

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
Département de Microbiologie.
Filière : Sciences biologiques.
Option : Microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire.



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Caractérisation des phénotypes de résistance aux B-lactamines des souches d'entérobactéries isolées de la flore fécale des enfants dans la ville de Béjaia.

Présenté par :

Smara souhila & Ayache radia

Soutenu le : **16 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M. <i>DJOUDI F.</i>	MCB	Président
Mme. <i>GHAROUT A.</i>	MAA	Encadreur
Melle. <i>TAFOUKT R.</i>	MAB	Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciements

«Louange à Allah, le tout puissant et miséricordieux qui nous a prodigué le courage et la force afin de mener à terme notre travail».

Nous remercions :

Notre promotrice, Mme GHAROUT Alima, pour nous avoir encadrées, Orientées, et pour sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire. Nous vous souhaitons, madame, que du succès et du bonheur.

Les membres du jury: Mr Djoudi, Melle Tafoukt, pour l'examen et l'évaluation de notre travail.

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.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents Rabah et Khalissa que j'aime énormément. L'amour et le respect que je leur porte reste pour moi primordiaux. Que ce travail leur apporte joie et fierté. Ce travail, fruit de leurs conseils et encouragements est le cadeau que je puisse leur offrir. Vous mes très chers parents, je vous dis merci.

A mon cher fiancé Abdelmoumen pour son soutien et encouragement, a qui j'adresse tous mes respects et à sa famille.

A mes chers frères Mohamed, Boualem, Nadjmedine, Yacine et Fayçal et sa femme Soria, mes soeurs Yasmina, Lila, Nadj et et son mari Mourad qui m'ont aidé à surmonter toutes les difficultés rencontrées au cours de mes années d'études avec leurs patiences et leurs encouragements.

A mon binôme radia et toute sa famille.

A mes adorables amies : Fouzia, Habiba, Nadjima, Besma, Nassima, Warda et surtout Sara et les autres.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce Travail.

Souhila

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents Salah et Hadda que j'aime énormément. L'amour et le respect que je leur porte reste pour moi primordiaux. Que ce travail leur apporte joie et fierté. Ce travail, fruit de leurs conseils et encouragements est le cadeau que je puisse leur offrir. Vous mes très chers parents, je vous dis merci.

A mon cher mari Khireddine pour son soutien et encouragement.

A mes chers frères : Rachid et Rafik.

A ma sœur Fatiha.

A la mémoire de mon cher beau père Abedallah que dieu le bénisse dans son vaste paradis.

A ma tante Soria, ainsi que son mari Meheni.

A mes belles sœurs Naima, Fouzia, Sabrina et Nadia.

A mes beaux frères.

A mon binôme Souhila et toute sa famille.

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce Travail.

Radia

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

Introduction..... 1

Matériel et méthodes

I .1.Souches Bactériennes	6
I.2. Réisolement et Purification.....	6
I.3. Identification	6
II. Étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	7
II.1. Antibiogramme standard.....	8
II.2. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (test de synergie).....	9
II.3. Recherche de la production de Carbapénèmases.....	10
III Traitement statistique des données.....	11

Résultats et discussions

I. Souches bactériennes isolées	12
I.1. Recherche de BLSE	12
I.2. Recherche de la production de céphalosporinases plasmidiques /chromosomiques.....	14

I.3. Recherche de la production de carbapénémases.....	14
I-4-Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines.....	15
II. Portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE)	15
II.1. Portage fécal d'EBLSE identifiées.....	15
II.2. Portage fécal d'EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux.....	16
II.3. Portage fécal d'EBLSE selon le sexe.....	16
II.4. Portage fécal d'EBLSE selon l'âge.....	17
II.5. Portage fécal d'E-BLSE selon l'antibiothérapie.	18
II.6. Portage fécal d'EBLSE selon mode d'accouchement.....	18
II.7. Portage fécal d'EBLSE selon mode d'allaitement.....	19
II.8. Portage fécal des EBLSE selon le motif de consultation au cabinet et d'admission à l'hôpital.....	20
II. Discussion générale.....	22
Conclusion générale.....	26
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des Abréviations

AK : Amikacine.

AMC : Amoxicilline / Acide clavulanique.

ATB : Antibiotique.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BLSE : β -Lactamases à Spectre Elargi (ou Etendu).

BMR : Bactéries multi résistantes.

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

CAZ : Céftazidime.

CHU: Centre Hospitalo-universitaire.

CIT : Citrate de Simmons.

CTX : Céfotaxime.

CTX-M: Céfotaximase Munich.

DD-Test: Double-Disc Test.

E-BLSE : Entérobactéries productrices de β - lactamases à spectre élargi.

EMB: gélose Eosin Methylene Blue.

F : Féminin.

FEP: Céfépime.

FOX: Céfoxitine

H₂S : Hydrogène Sulfuré.

IND: Indole.

IPM: Imipénème.

LAC: Lactose.

M : Masculin.

MAN: Mannitol.

Liste des abréviations

MH: Mueller Hinton.

