

Liste des Abréviations

AK : Amikacine.
AMC : Amoxicilline / Acide clavulanique.
ATB : Antibiotique.
BLSE : β -Lactamases à Spectre Elargi (ou Etendu).
BMR : Bactéries Multi-Résistantes.
CAZ : Céfotaxime.
CTX : Céfotaxime.
COT: Co-trimoxazole.
CIT : Citrate de Simmons.
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
C3G: Céphalosporines de troisième génération.
C4G: Céphalosporines de quatrième génération.
CHU: Centre Hospitalo-universitaire.
CMI: Concentrations Minimales Inhibitrices.
CTX-M: Céfotaximase Munich.
DD-Test: Double-Disc Test.
E-BLSE : Entérobactéries productrices de β - lactamases à spectre élargi.
EMB: gélose Eosin Methylene Blue.
FEP: Céfépime.
F : Féminin.
H₂S : Hydrogène Sulfuré.
IND: Indole.
IPM: Imipénème.
I: Intermédiaire.
GLU: Glucose.
LPS: Lipo-polysaccharide.
LAC: Lactose.
MH: Mueller Hinton.
MAN: Mannitol.
MOB: Mobilité.
M : Masculin.
NA: Acide nalidixique.
NR: Nitrate Réductase.
PLP : Protéines Liant les Pénicillines.
R : Résistant.
RM: Rouge de Méthyle.
S: Sensible.
SHV: sulfhydryl-variable.
TEM: Temoniera.
TOB: Tobramycine.
TSI: Three Sugar and Iron.
UFC : Unité Formant Colonie.
URE: Uréase.
VP: Voges- Proskauer.
VIM : Verona integron-encoded M β L.

La flore intestinale appelée aussi le microbiote intestinal, représente l'ensemble des bactéries peuplant notre tractus digestif ((Doré et Corthier, 2010). Sa subsistance est assurée par nos résidus alimentaires, nos sécrétions ainsi que par la desquamation de nos tissus (Corthier, 2007). Le microbiote intestinal est un écosystème extrêmement complexe, comportant environ 10^{14} micro-organismes recouvrant près de 400 espèces bactériennes. Cet écosystème microbien est un élément actif de la physiologie intestinale, ayant de nombreuses fonctions importantes pour son hôte, consistant en des fonctions métaboliques, de flore de barrière et de stimulation du système immunitaire intestinal (Palmer *et al.*, 2007).

La formation de cet écosystème débute très rapidement après la naissance, deux périodes critiques apparaissent pour la colonisation de l'intestin : la période allant de la naissance à la diversification alimentaire et la période se situant autour de la diversification alimentaire (Campeotto *et al.*, 2007).

Pendant les premières 48h, le nombre de bactéries qui colonisent le tube digestif du nouveau-né nourri au sein arrive rapidement à un taux de 10^{11} bactéries par gramme du contenu colique, cette colonisation est indépendante du type d'alimentation et des conditions environnementales et de la prescription éventuelle d'antibiotiques (Campeotto *et al.*, 2007). La flore qui s'implante chez les nouveau-nés allaités naturellement est moins diversifiée que celle des nouveau-nés nourris au lait artificiel (Ducluzeau, 1993). Elle est retardée chez les enfants nés par césarienne, qui rencontrent majoritairement en premier lieu les bactéries de leur environnement: air et personnel soignant. Ce retard de colonisation est encore plus important chez le prématuré et a pour conséquence l'implantation de la mauvaise flore (Gewolb *et al.*, 1999). Une flore complexe et stable, proche de celle de l'adulte, ne semble être obtenue qu'entre 2 et 4 ans (Kleessen *et al.*, 2000). Vers l'âge de 2 ans, parallèlement à la diversification alimentaire, une modification progressive de la flore tend vers celle de l'adulte et est qualifiée de "flore normale".

Les fonctions de la flore sont multiples. Une des fonctions majeures est son rôle métabolique par la fermentation au niveau colique des substrats d'origine endogène ou exogène et non absorbés dans l'intestin grêle. À côté de ce rôle métabolique, la microflore intestinale joue un rôle majeur dans la résistance à la colonisation des bactéries exogènes qu'elles soient à potentialité pathogène ou non. Cette fonction de barrière est essentielle car elle maintient un équilibre relativement stable dans la microflore du tube digestif (Campeotto *et al.*, 2007).

La découverte des antibiotiques par Alexander Fleming en 1929 est l'une des plus grandes avancées en science médicale (Martinez, 2009). Depuis leur utilisation, Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en pratique clinique (Bassetti et al., 2008). Vue la grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leur large utilisation, seules ou en associations (Cavallo et al., 2004).

Les bactéries évoluent rapidement non seulement par mutation et multiplication mais également par acquisition de matériel génétique exogène. La résistance par accumulation de mutations est supposée présenter un risque minimum de dissémination des gènes, alors que la résistance par acquisition de gènes exogènes a un fort potentiel de diffusion car elle est dans la plupart des cas portée par des éléments génétiques mobiles. Ces dernières années ont été marquées par l'expansion, dans le monde entier, de souches bactériennes résistantes par production d'enzymes inactivant les β -lactamines : les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Décrites initialement en milieu hospitalier, ces souches sont maintenant clairement installées en milieu communautaire (Chavane, 2011).

La résistance aux antibiotiques est un problème croissant de santé publique car, dans plusieurs espèces pathogènes, certaines souches ne sont plus sensibles qu'à un très faible nombre d'antibiotiques. Chez le nouveau-né, dès la naissance son tractus intestinal est occupé par la flore saprophyte, en maintenant un certain équilibre écologique cette flore inhibent la croissance et le développement des bactéries pathogènes notamment les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (Guediche, 1990).

Les premières BLSE ont été mises en évidence en Allemagne et en France en 1984 (Sirot et al., 1987 ; Anastay et al., 2013). Elles dérivait des bêta-lactamases de type TEM ou SHV-1 par mutation ponctuelle et ont été décrites initialement chez *Klebsiella pneumoniae* (TEM3, SHV- 2). Plus d'une centaine de variétés de TEM et de SHV ont été décrites par la suite. Plus récemment de nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases ont émergé : en majorité les enzymes de type CTX-M conférant un plus haut niveau de résistance au céfotaxime qu'à la céftazidime. Les gènes des CTX-M proviennent de bactéries de l'environnement. Ces enzymes de type CTX-M ont eu un fort succès épidémiologique et ont diffusé dans le monde entier (Nicolas-Chanoine, 2012).

La Résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases compte tenu de la complexité du mécanisme d'action, la résistance naturelle ou acquise aux β -lactamines est

caractérisée par au moins quatre mécanismes, enzymatiques ou non, qui peuvent par ailleurs être combinés :

- modification de la cible, ce qui génère des PLP mutées et diminution de l'affinité tout en maintenant leur activité biologique normale;
- diminution de la perméabilité de la membrane externe par modification des porines ;
- expression d'une pompe d'efflux actif permettant d'expulser l'antibiotique hors de la cellule ;
- et enfin inactivation enzymatique par des β -lactamases (Cavallo *et al.*, 2004 ; Jacob, 2011).

Les deux classifications couramment utilisées pour « classer » les β -lactamases sont celle d'Amblar et celle de Bush Jacoby et Medeiros (Vodovara *et al.*, 2012) dont la classification moléculaire d'Amblar qui classe les β -lactamases dans quatre classes: trois classes d'enzymes sérine-dépendantes (classes A, C, et D) et une classe de métallob-lactamases (classe B). Bush a proposé une classification fonctionnelle complète des β -lactamases en 1989, qui a été remise à jour en 1995 (Wright, 2005). Cette classification vient d'être remise à jour pour une seconde fois en 2009. Ce nouveau système de classification fonctionnelle subdivise les β -lactamases bactériennes en trois groupes possédant une série de sous-groupes: le groupe 1 (classe C) des céphalosporinases, le groupe 2 (classe A et D) des inhibiteurs résistants à large spectre, des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénèmases à sérine, et le groupe 3 (classe B) réunissant les métallob-lactamases, le groupe 4 existant dans la classification de Bush *et al.* en 1995 à été éliminé (Bush et Jacoby, 2010).

Les entérobactéries sécrétrices de BLSE (EB-BLSE) sont à l'origine d'infections potentiellement sévères et de prescriptions d'antibiotiques à large spectre bactérien. La prévalence de ces EB-BLSE est en constante augmentation (Vodovar *et al.*, 2012). La diffusion des EB-BLSE concernait essentiellement le milieu hospitalier où l'espèce la plus fréquemment isolée était *Klebsiella pneumoniae*, mais des données épidémiologiques soulignent l'augmentation des infections liées à *Escherichia coli* sécrétrices de BLSE, notamment en milieu communautaire (Guillet *et al.*, 2010), car tout comme chez le nouveau-né et chez l'adulte, *E. coli* est devenue progressivement l'espèce bactérienne la plus souvent impliquée (Stoll *et al.*, 2002).

La prévalence du portage fécal de EB-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). En France, les études réalisées font état d'une

prévalence de 10,8% (Guillet *et al.*, 2010). En Asie, la situation est plus contrastée avec une prévalence qui varie de 6,4% au Japon , à près de 30% en Thaïlande (Luvsansharav *et al.*, 2011). Au Madagascar, le taux d'incidence a été estimé à 3,1% (Andriatahina *et al.*, 2010).

Puisque le portage digestif est un facteur clé dans l'épidémiologie de l'infection à EB-BLSE (Valverde *et al.*, 2008), le dépistage de patients admis dans l'hôpital se révèle intéressant afin de limiter le risque d'infection par ces germes multirésistants et limiter leur diffusion dans le milieu hospitalier et communautaire.

C'est dans cette optique qu'on s'est intéressé à la recherche du portage fécal des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération isolées chez des patients admis au niveau du service de pédiatrie du CHU de Bejaia, sur une période de 96 jours, soit du 09 Février au 15 Mai 2014.

Pour cela, nous avons opté pour le plan suivant :

- Prélèvements par écouvillonnage rectal.
- Isolement et identification des souches d'entérobactéries.
- Etude de la sensibilité de ces souches vis-à-vis du céfotaxime et de céftazidime,
- Recherche de production de BLSE sur gélose Mueller-Hinton.
- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques par un antibiogramme.
- Recherche de la production de carbapénémases en utilisant le hodge-test.
- Détermination des CMI vis-à-vis de la céftazidime.
- Dédution des phénotypes probables des souches isolées.
- Traitement statistique des données
- Discussion générale des résultats obtenus.