MOB: Mobilité.

NA: Acide nalidixique.

NR: Nitrate Réductase.

PLP : Protéines Liant les Pénicillines.

R : Résistant.

RM: Rouge de Méthyle.

S: Sensible.

TOB: Tobramycine.

TSI: Triple Sugar and Iron.

UFC : Unité Formant Colonie.

URE: Uréase.

VP: Voges- Proskauer.

N°	Titre	Page
01	Image de synergie obtenue pour la souche G11 (CAZ) (<i>K. pneumoniae</i>)	12
02	Résultat de la présence de synergie sans et avec cloxaciline pour la souche P07 (<i>K. pneumoniae</i>)	13
03	Résultat de la présence et d'absence d'une céphalosporinases plasmidique pour la souche I10(CAZ) (<i>K.pneumoniae</i>)	14
04	Résultat de Carba NP test modifié négatif	15
05	Répartition des souches d'EBLSE par espèce	16
06	Répartition des souches d'EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux	17
07	Répartition des souches d'EBLSE selon le sexe	17
08	Répartition des EBLSE selon l'antibiothérapie	18
09	Répartition des souches résistantes et sensible selon le mode d'accouchement	19
10	Répartition des souches EBLSE selon le mode d'allaitement	20
11	Répartition des EBLSE selon les motifs de consultation et d'admission	21

N°	TITRE	Page
I	Liste des antibiotiques testés	8
II	Interprétation des résultats du Carba NP test modifié.	11
III	Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines	15
IV	Répartition des souches d'EBLSE selon l'âge.	18

Annexe	N° du tableau	Titre
Annexe II	I	Diamètres des zones d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2013
	II	résultats des tests d'identification des entérobactéries isolées
	III	Résultats de l'antibiogramme
	IV	Diamètres des zones d'inhibition des souches résistantes aux β -lactamines sur gélose Mueller-Hinton avec et sans cloxacilline
	V	Diamètres des zones d'inhibition des souches productrices de céphalosporinase chromosomique/plasmidique.
Annexe III	I	Fréquence des EBLSE selon l'antibiothérapie

	II	Fréquence des EBLSE selon le sexe
	III	Fréquence des EBLSE selon l'Age
	IV	Fréquence des EBLSE selon le type d'accouchement
	V	Fréquences des EBLSE selon le type d'allaitement
	VI	Fréquence des EBLSE selon le motif de consultation

La flore intestinale est représentée par l'ensemble des bactéries peuplant notre tractus digestif. Sa subsistance est assurée par nos résidus alimentaires (Corthier, 2007). Le microbiote intestinal est un écosystème extrêmement complexe. Cet écosystème microbien est un élément actif de la physiologie intestinale, ayant de nombreuses fonctions importantes pour son hôte (Palmer *et al.*, 2007). Il constitue une barrière permettant de limiter la colonisation par des bactéries pathogènes (Goulet, 2009). La composition de la flore varie tout au long du tube digestif avec un gradient croissant dans le sens oral-anal, mais aussi transversalement entre la lumière et la muqueuse intestinale (Seignalet, 2004). La flore intestinale, particulièrement importante au niveau colique, joue un rôle fondamental dans la protection contre les germes pathogènes, en créant une résistance spontanée à la colonisation (Van dec Waaij *et al.*, 1988).

Le microbiote intestinal humain est composé de 10^{13} à 10^{14} bactéries soit 10 à 20 fois plus que le nombre des cellules constituant un individu. Ces microorganismes sont répartis entre 400 à 500 espèces bactériennes (Gras, 2012).

Au cours de la grossesse, le fœtus se trouve dans un environnement stérile et, à la naissance, le tube digestif du nouveau-né constitue un milieu non contaminé. La contamination microbienne commence dès les premiers temps de vie extra-utérine. Il s'agit de bactéries anaérobies facultatives comme des entérobactéries (principalement *Escherichia coli*) qui s'installent dans les 24 à 48 heures suivant la naissance (Cibik *et al.*, 2004).

Le nouveau-né, 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).

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). La flore intestinale des enfants nés en milieu rural est différente de celle des enfants nés en milieu urbain ; cette différence existe aussi pour ceux nés à domicile lorsqu'ils sont comparés aux enfants nés en maternité, et par conséquent à l'hôpital (Lundequist *et al.*, 1985). 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 traitements à base d'antibiotiques pendant 2 à 4 jours pour suspicion d'infection matérnofoetale engendrent une réduction de la diversité du microbiote fécal des nouveau-nés et un retard de colonisation de plus de 10 jours par des espèces (Bonnemaison *et al.*, 2003).

De plus, ces traitements durant les premiers mois de vie favorisent l'implantation de bactéries ayant acquis des mécanismes de résistance (Compeotto *et al.*, 2007). La prise récente d'antibiotique est un facteur de risque reconnu d'infection à entérobactéries résistantes, de fait que les antibiotiques les y sélectionneraient en augmentant leur densité au sein du microbiote (Ruppé *et al.*, 2013). Ces mécanismes de résistance favorisent le transfert horizontal des gènes de résistance permettant ainsi leur dissémination à l'hôpital, dans la communauté ou même dans l'environnement (Arpin *et al.*, 2005).

Les bêta-lactamines constituent une famille d'antibiotiques très largement prescrite en clinique qui agissent en inhibant la biosynthèse du peptidoglycane, principal constituant de la paroi bactérienne par fixation préférentielle à diverses protéines liant les pénicillines (PLP/PBP), enzymes impliquées dans cette synthèse. Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), trois types de mécanismes de résistance, principalement acquis, ont été identifiés : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par des protéines, dénommées bêta-lactamases en raison de leur affinité pour le noyau bêta-lactame (Philippon, 2013). Les β -lactamases sont des enzymes, naturelles ou acquises, produites par les bactéries. Leur activité enzymatique provoque l'ouverture du cycle beta-lactame et crée un intermédiaire acyl-enzyme instable qui est ensuite dégradé en un acide inactif. Elles sont nombreuses et hétérogènes, ce qui justifie dans une certaine mesure les problèmes souvent rencontrés dans leur identification (Vodovar, 2012).

Les deux classifications couramment utilisées pour « classer » les β -lactamases sont celle d'Ambler et celle de Bush Jacoby et Medeiros (Vodovara *et al.*, 2012) dont la classification moléculaire d'Ambler qui classe les β -lactamases dans quatre classes: trois classes d'enzymes sérine-dépendantes (classes A, C, et D) et une classe de métalloblactamases (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 carbapénèmes à sérine et le groupe 3 (classe B) réunissant les métalloblactamases (Bush et Jacoby, 2010).

Les premières BLSE ont été mises en évidence en Allemagne et en France en 1984 (Sirot *et al.*, 1987 ; Anastay *et al.*, 2013). Elles dérivent des β -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 diffusé dans le monde entier (Nicolas-Chanoine, 2012).

Les entérobactéries sécrétrices de BLSE (EBLSE) sont à l'origine d'infections potentiellement sévères et de prescriptions d'antibiotiques à large spectre bactérien. La prévalence de ces EBLSE est en constante augmentation (Vodovar *et al.*, 2012). La diffusion des EBLSE 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).

Les EBLSE ont évolué selon deux vagues épidémiologiques. La première s'est caractérisée par l'émergence et la diffusion en milieu hospitalier, ces BLSE sont dérivées des pénicillinases de type TEM et SHV essentiellement chez *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter aerogenes*. Cependant, la mise en place, dans les années 1990, de mesure de Contrôle dans les services à risque (comme en réanimation) s'est accompagnée d'une décroissance notable des *K. pneumoniae* et d'une évolution contenue des *Enterobacter aerogenes* productrices de BLSE. La deuxième vague s'est caractérisée par l'émergence, à la fin des années 1990, des BLSE de type CTX-M. La production de CTX-M par les microorganismes est constitutive à dissémination horizontale. Les CTX-M constituent une famille hétérogène selon la base de leur séquence protéique et sont divisées en cinq classes principales CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25. La plupart des CTX-M confèrent une résistance de haut niveau au céfotaxime mais le niveau de résistance au céfépime et ceftiofame est variable (Nicolas-Chanoine, 2012).

Les CTX-M sont répandues principalement chez *E.coli*, elles sont par ailleurs résistantes à plusieurs autres familles d'antibiotiques que les β -lactamines. L'installation des CTX-M chez *E. coli*, c'est-à-dire chez l'entérobactérie qui vit en symbiose avec l'homme et qui est excrétée chaque jour à hauteur de 10^{20} unités formant colonies (UFC /gramme), constitue, d'une part, un nouveau péril fécal et, d'autre part, un réservoir sans fond de BLSE pour les autres espèces d'entérobactéries qui colonisent ou transitent le tube digestif humain (Janvier *et al.*, 2011).

Le microbiote intestinal est aussi un 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) ou de carbapénémases (Andremont, 2000).

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 et en milieu communautaire se révèle intéressant afin de limiter le risque d'infection par ces germes multirésistantes et limiter leur diffusion dans le milieu hospitalier et communautaire. C'est dans cet objectif que nous proposons d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques ainsi que la caractérisation des mécanismes de résistance aux β -lactamines chez des souches d'entérobactéries isolés de la flore fécale chez des enfants dans la ville de

Béjaia (cabinet de pédiatrie de la wilaya de Bejaia, EPH d'amizour et de l'hôpital Khallil Amrane).

Pour cela, nous avons opté pour la méthodologie suivante :

- 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.
- Recherche de la production de Carbapénémases en utilisant le Carba NP, test modifié.
- Traitement statistique des données.
- Discussion générale des résultats obtenus.