I.1. Recueil de données

Notre étude s'est déroulée durant la période allant du 09 Février 2014 au 15 Mai 2014 au sein du CHU de Bejaia Khellil Amrane. L'étude est effectuée chez les nouveau-nés, nourrissons et enfants admis dans le service de pédiatrie du CHU de Bejaia. Un questionnaire (Annexe I) est soigneusement rempli d'après le dossier du malade, auprès du personnel soignant ainsi qu'auprès du garde malade, afin de recueillir certaines informations susceptibles d'être utiles pour l'identification des facteurs de risque de l'acquisition d'EBLSE chez les enfants admis dans le service de pédiatrie.

I.2. Prélèvements

Des écouvillonnages rectaux sont effectués chez 70 enfants. Les prélèvements recueillis sont immédiatement acheminés au laboratoire pour qu'ils soient analysés. Les prélèvements effectués sont à visée écologique.

I.3. Isolement et Purification

Chaque écouvillon estensemencé dans deux tubes de bouillon nutritif additionnés pour l'un de Céfotaxime (2 μ g/ml) et pour l'autre de Céftazidime (4 μ g/ml), servant à sélectionner ainsi les souches de bacilles à Gram négatif résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération. La Vancomycine (8 μ g/ml) est ajoutée dans tous les tubes pour éliminer les bactéries à Gram positif. Ces tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48 h.

Pour l'isolement des souches d'entérobactéries, des milieux de culture sélectifs pour les entérobactéries sont utilisés (EMB, Mac Conkey ou Hektoen), sachant que la gélose de sélection est additionnée de CTX (4 μ g/ml) et/ou de CAZ (8 μ g/ml).

Après 24h d'incubation, on examine l'aspect des colonies ayant poussées sur la gélose Mac Conkey. Les colonies présentant des aspects différents sont sélectionnées et purifiées sur gélose EMB ou Hektoen. Ces boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h.

I.4. Identification

Lorsque la culture est pure, l'identification des entérobactéries est réalisée sur la base de : la coloration de Gram et la galerie biochimique. Cette dernière comprend plusieurs tests présentées dans le tableau II (Annexe II) (Denis *et al.*, 2007).

I.5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Les souches purifiées et identifiées ont été testées vis-à-vis d'un ensemble d'antibiotiques (tableau N°I). La sensibilité des souches aux antibiotiques est évaluée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013).

I.5.1. Antibiogramme standard

- **Milieu**

Nous avons utilisé la gélose Mueller Hinton (Annexe II). L'épaisseur de la gélose est de 4 mm. Après avoir coulé la gélose, les boîtes sont séchées afin d'éliminer l'excès d'humidité.

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 18 à 24h sur gélose non sélective, on réalise une suspension en dissociant 3 à 4 colonies dans 5 ml d'eau physiologique stérile. Une dilution 10^{-1} est réalisée (équivalente à 10^7 UFC/ml).

- **Ensemencement**

Un écouvillon stérile est 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. Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C . La liste des d'antibiotiques à tester est donnée dans le tableau N°I.

- **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 (CA-SFM, 2013) (Annexe III).

Tableau N°I : Liste des antibiotiques testés

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Charge de disque µg	Marque
β-lactamines	Amoxicilline + Clavulanate	AMC	20 µg et 10 µg	CYPRESS DIAGNOSTICS
	Céfotaxime	CTX	30 µg	CYPRESS DIAGNOSTICS
	Céftazidime	CAZ	30 µg	CYPRESS DIAGNOSTICS
	Céfépime	FEP	30 µg	CYPRESS DIAGNOSTICS
	Imipénème	IMP	10 µg	Bio-Rad
Aminosides	Amikacine	AMK	30 µg	CYPRESS DIAGNOSTICS
	Tobramycine	TOB	30 µg	HIMEDIA
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30 µg	Bioanalyse®
Sulfamides	Co-trimoxazole	COT	25 µg	HIMEDIA

I.5.2. Recherche de la production de β-lactamases à spectre étendu (BLSE)

La production d'une BLSE est mise en évidence par le test de synergie qui consiste à placer des disques de CAZ, CTX (30µg chacun) à une distance de 20mm (centre à centre) d'un disque d'Augmentin (AMC : amoxicilline/clavulanate) (20 et 10 µg, respectivement). L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'Augmentin et les disques de céftazidime, céfotaxime indique la production probable d'une BLSE (Jarlier et al., 1988).

I.5.3. Recherche de la production de carbapénémases

La recherche de la production de carbapénémases a concerné les souches résistantes ou de sensibilité diminuée à l'imipénème. Nous avons réalisé le test de Hodge (Hodge et al., 1978). Ce test consiste à déposer un disque d'imipénème (10 µg) au centre d'une boîte de gélose Mac Conkey additionnée de poudre de zinc préalablementensemencée avec la souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922 (sensible à tous les antibiotiques). Ensuite la souche à tester, la souche témoin positif et la souche *Klebsiella pneumoniae* ATCC 1087 sont ensemencées sur la gélose sous forme de stries depuis le disque vers le bord de la gélose. Puis on imbibe avec 10µl de cloxacilline à 75µg/ml le disque d'imipénème, ensuite

on incube à 37°C/24H. La déformation de la zone d'inhibition à l'intersection entre une strie et la culture d'*E. coli* ATCC 25922 indique la présence d'une carbapénèmase, autrement dit, on aura la formation d'un trèfle (Vinoth et al., 2012).

I.5.4. Détermination des CMI en milieu solide

Les concentrations minimales inhibitrices sont déterminées pour 25 souches. L'antibiotique testé est la céftazidime par la méthode de dilution en milieu solide. La poudre d'antibiotique est dissoute dans de l'eau physiologie stérile et à partir de cette solution, on effectue des dilutions. Les dilutions utilisées sont résumés dans le tableau II.

Tableau N°II: 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/ml)
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

- **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, puis 10µl de cette dilution sont déposés 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.

- **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 prise en considération.

I.6. Traitement statistique des données

L'analyse des données obtenues par le questionnaire et la détermination des facteurs de risque est réalisée en utilisant le test exact de Fisher avec le logiciel statistique XLSTAT 2009 (Annexe V).

Le test exact de Fisher est employé pour déterminer si la distribution de deux fréquences est attribuable à l'erreur d'échantillonnage (le hasard) ou bien, suffisamment grande pour être statistiquement significative, c'est-à-dire liées à un facteur réel (l'âge, sexe,...).

I. Caractéristiques de la population

I.1. Selon l'âge

La figure 01 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). Un taux de 80% est observé pour les nourrissons (soit 56 nourrissons).

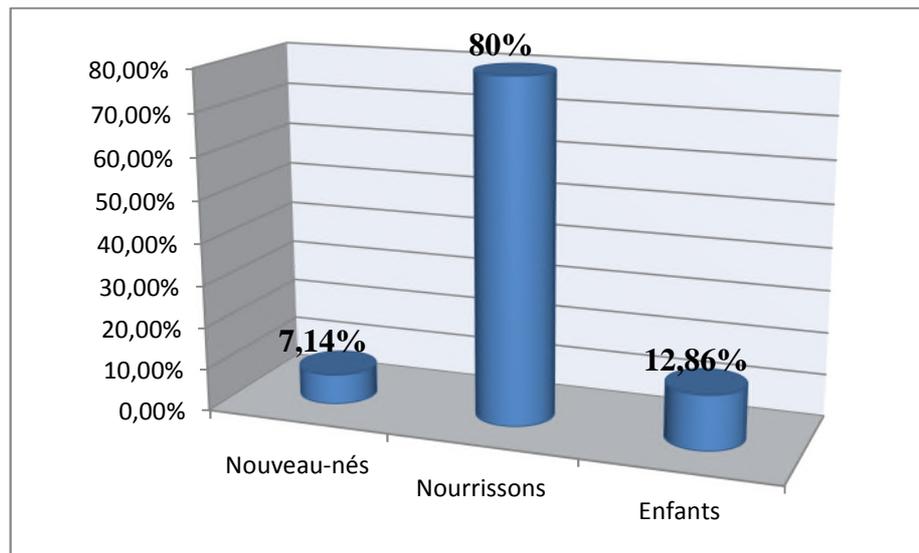


Figure 01 : Répartition des patients par tranche d'âge.

On remarque que le nombre d'hospitalisation le plus élevé est chez les Enfants d'âge compris entre 1 mois et 22 mois.

I.2. Selon le sexe

Le nombre de prélèvements effectués n'est pas homogène chez les deux sexes (masculin 60% (42/70), féminin 40% (28/70)).

II. Souches bactériennes isolées

Le nombre des souches d'entérobactéries isolées des écouvillonnages rectaux est de 40 souches. Ces souches sont isolées sur gélose Mac Conkey additionnée de CTX (4µg/ml) et/ou de CAZ (8µg/ml). Les résultats de l'identification sont donnés dans le tableau I (Annexe IV).

✓ Répartition des souches isolées par espèce

Sur les 70 prélèvements effectués, 40 souches sont isolées à partir de 37 prélèvements positifs. La figure ci-dessous montre la répartition des souches isolées par espèce.

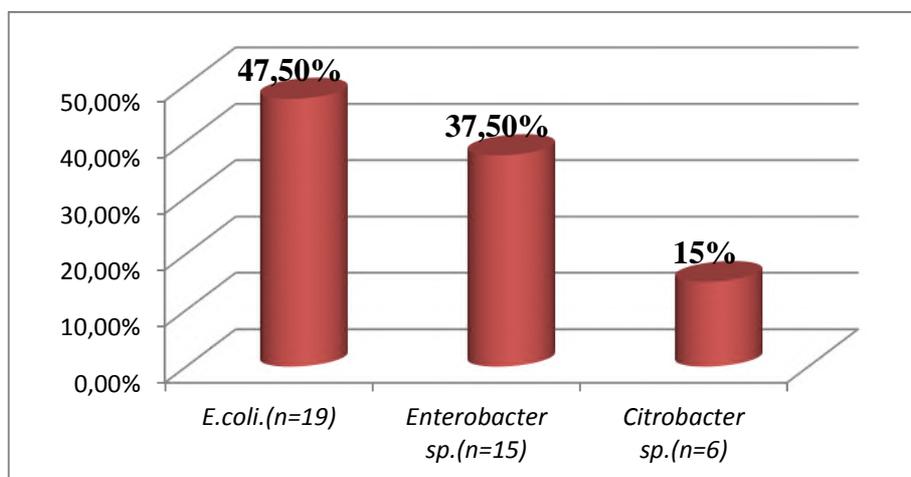


Figure 02 : Répartition des souches isolées par espèce.

La répartition des souches par espèce a montré que l'espèce la plus retrouvée est *E. coli* avec un taux de 47,50% suivi par *Enterobacter sp.* avec un taux 37,50%.

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

III.1. Résistance des souches isolées aux β -lactamines

Plusieurs antibiotiques de la famille des β -lactamines ont été testés sur les souches isolées. Les taux de résistance à cinq β -lactamines de l'ensemble des souches sont donnés dans la figure 03.