I.1. Souches Bactériennes

Notre étude est réalisée durant la période du 17 Mars 2015 au 09 Mai 2015 au sein du laboratoire de microbiologie à l'université A. Mira de Bejaia. Elle a pour objectif l'étude des mécanismes de résistance aux β -lactamines chez des souches d'entérobactéries, isolées au niveau des services de pédiatrie (CHU de Béjaia et d'Amizour) et au niveau des cabinets de pédiatrie de la wilaya de Bejaia. Le travail est réalisé sur une collection de souches isolées en 2013 (HAMRIOUI et LATIEME, ABERKANE et BOUCHIHA) et en 2014 (AISSAT et TOUGOUDJI, BOUKHANOUDA, DRAOUI et RABHI).

I.2. Réisolement et Purification

Les souches sont réisolées sur des milieux VRBG et BCP. Après 24h d'incubation, 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.3. Identification

Lorsque la culture est pure, l'identification des entérobactéries est réalisée sur la base de la galerie biochimique classique. Cette dernière comprend plusieurs tests: (Les résultats des tests d'identification sont donnés dans le tableau II, Annexe II).

- **Recherche de la nitrate réductase**

On ensemence le bouillon nitraté avec la suspension bactérienne et on incube à 37°C pendant 24h. La révélation est réalisée en ajoutant 5 gouttes de NR1 et NR2. Une nitrate réductase positive se traduit par l'apparition d'une coloration rouge. Si le milieu reste jaune, on ajoute la poudre de zinc, si la couleur devient rouge, cela confirme que la souche étudiée ne possède pas une nitrate réductase.

- **Fermentation des sucres (glucose, saccharose et lactose), production du gaz et d'H₂S sur gélose TSI**

On ensemence la surface de la gélose TSI par stries, puis le culot par pique 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'H₂S : noircissement du milieu

- **Utilisation du citrate (comme seule source de carbone)**

À partir d'une colonie, la pente du milieu citrate de Simmons estensemencée 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.

- **Étude du type fermentaire (test VP)**

On ensemence le milieu de Clark et Lubs avec la suspension bactérienne et on incube à 37°C/24h. À l'issue de la période d'incubation:

On ajoute 5 gouttes de VPI et 5 gouttes de VPII. La suspension est chauffée et laissée 10 mn avant la lecture. Un test positif se traduit par l'apparition d'une couleur rouge cerise.

- **Étude de la mobilité et de la fermentation du mannitol**

Le milieu Mannitol-mobilité estensemencé 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.

- **Recherche d'uréase, et d'indole, 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 d'indole se manifeste par l'apparition d'un anneau rouge en surface après addition de quelques gouttes du réactif de Kovacs.

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 est testée par la méthode d'antibiogramme

standard par diffusion sur gélose Mueller-Hinton, selon les Recommandations du CFA-SFM (2013).

II.1. Antibiogramme standard

Milieu

Nous avons utilisé la gélose Mueller Hinton. 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

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 $1/10^{\text{ème}}$ (10^7 UFC/ml) de la suspension préparée est réalisée.

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 disques d'antibiotiques à tester sont par la suite déposés à la surface de la gélose, puis les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C . La liste des antibiotiques à tester est donnée dans le tableau N°I.

Tableau N°I : Liste des antibiotiques testés.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (μg)	Marque
	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	20 /10	CYPRESS DIAGNOSTICS BIO-RAD®
	Céfotaxime	CTX	30	CYPRESS DIAGNOSTICS BIO-RAD®

β-lactamine	Céfoxitine	FOX	30	CYPRESS DIAGNOSTICS BIO-RAD®
	Céfépime	FEP	30	CYPRESS DIAGNOSTICS BIO-RAD®
	Imipénème	IMP	10	CYPRESS DIAGNOSTICS
Aminoside	Tobramycine	TOB	10	CYPRESS DIAGNOSTICS
	Amikacine	AK	30	CYPRESS DIAGNOSTICS
Quinolone	Acide nalidixique	AN	30	CYPRESS DIAGNOSTICS

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).

II.2. Recherche de la production de β-lactamases à spectre étendu (test de synergie)

II.2.1. DD-TEST (test de synergie)

La production d'une β-lactamase à spectre étendu a été détectée par l'épreuve de la synergie qui consiste à placer des disques de céftazidime et céfotaxime (30 µg chacun) à une distance de 15mm (centre à centre) d'un disque d'augmentin (amoxicilline-clavulanate) (20 µg et 10 µg, 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.2.2. DD-TEST sur gélose à la cloxacilline

La présence d'une BLSE peut être masquée par la production d'une céphalosporinase. Afin d'inhiber l'activité céphalosporinase, le test de synergie est refait sur gélose Muller-Hinton additionnée de la cloxacilline (250mg/l) (Morin et Fosse, 2008).

II.3. Recherche de la production de Carbapénèmases

Le Carba NP test modifié est utilisé pour la recherche de carbapénèmases.

Réactifs

- Imipénème (TIENAM) (Poudre pour solution injectable IV).
- Tampon de lyse: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) (Sigma-Aldrich).
- Rouge de Phénol en poudre.
- ZnSO₄, 7 H₂O en poudre (BIOCHEM CHEMOPHARMA).

La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- 1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0,5% poids/volume.
- 2- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16,6ml d'eau distillée.
- 3- Ajouter au mélange 180µl d'une solution de ZnSO₄ 10mM.
- 4- Ajuster le pH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

Pour détecter la production d'une carbapénémase, on procède comme suit :

- 1- Dans un tube Eppendorf, mettre 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %).
- 2- Suspendre une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse et vortexer 1 à 2 min.
- 3- Transférer 100µl dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B".
- 4- Ajouter 100µl de Solution A dans le tube Eppendorf "A" et 100µl de la Solution A+ imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B".
- 5- Vortexer 5 sec puis incubé à 37°C pendant un maximum de 2h.

La lecture visuelle est effectuée dans chaque tube Eppendorf et les résultats sont interprétés selon le tableau ci-dessous (Bakour *et al.*; 2014).

Tableau II. Interprétation des résultats du Carba NP test modifié.

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénémase
Rouge	Orange/Jaune	production de carbapénémase
Jaune	Jaune	Non interprétable

III .Traitement statistique des données

La détermination des facteurs de risque est réalisée en utilisant le test Khi2 et le test Exact de Fisher avec le logiciel statistique XLSTAT 2009.

I. Souches bactériennes isolées

Le nombre de prélèvement effectué durant la période de 2013 et de 2014 est de 498 prélèvements. Le nombre de souches étudiées est de 370 souches, dont 246 souches d'entérobactéries sont isolées au niveau des services de pédiatrie (CHU de Béjaia et d'Amizour) (AISSAT ET TOUGOUDJIT (67), BOUKHAOUFA (40), HAMRIOUI et LATIEME (58), ABRKANE et BOUCHICHA (81)), et 124 souches d'entérobactéries sont isolées au niveau des cabinets de pédiatrie de la wilaya de Béjaia (DRAOUI et RABHI (82), HAMRIOUI et LATIEME (42)). Parmi les 370 souches collectées, nous avons travaillé sur 87 souches d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération.

I.1. Recherche de BLSE

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches identifiées est donné dans le tableau III (annexe II). Des tests phénotypiques de détection des BLSE sont utilisés durant cette étude:

➤ DD-Test

Le DD-test effectué sur toutes les souches d'entérobactéries identifiées a révélé la présence d'une image de synergie chez 36/370 souches (9,73%), ce qui indique la présence probable d'une β -lactames à spectre étendu (BLSE). Les résultats de ce test sont résumés dans le tableau III (annexe II). La présence d'une image de synergie est montrée dans la figure 01.



Figure 01 : Image de synergie obtenue pour la souche G11 (CAZ) (*K.pneumoniae*)

➤ **DD-Test sur gélose Mueller-Hinton additionnée de cloxaciline**

L'image de synergie peut être masquée par présence de l'activité céphalosporinase (chromosomique ou plasmidique), un DD-test est alors effectué sur gélose Mueller-Hinton additionnée de la cloxaciline à une concentration de 250µg/ml.

24 souches présentaient une image de synergie révélant la présence d'une β-lactamase à spectre étendu (BLSE) et 15 souches présentaient une récupération de la zone d'inhibition ($\geq 6\text{mm}$) rendant compte de la présence possible d'une céphalosporinase chromosomique (hyperproduction d'AmpC naturelle) ou d'une céphalosporinase plasmidique (AmpC aquirée). Les diamètres des zones d'inhibition sur gélose Mueller Hinton puis sur gélose Mueller Hinton additionnée de la cloxaciline sont donnés dans le tableau IV (annexe II).

Le résultat de la présence de synergie chez la souche P07Z (*K. pneumoniae*) est illustré sur la figure 02.