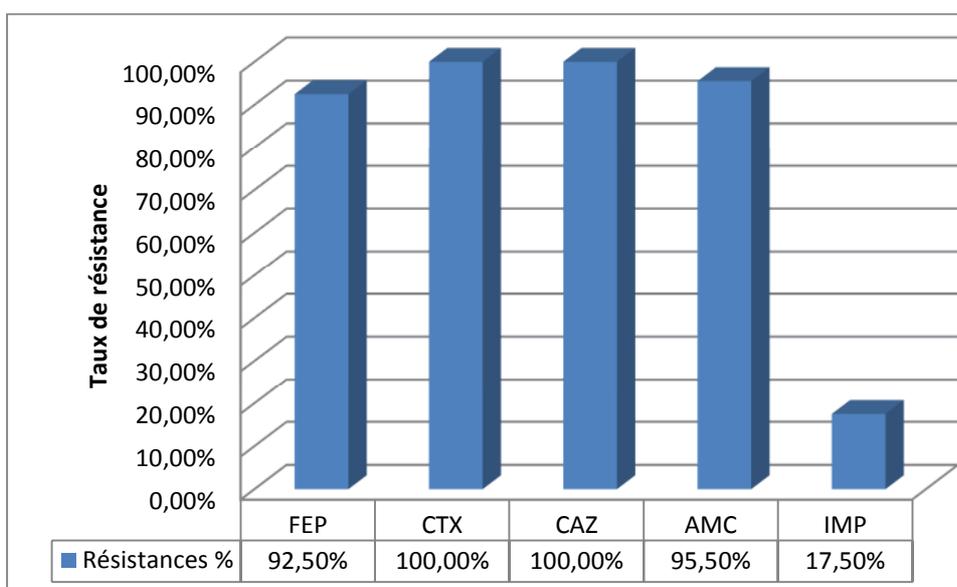


Figure 03 : Résistance des souches isolées aux β -lactamines.

Légende : CAZ : Céfotaxime, AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique, CTX : Céfotaxime, FEP : Céfépime, IPM : Imipénème.

D'après les résultats obtenus, nous notons une résistance importante vis-à-vis des C3G (Céfotaxime et Céfotaxime) avec un taux de 100%. Pour le C4G (Céfépime), un taux de 92,50% est enregistré. Un taux de 95% est observé vis-à-vis de l'Amoxicilline + Acide clavulanique. Enfin, 7 souches ont été retrouvées intermédiaire à l'imipénème.

✓ Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce

Le tableau III montre la répartition des souches résistantes aux C3G en fonction de l'espèce.

Tableau N° III : Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce.

Souche	<i>E. coli.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Citrobacter sp.</i>
Nombre de souches Résistantes aux C3G	19	15	6
Pourcentage de Resistance (%)	47,5	37,5	15

III.1.1. Recherche de β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

La recherche de la production d'enzymes BLSE a été effectuée pour l'ensemble des entérobactéries résistantes au Céfotaxime et/ou à la Céfotaxime.

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées est donné dans le tableau II (annexe IV).

Le DD-test effectué pour les souches isolées résistantes aux C3G a révélé la présence d'une image de synergie pour 29/40 souches (72,5%), ce qui indique la présence probable d'une β - lactamase à spectre étendu (BLSE). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau III (annexe IV). La disposition des disques de β -lactamines sur la gélose Mueller Hinton ainsi que la présence d'une image de synergie sont données dans la figure 04.



Figure 04 : Images de synergie obtenues pour les souches P03 (CAZ) *E. coli* et P64 (CAZ) *Citrobacter sp.*

III.1.2. Recherche de la production de carbapénèmases

Le test de Hodge réalisé chez les souches de sensibilité diminuée à l'imipénème est négatif chez toutes les souches testées, ce qui indique que ces dernières ne produisent pas une carbapénémase.

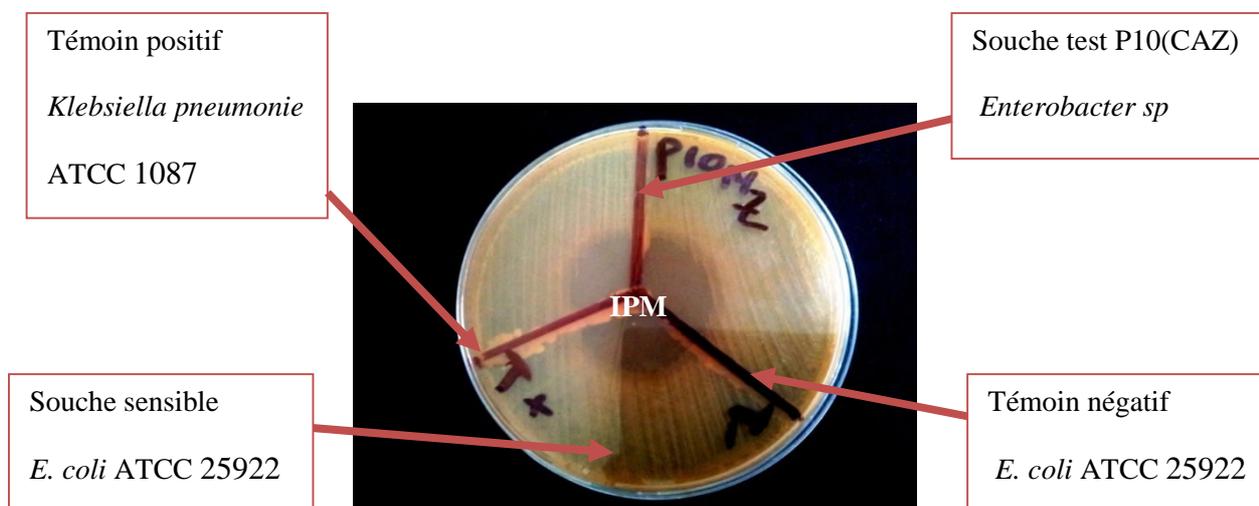


Figure 05 : Test de Hodge négatif pour la souche P10M (CAZ) *Enterobacter sp.*

III.1.3. Détermination des CMI

Nous avons testé les CMI de 25/40 souches isolées vis-à-vis de la Ceftazidime (CAZ). Les valeurs des CMI varient entre 4 μ g/ml et 64 μ g/ml. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau V (Annexe IV).

Les résultats obtenus montrent que la majorité des souches testées présentent des CMI de 16µg/ml.

III.1.4. Déduction des phénotypes de résistance aux β-lactamines

La déduction des phénotypes de résistance aux β-lactamines testées a été basée sur les critères suivants :

- Résistance au CTX et au CAZ (résistance aux deux molécules ou à une seule molécule).
- Résistance aux C4G.
- Présence ou absence de BLSE.

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

Tableau N°IV : Critères de distinction des phénotypes de résistance probables (Bonnet et al., 2006 cités 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

La figure 06 ci-dessous présente la fréquence des phénotypes de résistance observés avec les 40 souches isolées durant cette étude.

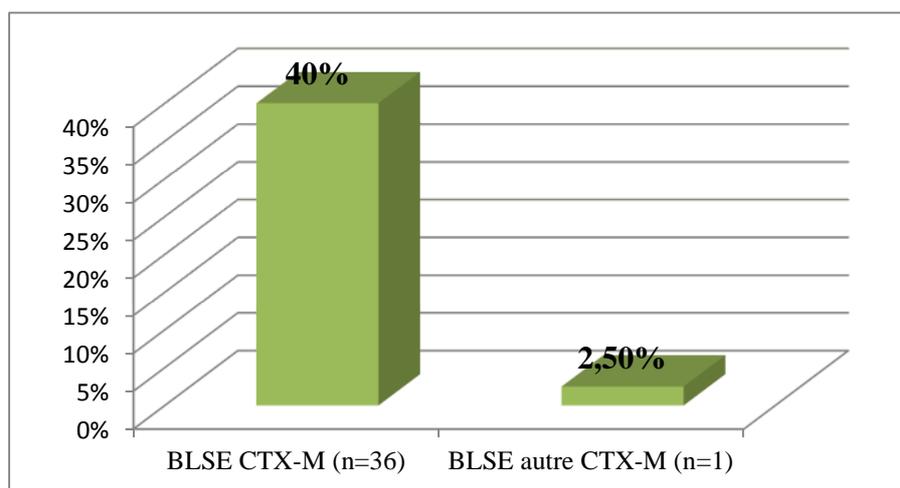


Figure 06 : Les phénotypes de résistance probables pour les souches résistantes aux C3G.

Cette figure montre la dominance du phénotype BLSE CTX-M 36/40 (40%). Le phénotype BLSE autre CTX-M est retrouvé faiblement avec un taux 2,5%. Enfin, 3 (7,50%) souches montrent un phénotype d'hyperproduction de céphalosporinase chromosomique.

III.2. Résistances aux autres familles d'antibiotiques

Des antibiotiques appartenant à des familles autres que les β -lactamines sont testés sur les souches isolées pour évaluer leur sensibilité vis-à-vis de ces antibiotiques et déterminer les résistances associées. La figure suivante montre la résistance des souches isolées vis-à-vis de 4 antibiotiques de familles différentes.

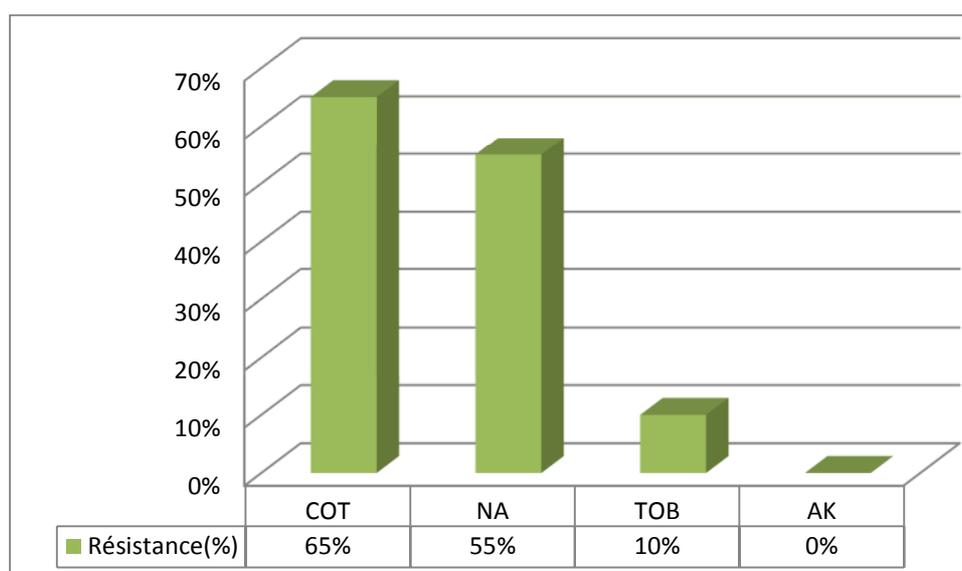


Figure 07: Taux de résistance aux autres antibiotiques des souches résistantes aux C3G.