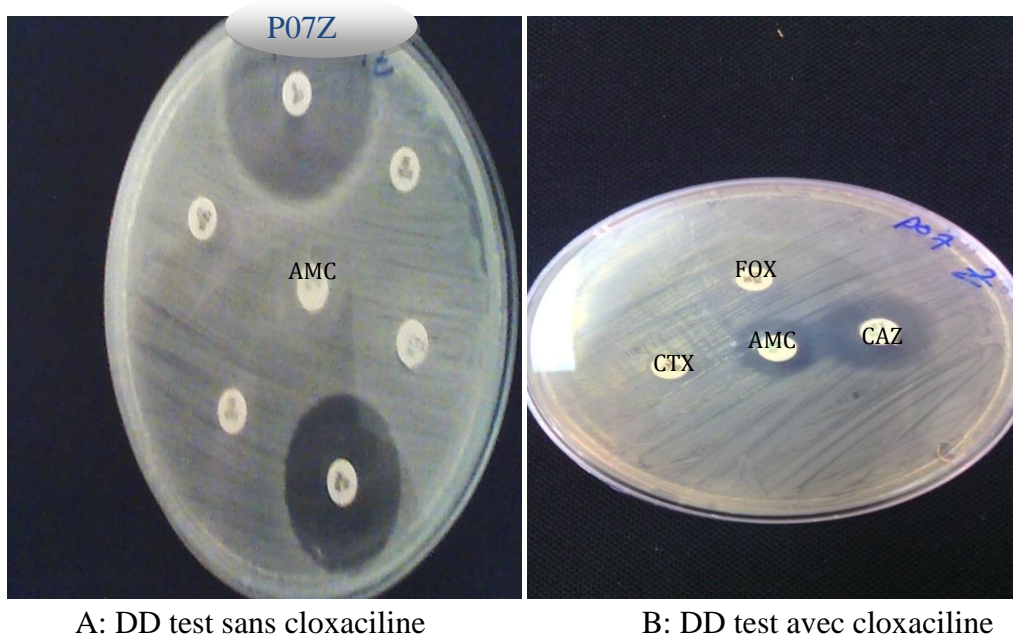


Figure 02 : Résultat de la présence de synergie avec cloxaciline pour la souche P07 (*K. pneumoniae*).

I.2. Recherche de la production de céphalosporinases plasmidiques /chromosomique

27 souches présentaient une récupération de la zone d'inhibition ($\geq 6\text{mm}$) indique la présence possible d'une céphalosporinase chromosomique (hyperproduction d'AmpC naturelle) ou d'une céphalosporinase plasmidique (AmpC acquise). Les diamètres des zones d'inhibition des souches productrices de céphalosporinase chromosomique /plasmidique sont donnés dans le tableau V (annexe II).

La production d'une céphalosporinase plasmidique est illustrée sur la figure 03.

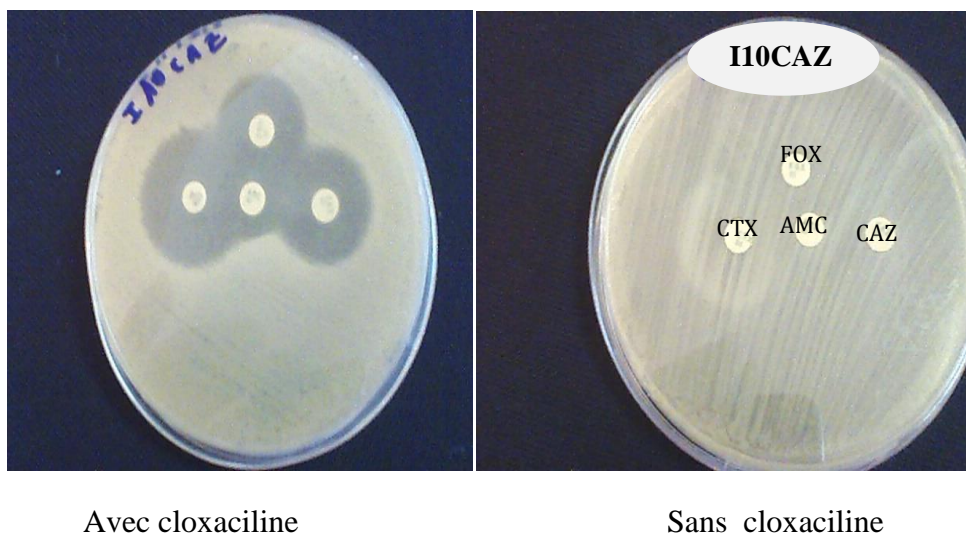


Figure 03 : Résultat de la présence d'une céphalosporinase plasmidique pour la souche I10 (CAZ) (*K.pneumoniae*).

I.3. Recherche de la production de carbapénémases

➤ Carba NP test modifié

Le test a été effectué sur un total de 87 souches. Aucune souche n'est retrouvée productrice de carbapénémase. Les résultats négatifs ont été observés à différents temps pour toutes les souches testées. Le résultat est présenté dans la figure 04.



Figure 04 : Résultat de Carba NP test modifié négatif

I-4-Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines

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

Tableau N°III : Critères de distinction des phénotypes de résistance probables (**Bonnet et al., 2006**).

	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

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

II.1. Portage fécal d'EBLSE identifiées

Sur les 87 souches identifiées, 60/87 souches sont productrices de BLSE.

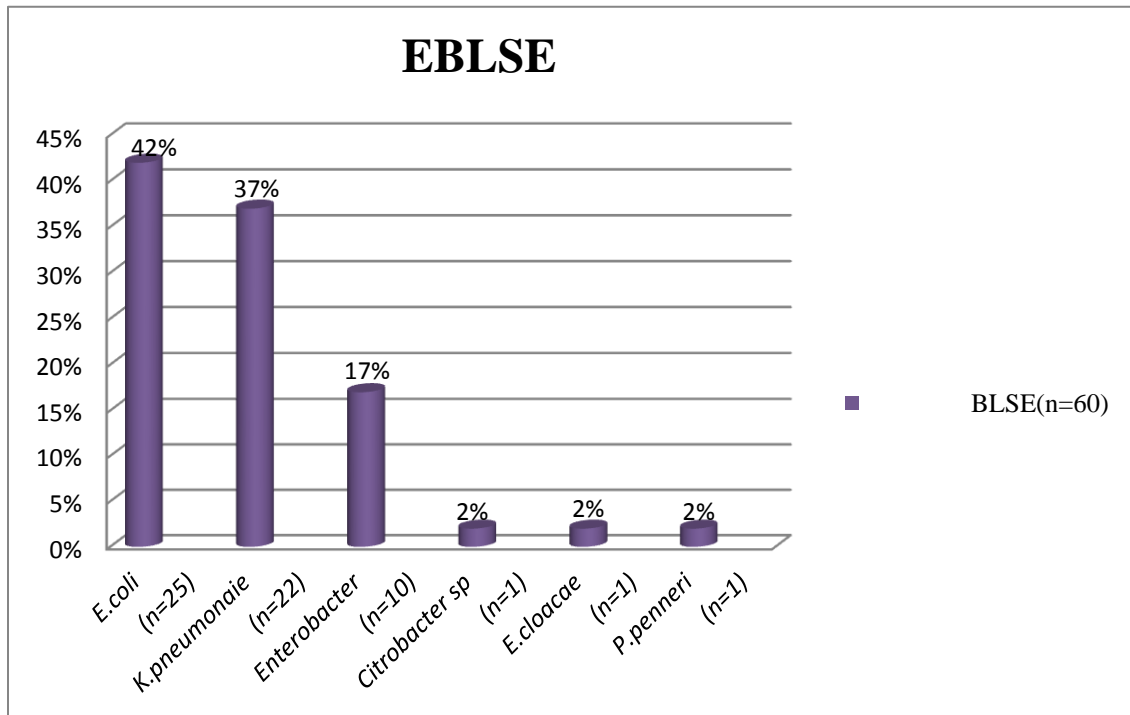


Figure 05: Répartition des souches d'EBLSE par espèce.

La figure 05 montre une prédominance d'*E. coli* (25 /60) avec un taux de 42 %, suivi par *K.pneumoniae* (22/60) avec 37%, et d'*Enterobacter sp* avec 17% (10 /60). Les autres espèces sont faiblement représentées.

II.2. Portage fécal d'EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux

Le nombre total d'EBLSE retrouvées est de 60, réparti dans les cabinets et les hôpitaux avec un taux de 45% (27/37) EBLSE au niveau des cabinets et de 55% (33/50) EBLSE au niveau des hôpitaux (figure 06).

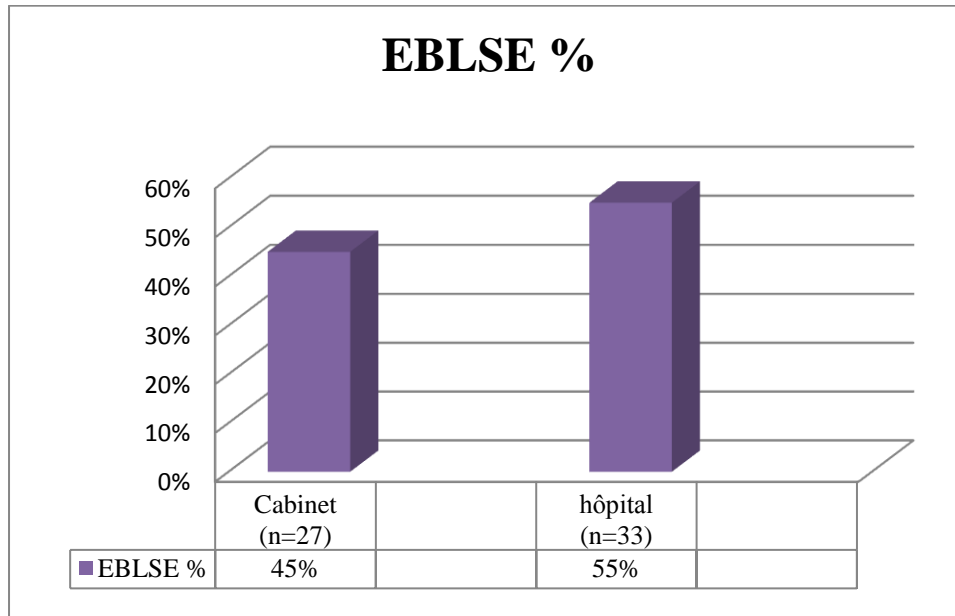


Figure 06 : Répartition des souches d’EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux.

II.3. Portage fécal d’EBLSE selon le sexe

Le portage des EBLSE est plus élevé chez les patients du sexe féminin avec un taux de 53% (32/60) que chez le sexe masculin avec 47% (28/60). L’analyse statistique des données faite par le test (Khi^2) et le test exact de Fisher révèle que le sexe n’est pas considéré comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE (Annexe III, tableau N°II). La répartition des EBLSE selon le sexe est représentée dans la figure 07.