Légendes : COT : Co-Trimoxazole, AK : Amikacine, AN : Acide nalidixique, TOB : Tobramycine.

Les aminosides sont représentés par deux antibiotiques qui sont la Tobramycine (TOB) et l'Amikacine (AMK). Une résistance est enregistrée pour la Tobramycine avec un taux de 10% (7/40). Aucune résistance n'est enregistrée vis-à-vis de l'Amikacine.

55% des souches d'entérobactéries isolées ont exprimé une résistance vis-à-vis des quinolones, et qui sont représentés par l'Acide nalidixique avec 40% (16/40) des souches sont productrices de BLSE.

Le taux de résistance au Co-trimoxazole (COT) est de 65% (26/40). Parmi ces souches 55% (22/40) sont productrices de BLSE.

Les souches productrices de BLSE expriment en parallèle une résistance à au moins un antibiotique d'une autre famille autre que les β -lactamines.

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

IV.1. Portage fécal d'EBLSE identifiées

Sur les 70 prélèvements réalisés, 40 souches ont été isolées et identifiées dont 29/40 (72,5%) souches sont productrices de BLSE.

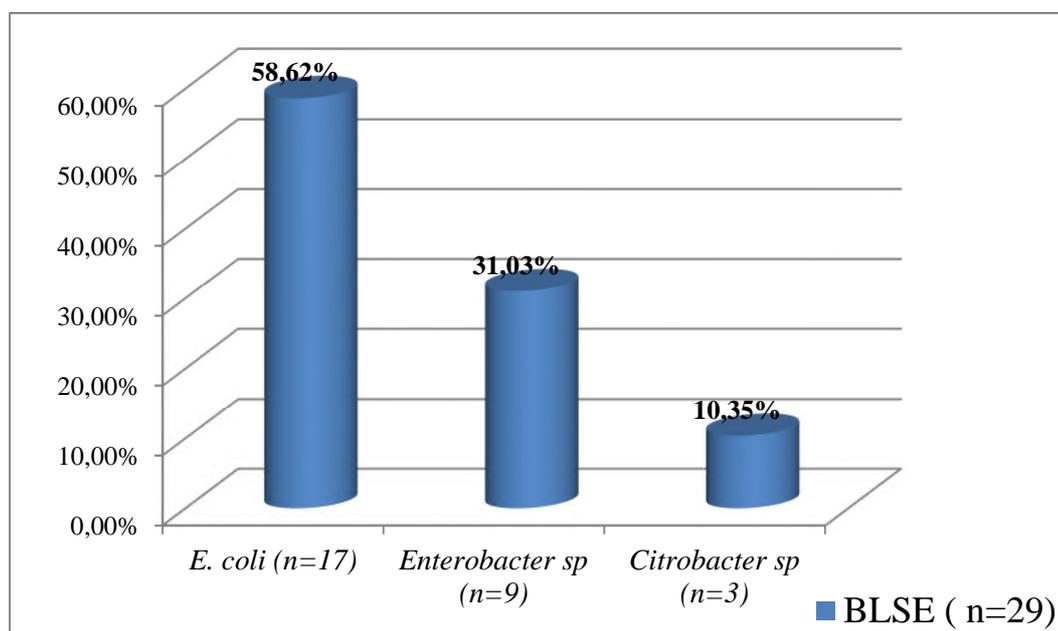


Figure 08 : Répartition des souches d'EBLSE par espèce.

La figure 08 montre une prédominance de *E. coli* (17/29) avec un taux de 58,62%, suivi par *Enterobacter sp.* (9/29) avec 31,03%.

IV.2. Portage fécal d'EBLSE selon le sexe

Le portage des EBLSE est plus élevé chez le sexe masculin avec un taux de 62,07% (18/29) que chez le sexe féminin avec 31,03% (11/29). L'analyse statistique des données effectuée par le test exact de Fisher révèle que le sexe n'est pas considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe V).

IV.3. Portage fécal d'EBLSE selon l'âge

Les EBLSE sont retrouvées à un taux élevé chez les nourrissons qui est de 86,20%. Le test exact de Fisher révèle que l'âge n'est pas considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe V). La répartition de ces EBLSE selon l'âge est illustrée ci-dessous.

Tableau N°V : Répartition des souches d'EBLSE selon l'âge.

	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Nouveau- nés	2	1	3	6,90%
Nourrissons	25	10	35	86,20%
Enfants	2	0	2	6,90%

IV.4. Portage fécal d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure

22,45 % (16/29) de souches productrices de BLSE sont identifiées chez des enfants avant l'hospitalisation durant cette étude. Selon le test exact de Fisher effectué pour l'analyse statistique, l'antibiothérapie n'est pas considérée comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE. La figure ci-dessous montre la répartition des EBLSE selon l'antibiothérapie préalable.

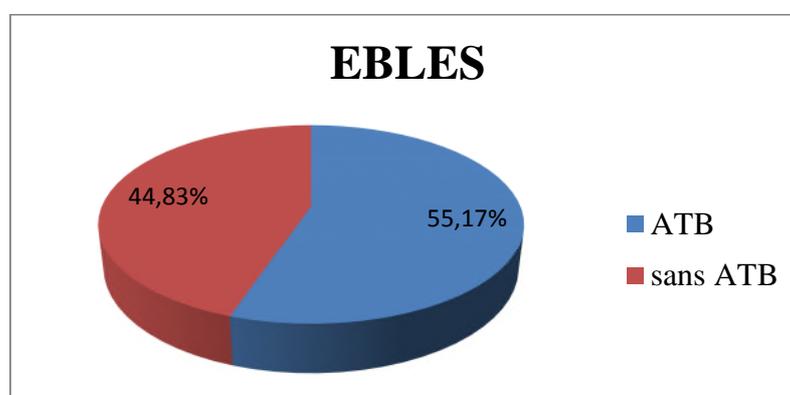


Figure 09 : Répartition des souches d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure.
Légende : ATB pour antibiothérapie, sans ATB pour sans antibiothérapie.

IV.5. Portage fécal des EBLSE selon l'antibiotique administré

L'antibiotique le plus prescrit est l'Amoxicilline avec un taux de 27,58%. Les taux des différents antibiotiques administrés sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau N°VI : Types d'antibiotiques administrés.

ATB	Amoxicilline	Gentamicine	Ampicilline	Amikacine
% d'administration	27,58%	24,13%	6,90%	3,45%

*il y a possibilité d'association de plusieurs antibiotiques chez certains patients.

IV.6. Portage fécal des EBLSE selon le type d'accouchement

La figure 10 montre le portage fécal des E-BLSE selon le type d'accouchement.

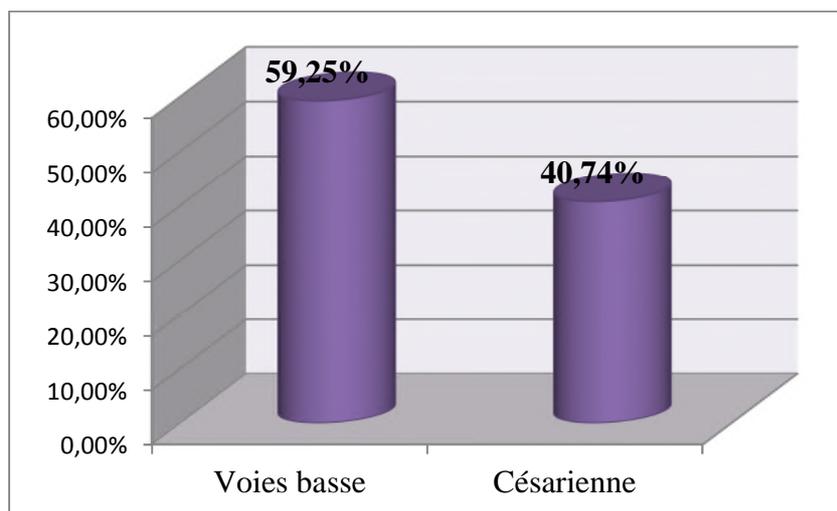


Figure10 : Répartition des souches d'EBLSE selon le type d'accouchement.

On remarque que le nombre d'E-BLSE est plus élevé chez les enfants nés par voie basse. L'analyse statistique des données faite par le test exact de Fisher nous révèle que le type d'accouchement dans notre étude est considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EB-BLSE.

IV.7. Portage fécal des EBLSE selon le motif d'admission

La présence d'EBLSE est plus importante chez les patients atteints de Bronchiolites. Nous notons que pour un même prélèvement, plusieurs EBLSE peuvent être retrouvées. Les différents motifs des 29 EBLSE sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau N°VII : Répartition des EBLSE selon les motifs d'admission.

Code	Motif d'admission	Code	Motif d'admission
P03Z	Bronchiolite modérée persistant	P05	Infection post-natal
P08	Bronchiolite modérée persistant	P13X	Bronchiolite+cardiopathie congénitale
P19	Syndrome infectieux	P20jX	Virose respiratoire
P24	Bronchiolite modérée persistant	P26X	Epanchement pleural droit liquidien
P28	Méningite lymphocytaire	P29	Bronchiolite aiguë
P30	Bronchiolite modérée persistant	P34	Bronchiolite modérée persistant
P40	Bronchiolite modérée persistant	P41	Bronchiolite+Ictère
P42	Détresse respiratoire+souffle cardiaque	P45	Convulsion
P46MX	Bronchiolite +diarrhée fibrille	P47	Bronchiolite modérée persistant
P52pX	Fièvre	P55	Pneumopathie
P56	Bronchiolite modérée persistant	P58	Bronchiolite modérée+cyanose péribuccale
P60	Crise d'asthme modérée a sévère	P61	Convulsion fébrile
P65	Bronchiolite modérée persistant	P67	Fièvre + anémie
P70	Méningite lymphocytaire		

IV.8. Portage fécal des EBLSE selon d'autres facteurs

Le portage fécal des EBLSE selon d'autres facteurs a été étudié avec des taux de :

- 96,55% d'EBLSE chez les enfants transféré d'un autre service.
- 86,20% d'EBLSE chez les enfants avec cathéter.
- 81,48% d'EBLSE chez les enfants nés d'une grossesse à terme.
- 34,48% d'EBLSE chez les enfants allaités artificiellement.

L'analyse statistique de ces données faite par le test exact de Fisher a révélé que ces facteurs (transfère entre service, âge gestationnel, porte de cathéter et allaitement) ne sont pas considérés comme des facteurs de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe V).

V- Discussion générale

Le microbiote intestinal est le réservoir majeur de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui peut être enrichi par des bactéries multirésistantes comme les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) (Ruppé *et al.*, 2013). La plupart des entérobactéries étant des souches de colonisation, sans indications de traitement constituent dès lors un important réservoir de BMR (Mayoral *et al.*, 2010).

Jusque dans les années 2000, la diffusion des E-BLSE concernait essentiellement le milieu hospitalier. A ce titre, en raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion hors de l'hôpital, du caractère aisément transférable des mécanismes de résistance impliqués, ces BMR font l'objet de programmes nationaux de surveillance dans plusieurs pays (Guillet, 2010).

Dans cette étude, nous avons réalisé 70 prélèvements par écouvillonnage rectal chez des enfants à l'admission dans le service de pédiatrie du CHU de Bejaia. 40 souches d'entérobactéries ont été isolées. Nous avons retrouvé un taux élevé d'*E. coli* (47,50%), suivi d'*Enterobacter* avec un taux de 37,50%. Ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par Tandé *et al.*, 2010 dans leur étude portant sur l'Épidémiologie des patients porteurs d'entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE), à l'admission, où l'espèce *Escherichia coli*. est la plus isolée (Tandé *et al.*, 2009). Toutefois ces chiffres, ne concordent pas avec ceux rapportés par Rivard-Yazigi et al. en 2013, dans leur étude portant sur les facteurs de risque de portage des Entérobactéries produisant des β -lactamases à spectre étendu chez des enfants à l'admission dans un hôpital en France où l'espèce *Klebsiella pneumoniae*. est l'espèce majoritaire (Rivard-Yazigi *et al.*, 2013).

Le taux de production de BLSE révélé dans cette étude est de (72,50 % ; 29/40) avec la prédominance des souches d'*E. coli* avec un taux de 58,68 % (17/29). 40% est le taux obtenu avec l'étude réalisée par Hamrioui et Latieme en 2012 au niveau du CHU de Bejaia.

L'analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches isolées a montré qu'elles résistent par deux mécanismes: par production de BLSE et par Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique (entérobactéries du groupe 3).

L'évolution de la résistance des entérobactéries aux C3G est liée à l'émergence et la diffusion de certains mécanismes de résistance dont le plus important est la production

enzymatique de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). D'autres mécanismes ont été aussi décrits, comme les céphalosporinases hyperproduite et les céphalosporinases plasmidiques. Dans cette étude, nous avons remarqué que la majorité de nos souches résistent probablement par production de BLSE de types CTX-M. Des études à l'échelle nationale comme celles de (Ramdani- Bougessa *et al.*, 2006 ; Touati *et al.*, 2006; Iabadene *et al.*, 2008; Messai *et al.*, 2008; Gharout *et al.*, 2012) et internationale comme celles de (Ruppé *et al.*, 2009 ; Holstein *et al.*, 2010 ; Vodovar *et al.*, 2013) ont montré que les CTX-M-15 sont les plus isolées.

Cette classe de BLSE a été reconnue comme un mécanisme important de la résistance aux céphalosporines de troisième et quatrième génération utilisées par les pathogènes Gram négatifs. CTX-M-15 possède une grande affinité pour toutes les β -lactamines, y compris la ceftazidime et les céphalosporines de quatrième génération (Baraniak *et al.*, 2002). L'étude réalisée par Giraud et Fosse dans un CHU de Nice a montré que la majorité des E-BLSE+ isolées sont des *Escherichia coli*. produisant CTX-M, avec une nette prédominance des CTX-M-15. Ces résultats correspondent aux données de la littérature : les BLSE de type CTX-M, et en particulier CTX-M15, sont maintenant décrites dans de nombreux pays d'Europe, d'Afrique, d'Asie ou d'Amérique, les CTX-M-15 semblant avoir une capacité particulière de dissémination (Morin et Fosse, 2008).

La prévalence des patients porteurs d'EBLSE avoisine les 38,57% (27/70). Cette prévalence témoigne l'émergence de ce phénomène dangereux dans la communauté. Un résultat proche est obtenu avec l'étude réalisée par Hamrioui et Letime en 2012 au niveau du CHU de Bejaia (33%). Ce taux ne concorde pas avec les résultats obtenus en Afrique, selon une étude faite par Abdul Rahman et El- Sherif, sur le portage fécal d'EBLSE chez des personnes fréquentant un hôpital du Caire en Egypte, la prévalence était de 63,3% (Abdul Rahman et El- Sherif, 2011). En Asie, la prévalence du potage fécal d'EBLSE elle est de 8% dans une étude israélienne alors qu'elle atteint 26,1% en Arabie Saoudite (Kader, 2007). En Turquie, une étude sur 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 a montré une prévalence de 7,2% en ambulatoire et une prévalence de 24,4% chez les patients hospitalisés (Kiremitçiet *al.*, 2011).

En Europe, la prévalence semble plus faible, dans leur étude Anastay *et al.* rapportent la prévalence de 0,3 à 2,5 % des entérobactéries dans un hôpital du sud de la

France durant la période allant de 1999 à 2007 (Anastay et al 2013). 2,6% au Portugal (Guimaraes *et al.*, 2009) et 7% en Espagne (Valverde *et al.*, 2003).

L'utilisation abusive des carbapénèmes n'est pas sans conséquence. Selon le réseau national de la surveillance des bactéries résistantes aux antibiotiques, en 2009, la résistance aux carbapénèmes commence à disséminer dans les hôpitaux Algériens, dont des carbapénémases ont été isolées, des métallo- β -lactamases dont VIM-19 ont été isolées à l'hôpital central de l'armée à Alger en 2008 et 2009, VIM-4 a été caractérisée en 2010 à l'hôpital de Bouloghine (Benamrouche *et al.*, 2009). L'imipénème est la seule β -lactamine où aucune résistance n'a été détectée.

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 au cotrimoxazole (COT) et aux quinolones représentés par l'acide nalidixique (NA), signalés dans notre étude, soit : 65% ; 55% respectivement pour COT et NA. Aucune résistance n'est enregistrée vis-à-vis de l'Amikacine. Cette multirésistance des souches d'entérobactéries aux β -lactamines, aux aminosides et aux autres antibiotiques est liée au fait que les différents gènes de résistance à ces antibiotiques sont souvent localisés dans les mêmes plasmides.

Plusieurs facteurs de risque d'acquisition des BMR ont pu être soulevés comme le sexe, l'âge, le service, l'hospitalisation antérieure, les maladies sous-jacentes, le transfert entre hôpitaux, et le mode d'accouchement. Cependant, dans notre étude aucun de ces facteurs n'est considéré comme facteur de risque d'acquisition de BMR sauf pour le mode d'accouchement. Cela pourrait être expliqué par le faible nombre de prélèvements. Kurt azap *et al.* en 2007, ont montré dans leur étude sur le portage digestif de souches productrices de BLSE isolées en milieu communautaire, que l'hospitalisation dans les 3 mois précédents était un facteur de risque d'acquisition de ces souches. Les patients à risques sont généralement ceux qui ont une longue durée d'hospitalisation (Randrianirina *et al.*, 2009). Ainsi, les personnes hospitalisées sont particulièrement exposées à la transmission de bactéries résistantes. Des études ont estimé que ces dernières sont responsables de 60% des infections nosocomiales au niveau mondial (Carle, 2009). La circulation des patients entre unités différentes d'un même hôpital, mais aussi entre hôpitaux, sur le plan national ou international, peut contribuer à la diffusion de cette résistance au monde entier (Mkaouar *et al.*, 2008). Colodner et al ont travaillé sur les facteurs de risques liés à l'acquisition d'une BLSE chez des personnes non hospitalisées.

Parmi les facteurs de risques qui ont été identifiés, l'hospitalisation antérieure durant les 3 derniers mois et le sexe masculin (Colodner *et al.*, 2004).

Des systèmes de surveillance ont permis de constater une diffusion des BLSE non pas de l'hôpital vers la communauté, qui menace de diffuser dans les hôpitaux. De fait, l'augmentation des entérobactéries sécrétrices de BLSE est maintenant observée partout dans le monde non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires. Il est donc primordial de continuer à surveiller les BMR connues, de détecter les nouvelles BMR et d'effectuer leur signalement, ce qui place toujours le biologiste au centre de ce dispositif de veille sanitaire.

Au terme de cette étude effectuée au niveau du laboratoire Khellil Amrane durant une période allant du 09 Février 2014 au 15 Mai 2014, et qui a pour but l'étude du portage fécal des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération chez des patients admis dans le service de pédiatrie.

Notre étude a porté sur 70 prélèvements par écouvillonnage rectal.

- ❖ 40 souches d'entérobactéries a été isolées.
- ❖ Les résultats d'identification ont montré une prédominance d'*E. coli*. (19) suivi d'*Enterobacter sp.* (15) et *Citrobacter sp.* (6).
- ❖ Concernant la résistance de ces souches, nous avons enregistré un taux de 100% de résistance vis à vis des C3G (CTX et/ou CAZ).
- ❖ Le test de synergie a montré que, 72,5% de nos souches sont productrices de BLSE. avec la dominance du phénotype BLSE CTX-M.
- ❖ Des CMI's moyennent de ces souches ont été notées vis-à-vis de la céftazidime (CAZ).
- ❖ Des résistances associées pour les autres familles d'antibiotiques ont été enregistrées: l'acide nalidixique (55%), Cotrimoxazole (65%), Tobramycine (10%). Cependant, aucune résistance n'a été enregistrée pour l'amikacine.
- ❖ La prévalence de porteurs d'EBLSE est de 38,57%. L'analyse statistique des données concernant le portage des EBLSE est fait selon les critères d'âge, sexe, antibiothérapie antérieure, âge gestationnel, mode d'accouchement et mode d'allaitement. Le facteur de risque significatif est essentiellement le mode d'accouchement.

L'émergence des bactéries multirésistantes présente une menace grave qui met en cause la validité de l'arsenal antibiotique actuellement disponible. La lutte contre les BMR à l'hôpital, qui s'intègre dans une politique globale de prévention des infections nosocomiales et de maîtrise de la résistance aux antibiotiques, est une priorité nationale qui implique toute la communauté hospitalière et fait partie des indicateurs d'activité et de qualité, et des référentiels d'accréditation des établissements de santé.

Un certain nombre de précautions simples permettent de limiter la transmission croisée et les infections à BMR, tel que :

- ❖ la pratique des mesures d'hygiène générale du personnel et des locaux pour éviter la prolifération des germes.
- ❖ vérification de l'efficacité des techniques de désinfection et de stérilisation, désinfection des dispositifs médicaux en réanimation.
- ❖ Sensibilisation de l'ensemble des acteurs du secteur de la santé sur la réalité du phénomène de résistance et la transmission des BMR
- ❖ l'utilisation rationnelle des antibiotiques. Ainsi, une antibiothérapie adaptée diminue le risque de sélection des souches résistantes.

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.

A

Anastay M, Lagier E, Blanc V, Chardon H. (2013). Epidémiologie des beta-lactamases a spectre étendu (BLSE) chez les Enterobacteries dans un hôpital du sud de la France, 1999–2007. *Pathologie Biologie.* **61**, 38–43.

Andriatahina T, Randrianirina F, Hariniana ER. (2010). High prevalence of fecal carriage of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. *BMC Infect Dis.***10**, 204.

B

Baraniak A, Fiett J, Hryniewicz W, Nordmann P, Gniadkowski M. (2002). Ceftazidimehydrolysing CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in Poland. *J Antimicrob Chemother.* **50**,393-396.

Bassetti M, Rghi E et Viscoli C. (2008). Novel β -lactam antibiotics and inhibitor combination. *Expert Opin. Investing. Drugs.* **17**, 285-296.

Benamrouche N, Hadjila I et Rahal K. (2009). Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques en Algérie. 11^{eme} rapport d'évaluation. 198P.

Bonnet R. (2006). β -lactamines et entérobactéries. *In. AntibioGramme.* Edition: ESKA. Paris, pp.141-162.

Bush K, Jacoby G A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. American Society for Microbiology. Bloomington. 8p.

C

Campeotto F, Waligora-dupriet A, Doucet-populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel M. (2007). Mise en place de la flore intestinale du nouveau-né. *Gastroenterol Clin Biol.* **31**,533-542.

Carle S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel.* **42**, 6-21.

Cavallo J D , Fabre R, Jehl F, Rapp C, et Garrabé E. (2004). Bêtalactamines .*Encyclopédie Médico-chirurgical-maladies infectieuses.* **73**, 129- 202.

Chavane de Dalmassy - Prioux E. (2011). Infections invasives à bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu chez l'enfant. Etude rétrospective dans un Centre Hospitalier Universitaire parisien. Thèse de Doctorat en médecine. Université PARIS DESCARTES (Paris5), Faculté de médecine, 92p.

Colodner R W, Rock B, Chazan N, Keller N, Guy W, Sakran R and Raz (2004). Risk Factors for the Development of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria in Nonhospitalized Patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **23**,163–167.

Références Bibliographiques

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (1995). Projet de Norme N°2 : Méthode de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en milieu solide pour les bactéries aérobies à croissance rapide. Communiqué.

Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué, 2013.

Corthier G. (2007). Flore intestinale et santé : quels enjeux ?. Nutrition clinique et métabolisme. **21**,76-80.

D

Denis F, Ploy MC, Martin C, Bengen et Quenten R. (2007). Bacteriologie médicale : techniques usuelles. Edition : Elsevier Masson ; 70p.

Doré J, Corthier G. (2010). Le microbiote intestinal humain. microbiote normal du tractus intestinal. **34**, 7-16.

Ducluzeau R. (1993). Installation, équilibre et rôle de la flore microbienne chez le nouveau-né. Ann Pediatr. **40**,13-22.

G

Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. (1999). Stool microflora in extremely low birthweight infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. **80**:F167-F173.

Gharout-Sait A, Touati A, Benallaoua S, Guillard T, Brasme L , Madoux J. et De Champs C. (2012). CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. African Journal of Microbiology Research. **6(25)**, 5306-5313.

Guediche M.N. (1990). Colonisation bacterienne du nouveau-ne et infection. Médecine du Maghreb. **22**, 25-27.

Guimaraes B, Barreto A, Radhouani H, Figueiredo N, Gaspar E, Rodrigues J, Torres C, Igrejas G, Poeta P. (2009). Genetic detection of extended-spectrum betalactamase containing *Escherichia coli* isolates and vancomycin-resistant enterococci in fecal samples of healthy children. Microb Drug Resist. **15(3)**,211–216.

H

Hodge W, Ciakj et Tramont EC. (1978). Simple method for detection of penicillinases producing *Neisseria gonorrhoeae* .Journal of Clinical Microbiology.**7**, 102- 103.

Holstein A, Grillon A, Yzon L , Morange V , Baty G , Lartigue M, Mereghetti L, Goudeau A, Lanotte P.(2010). Prévalence des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de b-lactamases à spectre étendu de type CTX-M a l'hôpital Bretonneau (CHRU de Tours). Pathologie Biologie **58**, 67–69.

I

Iabadene H, Messaia Y, Ammarib H, Alouachea S, Verdet C, Bakoura R. et Arlet G. (2009). Prevalence of plasmid-mediated AmpC β -lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. *Int J Antimicrob Agents*. **34(4)**, 340-2.

J

Jacob G. (2011). Implication des gènes de régulation de la céphalosporinase chromosomique d'*Enterobacter cloacae* dans le phénotype hyper-producteur de céphalosporinase. Thèse de Doctorat en médecine (diplôme d'étude spécialisé en biologie médicale), université Paris-descartes (Paris 5).

Jarlier V, Nicolas MH, 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. *Rev Infect Dis*. **10**, 867-878.

K

Kader AA, Kumar A, etbKamath KA. (2007). Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. *Infect Control Hosp Epidemiol*. **28(9)**, 1114–1116.

Kiremitçil A, EnerÇağrı D, ZeynelAbidin Y, Gül D, NeslihanT, AşkınDerya A, Mehmet A. (2011). Prevalence and Risk Factors of Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -lactamase (ESBL)–Producing *Enterobacteriaceae* in Hospitalized and Ambulatory Children. *J Pediatr Inf*. **5**, 54-8.

Kleessen B, Bezirtzoglou E, Mättö J. (2000). Culture-based knowledge on biodiversity, development, and stability of human gastrointestinal microflora. *MicrobiolEcol Health Dis*. **12**, 53-63.

L

Luvansharav U-O, Hirai I et Niki M . (2011). Prevalence of faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteriaceae* among healthy adult people in Japan. *J Infect Chemother*. In press.

M

Martinez J.L. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants . *Environnement pollution*. **157**, 2893-2902.

Mayoral G, Ferreyra M, Eden A, Gueudet P, Miquel C. et Lecaillon E. (2010). Evolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération de 2000 à 2008 au centre hospitalier de Perpignan. *Pathologie Biologie*. **58** : 7-10.

Messai Y, Iabadene H , Benhassine T, Alouache S , Tazir M , Gautier V, Arlet G. et Bakour R. (2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiellapneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*. **56** , 319–325.

Mkaouar D, Mahjoubi F, Mezghani S, Znazen A, Ktari S, Hammami A.(2008). Étude de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération dans les hôpitaux de Sfax, Tunisie (1999–2005). *Médecine et maladies infectieuses*. **38**, 293–298.

Morin C et Fosse T (2008) .Recent evolution and characterization of extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteria. In: the CHU of Nice (2005- 2007). *Pathologie biologique*. **56(7-8)** ,417-23.

N

Nicolas-Chanoine M.H. (2012).Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi : Ou sont les dangers ? *Réanimation* . **21** , 260-267.

P

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. (2007). Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol*. **5(7)**, e177.

R

Ramdani-Bougoussa N, Mendonc N, Leita J, Ferreira E, Tazir M , Canic M.(2006). CTX-M-3 and CTX-M-15 Extended-Spectrum β -Lactamases in Isolates of *Escherichia coli* from a Hospital in Algiers, Algeria. *Journal of Clinical Microbiology*. **4**, 4584–4586.

Randrianirina F, Vedy S, Rakotovao D, Ramarokoto C.E, Ratsitohaina H, Carod J.F., Ratsima E., Morillon M. et Talarmin A. (2009). Role of contaminated aspiration tubes in nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumonia* producing SHV-2 and CTX-M-15 extended-spectrum β -lactamases. *Journal of Hospital Infection*. **72**, 23-29.

Rivard-Yazigi MD L, Ralph Zahar MD J, Le Guillou MD S, Chalouhi MD C, Lecuyer MD H , Nassif MD X , Gendrel MD D, Abadie MD V .(2013). Risk factors associated with extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae carriage at admission in an infant cohort at a tertiary teaching hospital in France .*American Journal of Infection Control*.**41**, 844-5.

Ruppé E, Andremont A. (2013). Le microbiote intestinal est l'avenir de la multirésistance bactérienne. *Journal des Anti-infectieux* . **15**, 166-177.

Ruppe E ,Woerther P, Diop A, Sene A Da Costa A, Arlet G, Andremont A, and B Rouveix.(2009). Carriage of CTX-M-15-Producing *Escherichia coli* Isolates among Children Living in a Remote Village in Senegal *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. **53**, No. 7.

S

Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A, et al. (1987). Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother*. Sep. **(3)**, 323-34.

Stoll BJ . (2002). Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-lowbirth-weight infants.N Engl J Med. **347**,240-7.

T

Tandé D, Jallot N, Bougoudogo F, Montagnon T, Gouriou S and Sizun J. (2009). Extendedspectrum betalactamase- producing *Enterobacteriaceae* in a Malian orphanage. Emerging Infect Dis. **15(3)**,472–474.

Touati A, Benallaoua S, Forte D, Madoux J, Brasme L, de Champs C (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bejaia, Algeria. Int. J. Antimicrob. Agents. **27**, 397-402.

V

Valverde A, Grill F, Coque TM, Pintado V, Baquero F, Canton R, Cobo J.(2008). 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.

Vinoth J, Shamsadh Begum E, Satish Kumar R , Ramesh S. (2012). Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early InfancyAsian J Pharm Clin Res, Vol 5. **4**,180-182.

Vodovar D, Marcadé G, Raskineb L, Malissina I, Mégarbanea B. (2013). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. Rev Med Interne. **34**, 687–693.

W

Wright G D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and Modification. Advanced drug delivery reviews. **57**, 1451- 1470.

Annexe I

Questionnaire : Hôpital Khellil Amrane

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

Annexe II

Composition des milieux de culture en g/l d'eau distillée

Gélose nutritive :

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

Gélose EMB (Eosin Méthylène Blue):

Peptone	10	
Lactose	10	
Dipotassium-hydrogene phosphate	2	
Méthylène bleu	0,065	pH : 7,1
Eosine y	0,4	
Agar	15	

Gélose Hektoen:

Protéose peptone	12	
Extrait de levure	3	
Chlorure de sodium	5	
Thiosulfate de sodium	5	
Sels biliaires	9	
Citrate de fer ammoniacal	1,5	pH : 7.5
Salicine	2	
Lactose	12	
Saccharose	12	

Fuchsine acide	0,04
Bleu de bromothymol	0,065
Agar	14

Gélose Mc Conkey:

Peptone	20	
Lactose	10	
Sels biliaires	1,5	
Cristal violet	0,001	pH : 7,4
Rouge neutre	0,05	
Chlorure de sodium	5	
Agar	15	

Gélose Mannitol mobilité :

Extrait de viande	3	
Peptone	15	
Mannitol	10	pH : 7,8
Nitrate de potassium(KNO3)	10	
Rouge de phénol	0,05	
Agar	4	

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de bœuf	30	
Peptone de caséine	17,5	pH : 7,4
Amidon	1, 5	
Agar	17	

Milieu de Citrate de Simmons :

Phosphate d'ammonium	1	
Phosphate bipotassique	1	
Chlorure de sodium	5	
Citrate de sodium	5	pH : 6,9
Sulfate de magnésium	0,20	
Bleu de Bromothymol	0,08	
Agar	18	

Milieu TSI (Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de bœuf	3	
Extrait de levure	3	
Peptone	20	
Chlorure de sodium	5	
Citrate ferrique	0,3	pH : 7,4
Thiosulfate de sodium	0,3	
Lactose	10	
Glucose	1	
Saccharose	10	
Rouge de phénol	0,05	
Agar	12	

Bouillon nitraté :

Infusion de cœur cervelle	25	pH : 7,6-7,8
Nitrate de sodium	10	

Bouillon nutritif :

Peptone	10	
Chlorure de sodium	5	pH : 7,2
Extrait de viande	5	

Milieu urée- indole :

Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄)	1	
Phosphate bipotassique (K ₂ HPO ₄)	1	
Chlorure de sodium	5	
Alcool à 95°	1ml	pH : 6,7
L tryptophane	3	
Urée	20	
Rouge de phénol à 1%	25ml	

Bouillon Clark et Lubs :

Peptone	5	
Glucose	5	pH : 7,5
Hydrogenophosphate de potassium	5	

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 :

α -naphтол 6g

Alcool à 90° 100 ml

VPII:

NaOH 4N

Rouge de méthyle (RM) :

Rouge de méthyle 0,5 g

Alcool éthylique à 60% 100 ml

Tableau I : Liste des milieux de culture et réactifs utilisés durant cette étude.

Milieux de culture	Marques
Bouillons nutritifs additionnés de Céfotaxime (CTX à 2µg/ml), Céf tazidime (CAZ à 4µg/ml) et de la Vancomycine (VAN à 16µg/ml)	Bouillon nutritif : Réalab Céf tazidime : FORTUM® Céfotaxime : TRICEF® Vancomycine : Mylan
Gélose Hektoen	Institut Pasteur d'Algérie
Gélose EMB	HIMEDIA
Gélose Mac Conkey additionnée de Céf tazidime (CTX a 4µg/ml) et/ou de Céf tazidime (CAZ a 8µg/ml)	HIMEDIA
TSI	Institut Pasteur d'Algérie
Mannitol-mobilité	Institut Pasteur d'Algérie
Eau peptonée exempte d'indole	Institut Pasteur d'Algérie
Urée-indole	Institut Pasteur d'Algérie
Citrate de Simmons	Institut Pasteur d'Algérie
Bouillon nitraté	Institut Pasteur d'Algérie
Clark et Lubs	Institut Pasteur d'Algérie
Gélose Mueller-Hinton	Institut Pasteur d'Algérie
Gélose nutritive	Institut Pasteur d'Algérie
Réactifs	Marque
NRI et NRII	Institut Pasteur d'Algérie
Poudre de zinc	Institut Pasteur d'Algérie
Réactifs de Kovacs	Institut Pasteur d'Algérie
VPI, VPII et RM	Institut Pasteur d'Algérie

Tableau II : Différents tests biochimiques d'identification.

Milieu de culture	Test	Mode d'ensemencement	Lecture	Interprétation
Bouillon nitraté	Recherche de la Nitrate réductase	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 37°C/24h	Couleur rouge après l'ajout des réactifs NRI et NRII	Nitrate réductase Positive
Milieu TSI	Fermentation des sucres et production de gaz et d'H ₂ S	Ensemencement de la pente par stries puis le culot par piqûre centrale. Incubation à 37°C/24h	Virage de la pente au jaune	Fermentation du lactose +
			Virage du culot au jaune	Fermentation du glucose +
			Apparition de bulles	Production du Gaz
			Noircissement du milieu	Production d' H ₂ S
Milieu Citrate de Simmons	Utilisation du citrate comme seule source de carbone	Ensemencement par stries du tube. Incubation à 37°C pendant 1 à 7 jours	Croissance sur la pente et virage du milieu au bleu (alcalinisation du milieu)	Utilisation du Citrate
Bouillon Clark et lubs	Etude du type fermentaire (Réaction de Voges-Proskauer et RM)	Ensemencement du milieu Clark et Lubs et incubation à 37°C/ 48h	Couleur rouge cerise après ajout des réactifs VPI et VPII	Formation d'acétoïne
			Coloration rose après ajout du réactif RM	Formation des acides mixtes
Milieu Mannitol-Mobilité	Utilisation du mannitol et recherche de la mobilité	Ensemencement du milieu par piqûre centrale. Incubation à 37°C/24h	Coloration jaune du Milieu	Fermentation du mannitol
			Diffusion homogène (formation d'un voile)	Mobilité
Milieu Urée-indole	Recherche d'uréase et de TDA et la	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 37°C/24h	Virage du milieu en rouge	Présence d'une Uréase

Annexes

	production d'indole		Anneau rouge en surface après ajout du réactif de Kovacs	Production d'indole
			Formation d'un précipité marron après ajout du réactif de la TDA	Présence de TDA

Annexe III

Tableau I : Diamètres des zones d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2013.

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
Céfotaxime	30 μ g	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftazidime	30 μ g	≤ 1	> 4	≥ 26	< 21
Céfépime	30 μ g	≤ 1	> 4	≥ 24	< 21
Céfoxitine	30 μ g	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Amoxicilline/ ac. clavulanique	20/10 μ g	$\leq 4/2$	$> 8/2$	≥ 21	< 16
Imipénème	10 μ g	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17
Aztréonam	30 μ g	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21
Gentamicine	15 μ g	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Tobramycine	10 μ g	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Amikacine	30 μ g	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Acide nalidixique	30 μ g	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Ciprofloxacine	5 μ g	$\leq 0,5$	> 1	≥ 25	< 22
Norfloxacine	5 μ g	$\leq 0,5$	> 1	≥ 25	< 22
Triméthoprime	5 μ g	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16
SXT	1,25/23,75 μ g	$\leq 2/38$	$> 4/76$	≥ 16	< 13

Annexe IV

Tableau I : Résultat des tests d'identification.

Code	NR	IND	VP	RM	CIT	GLU	LAC	URE	MAN	MOB	H2S	GAZ	Espèces
P03 Z	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P05	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P06 Z	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P08X	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P10MZ	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P12 Z	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P13 X	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P18	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P19	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P20JX	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P24	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P25	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P26 X	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P27	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P28	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P29	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P30	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P31	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P34g Z	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P34g X	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P39	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P40	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P41	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P42	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P44 Z	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P45	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P46GX	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P46MX	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P47	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P52GX	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P52PX	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P55	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P56	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P58	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P60	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	<i>Enterobacter sp</i>
P61	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P64Z	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P65	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P67	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	<i>E. coli</i>
P70	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>

Tableau II : Résultats de l'antibiogramme.

Code	Espèces	Antibiogramme 1					Syn.	Antibiogramme 2			
		FEP	CAZ	CTX	AMC	IPM		COT	TOB	AK	NA
P03 Z	<i>E. coli</i>	R (13)	R (13)	R(13)	R(10)	S(26)	+	R(6)	S(20)	S(20)	S(29)
P05	<i>E. coli</i>	R(13)	R(12)	R(6)	R(16)	S(26)	+	R(6)	I(17)	S(20)	R(6)
P06 Z	<i>E. coli</i>	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	S(25)	-	S(16)	R(11)	S(19)	R(6)
P08X	<i>Citrobacter sp</i>	R(16)	R(6)	R(6)	R(6)	S(29)	+	S(20)	I(16)	S(19)	S(20)
P10MZ	<i>Enterobacter sp</i>	R(18)	R(6)	R(6)	R(6)	I(21)	-	S(29)	S(31)	S(21)	S(24)
P12 Z	<i>Citrobacter sp</i>	R(17)	R(6)	R(6)	R(6)	I(21)	-	R(6)	S(21)	S(22)	R(6)
P13 X	<i>Enterobacter sp</i>	R(6)	R(6)	R(6)	R(13)	I(21)	+	S(21)	S(24)	S(21)	S(23)
P18	<i>Enterobacter sp</i>	S(27)	R(6)	R(13)	R(6)	I(22)	-	S(32)	S(25)	S(21)	S(27)
P19	<i>Enterobacter sp</i>	R(6)	R(6)	R(6)	R(9)	I(22)	+	S(30)	S(21)	S(20)	S(21)
P20JX	<i>E. coli</i>	R(14)	R(6)	R(6)	R(6)	S(27)	+	R(6)	I(15)	S(18)	R(6)
P24	<i>Enterobacter sp</i>	R(17)	R(7)	R(7)	R(9)	S(27)	+	R(6)	R(13)	I(15)	I(16)
P25	<i>Citrobacter sp</i>	R(18)	R(6)	R(6)	R(6)	S(30)	-	S(32)	S(26)	S(24)	S(25)
P26 X	<i>E. coli</i>	R(16)	R(20)	R(6)	R(9)	S(27)	+	S(24)	S(22)	S(19)	R(6)
P27	<i>E. coli</i>	R(6)	R(6)	R(6)	S(21)	S(28)	-	R(6)	I(16)	S(18)	R(6)
P28	<i>Citrobacter sp</i>	S(24)	R(6)	R(6)	R(6)	I(22)	-	S(30)	S(23)	S(24)	S(26)
P29	<i>E. coli</i>	R(14)	R(6)	R(6)	R(13)	S(25)	+	R(6)	I(16)	S(19)	R(6)
P30	<i>E. coli</i>	R(18)	R(6)	R(9)	S(18)	S(26)	+	R(6)	I(16)	S(21)	R(6)
P31	<i>Enterobacter sp</i>	I(21)	R(6)	R(6)	R(6)	S(24)	-	R(6)	S(19)	S(20)	R(13)
P34g Z	<i>E. coli</i>	R(18)	R(17)	R(6)	R(14)	S(28)	+	R(6)	S(22)	S(21)	R(6)
P34g X	<i>Enterobacter sp</i>	R(19)	R(11)	R(6)	R(6)	S(24)	-	R(6)	I(17)	S(19)	R(14)
P39	<i>Enterobacter sp</i>	R(18)	R(6)	R(6)	R(6)	I(23)	-	S(26)	I(17)	S(18)	S(23)
P40	<i>E. coli</i>	R(18)	R(18)	R(6)	R(8)	S(27)	+	R(6)	S(18)	S(18)	R(6)
P41	<i>Enterobacter sp</i>	R(20)	R(14)	R(6)	R(6)	S(28)	+	R(6)	R(14)	S(18)	R(13)
P42	<i>E. coli</i>	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	S(26)	+	R(6)	R(13)	S(19)	R(6)
P44 Z	<i>Enterobacter sp</i>	R(18)	R(6)	R(6)	R(14)	S(24)	-	S(31)	S(31)	S(27)	R(17)
P45	<i>E. coli</i>	R(19)	R(16)	R(6)	R(6)	S(32)	+	R(6)	S(18)	S(22)	R(6)
P46GX	<i>Enterobacter sp</i>	R(19)	R(16)	R(6)	R(6)	S(28)	+	R(6)	S(25)	S(23)	S(21)
P46MX	<i>E. coli</i>	R(19)	R(14)	R(10)	R(6)	S(30)	+	R(6)	I(16)	S(19)	R(6)
P47	<i>E. coli</i>	I(23)	R(14)	R(14)	R(6)	S(27)	+	R(6)	S(24)	S(22)	S(23)
P52GX	<i>Enterobacter sp</i>	R(17)	R(6)	R(6)	R(6)	S(28)	+	R(6)	I(16)	S(17)	R(13)
P52PX	<i>E. coli</i>	R(20)	I(22)	R(12)	R(6)	S(30)	+	R(6)	S(25)	S(22)	S(23)
P55	<i>Enterobacter sp</i>	R(20)	R(18)	R(6)	R(6)	S(29)	+	S(20)	S(22)	S(21)	I(19)
P56	<i>E. coli</i>	R(14)	R(10)	R(12)	R(6)	S(32)	+	R(6)	S(20)	S(22)	S(20)
P58	<i>Enterobacter sp</i>	R(17)	R(14)	R(6)	R(6)	S(30)	+	R(6)	S(24)	S(22)	R(13)
P60	<i>Enterobacter sp</i>	R(15)	R(6)	R(6)	R(6)	S(27)	+	S(26)	S(21)	S(22)	R(14)

Annexes

P61	<i>E.coli</i>	R(14)	R(6)	R(6)	R(6)	S(28)	+	R(6)	S(19)	S(22)	S(25)
P64	<i>Citrobacter sp</i>	R(20)	R(16)	R(6)	R(12)	S(32)	+	R(6)	S(19)	S(21)	R(6)
P65	<i>E.coli</i>	R(16)	R(12)	R(6)	R(10)	S(30)	+	R(6)	I(17)	S(21)	R(6)
P67	<i>E.coli</i>	R(16)	R(6)	R(6)	R(6)	S(30)	+	S(27)	S(24)	S(23)	S(22)
P70	<i>Citrobacter sp</i>	R(12)	R(6)	R(6)	R(6)	S(29)	+	S(29)	I(17)	S(19)	I(16)

I : Intermédiaire; R : Résistant; S : Sensible; Syn. : synergie.

Tableau III : Résultats du DD-test.

Code	espèces	Antibiogramme					Synergie	Enzymes
		CTX	CAZ	AMC	FEP	IMP		
P03Z	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P05	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P06Z	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Absence	BLSE CTX-M
P08	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P10MZ	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	I	Absence	BLSE CTX-M
P12Z	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	R	I	Absence	BLSE CTX-M
P13X	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	I	Présence	BLSE CTX-M
P18	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	S	I	Absence	Hyperproduction de céphalosporinase
P19	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	I	Présence	BLSE CTX-M
P20jX	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P24	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P25	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Absence	BLSE CTX-M
P26X	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P27	<i>E. coli</i>	R	R	S	R	S	Absence	BLSE CTX-M
P28	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P29	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P30	<i>E. coli</i>	R	R	S	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P31	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	I	S	Absence	Hyperproduction de céphalosporinase
P34GX	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Absence	BLSE CTX-M
P34pZ	<i>E. coli</i>	R	R	S	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P39	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	I	Absence	BLSE CTX-M
P40	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P41	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P42	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P44Z	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Absence	BLSE CTX-M
P45	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P46MX	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P46GX	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P47	<i>E. coli</i>	R	R	R	I	S	Présence	BLSE autre CTX-M
P52PX	<i>E. coli</i>	R	I	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P52GX	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P55	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P56	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P58	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P60	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P61	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M

P64	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	S	I	Absence	Hyperproduction de céphalosporinase
P65	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P67	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M
P70	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	R	S	Présence	BLSE CTX-M

Tableau IV : Résultats de Test de Hodge

Code	Souche	Résultats
P10MZ	<i>Enterobacter sp</i>	-
P12Z	<i>Citrobacter sp</i>	-
P13X	<i>Enterobacter sp</i>	-
P18	<i>Enterobacter sp</i>	-
P39	<i>Enterobacter sp</i>	-
P64	<i>Citrobacter sp</i>	-

Tableau V : Résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices.

Code	Espèces	Phénotype	CAZ	Code	Espèces	Phénotype	CAZ
P03Z	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml	P10	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml
P05	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	32µg/ml	P13X	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml
P06Z	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	>64µg/ml	P18	<i>Enterobacter sp</i>	Hyperproduction De céphalosporinase	32µg/ml
P20JX	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml	P19	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml
P26X	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	4µg/ml	P24	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	>64µg/ml
P27	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	>64µg/ml	P31	<i>Enterobacter sp</i>	Hyperproduction De céphalosporinase	>64µg/ml
P29	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml	P34gX	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	8µg/ml
P30	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	8µg/ml	P39	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	32µg/ml
P34gZ	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	8µg/ml	P41	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	8µg/ml
P40	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	32µg/ml	P60	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE CTX-M	>64µg/ml
P42	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	>64µg/ml	P25	<i>Citrobacter sp</i>	BLSE CTX-M	8µg/ml
P56	<i>E. coli</i>	BLSE CTX-M	32µg/ml	P28	<i>Citrobacter sp</i>	BLSE CTX-M	32µg/ml
P12Z	<i>Citrobacter sp</i>	BLSE CTX-M	16µg/ml				

Annexe V

Analyses statistiques des données

1. Selon le sexe

Tableau N°I: Fréquence des EBLSE selon le sexe.

Sexe	Souches résistantes	Souches sensible	Total	Taux de résistance
Masculin	18	9	27	62,07%
Féminin	11	2	13	37,93%
Total	29	11	40	

➤ **Test exact de Fisher**

p-value (bilatérale)	0,286
alpha	0,05

2. Selon l'âge

Tableau N°II: Fréquence des EBLSE selon l'âge.

	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Nouveau- nés	2	1	3	6,90%
Nourrissons	25	10	35	86,20%
Enfants	2	0	2	6,90%

➤ **Test exact de Fisher**

p-value (bilatérale)	1,000
alpha	0,05

3. Selon le mode d'accouchement

Tableau N°III : Fréquence des EBLSE selon le Mode d'accouchement.

Accouchement	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Voie basse	12	9	21	41,38%
Césarienne	17	2	19	58,62%
Total	29	11	40	

➤ **Test exact de Fisher**

p-value (bilatérale)	0,034
alpha	0,05

5. Selon type d'allaitement

Tableau N°V : Fréquence des EBLSE selon le mode d'allaitement.

Allaitement	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Maternel	19	8	27	65,52%
Artificiel	10	3	13	34,48%
Total	29	11	40	

➤ **Test exact de Fisher**

p-value (bilatérale)	1,000
alpha	0,05

6. Selon l'antibiothérapie antérieure

Tableau N°VI : Fréquence des EBLSE selon le l'antibiothérapie antérieure.

Antibiothérapie	Souches résistantes	Souches sensible	Total	Taux de résistance
Oui	16	6	21	55,17%
Non	13	5	18	44,83%
Total	29	11	40	

➤ **Test exact de Fisher**

p-value (bilatérale)	1,000
alpha	0,05

Résumer

But : Le but de cette étude est d'évaluer le portage fécal des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération chez des patients admis au niveau du service de pédiatrie du CHU de Bejaia.

Matériel et méthodes : Des écouvillonnages rectaux sont réalisés chez 70 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, Hodge test). Un modèle logistique est utilisé pour déterminer les associations possibles entre les facteurs de risque et les EBLSE identifiées.

Résultats : 40 souches d'entérobactéries sont isolées présentant des taux importants de résistance vis-à-vis des C3G avec 29 souches BLSE. L'espèce retrouvée majoritaire est *Escherichia coli*. Des taux de résistance importants ont été enregistrés vis-à-vis de certaines β -lactamines à l'exception de l'imipénème. Le phénotype le plus probable est BLSE type CTX-M. Des résistances associées à l'égard d'autres antibiotiques sont observées. Des CMI allant de 4 μ g/ml à 64 μ g/ml sont obtenues vis-à-vis de la céftazidime.

Conclusion : La prévalence des porteurs d'EBLSE est de 38,57%. Le seul facteur de risque d'acquisition d'EBLSE déterminé est le mode d'accouchement.

Mots clés : Portage fécal, β -lactamines, EBLSE, Pédiatrie, CTX-M, Hôpital, Entérobactéries.

Abstract

Aim: The aim of this study is to evaluate the fecal carriage of *enterobacteriaceae* strains resistant to third generation cephalosporins in children at pediatric wards of University Hospital Center of Bejaia.

Method: Rectal swabs are performed with 70 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 (CMI, Hodge test). A logistic model was used to determine possible associations between risk factors and the ESBL identified.

Results: 40 strains of Enterobacteriaceae are isolated with high rates of resistance were recorded towards C3G with 29 strains (32.67%) producing ESBL. *Escherichia coli* is the species that is found mostly. The phenotype CTX-M type ESBLs is the most frequent. Resistance associated with other antibiotics is also recorded in which no resistance is observed for amikacin. MICs of 4 μ g/ml with 64 μ g/ml are obtained against the ceftazidime.

Conclusion: The prevalence of carriers of ESBL is 38, 57%. The only risk factor for acquisition of ESBL determined is mode of childbirth.

Key words: fecal carriage, β -lactams, ESBL, Pediatrics, CTX-M, Hospital, *Enterobacteriaceae*.

Annexe III

Tableau I : Diamètres des zones d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2013.

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
Céfotaxime	30 μ g	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftazidime	30 μ g	≤ 1	> 4	≥ 26	< 21
Céfépime	30 μ g	≤ 1	> 4	≥ 24	< 21
Céfoxitine	30 μ g	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Amoxicilline/ ac. clavulanique	20/10 μ g	$\leq 4/2$	$> 8/2$	≥ 21	< 16
Imipénème	10 μ g	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17
Aztréonam	30 μ g	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21
Gentamicine	15 μ g	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Tobramycine	10 μ g	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Amikacine	30 μ g	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Acide nalidixique	30 μ g	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Ciprofloxacine	5 μ g	$\leq 0,5$	> 1	≥ 25	< 22
Norfloxacine	5 μ g	$\leq 0,5$	> 1	≥ 25	< 22
Triméthoprim	5 μ g	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16
SXT	1,25/23,75 μ g	$\leq 2/38$	$> 4/76$	≥ 16	< 13