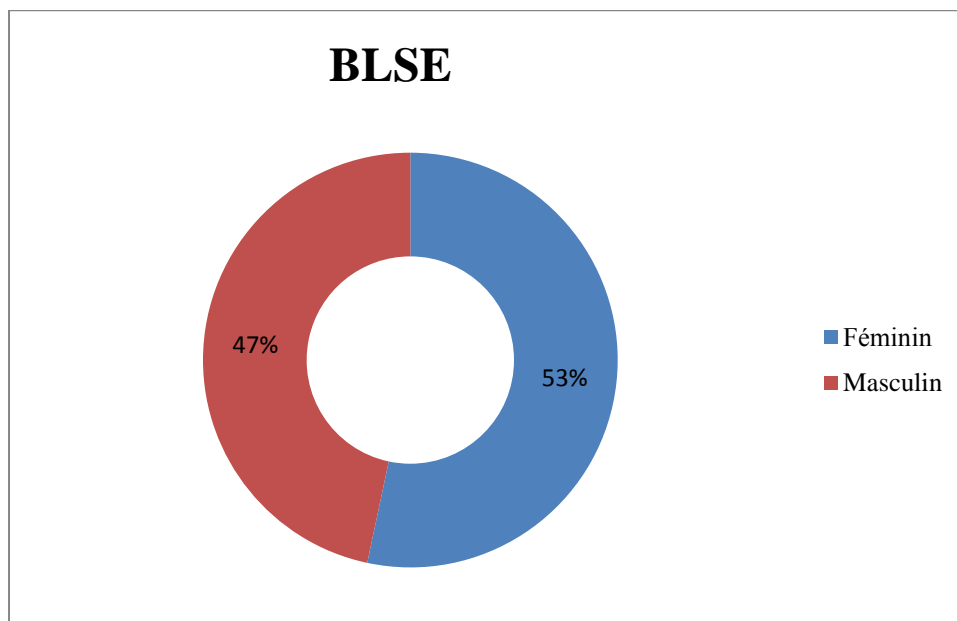


Figure 07 : Répartition des souches d’EBLSE selon le sexe

II.4. Portage fécal d’EBLSE selon l’âge

Les EBLSE sont retrouvées à un taux élevé chez les nourrissons qui est de 76,66 %. Le test Khi^2 révèle que l’âge n’est pas considéré comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE (Annexe III, tableau N°III). La répartition de ces EBLSE selon l’âge est illustré ci-dessous.

Tableau N°II : Répartition des souches d’EBLSE selon l’âge.

	Souches résistantes	Souches sensible	Total	Taux de résistance
Nouveau- nés	4	2	6	6,66%
Nourrissons	46	21	67	76,66%
Enfants	10	4	14	16,66%

II.5. Portage fécal d’EBLSE selon l’antibiothérapie.

42% (25/60) des souches productrices de BLSE sont identifiées chez des enfants sous antibiothérapie au cours de cette étude. Selon le test de Khi^2 et le test exact de Fisher, l’antibiothérapie n’est pas considérée comme un facteur de risque d’acquisition d’EBLSE (Annexe III, tableau N° I).

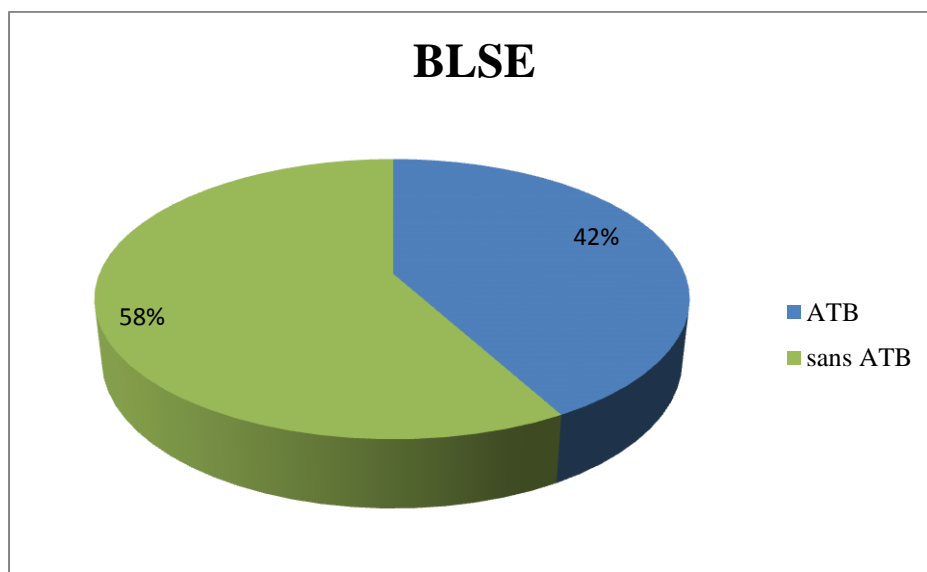


Figure 08 : Répartition des EBLSE selon l’antibiothérapie.

III.6. Portage fécal d'EBLSE selon le mode d'accouchement

Selon le test de (Khi^2) et le test exact de Fisher, le mode d'accouchement n'est pas considéré, comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe III, tableau N°IV). La figure ci-dessous montre la répartition des EBLSE selon le mode d'accouchement.

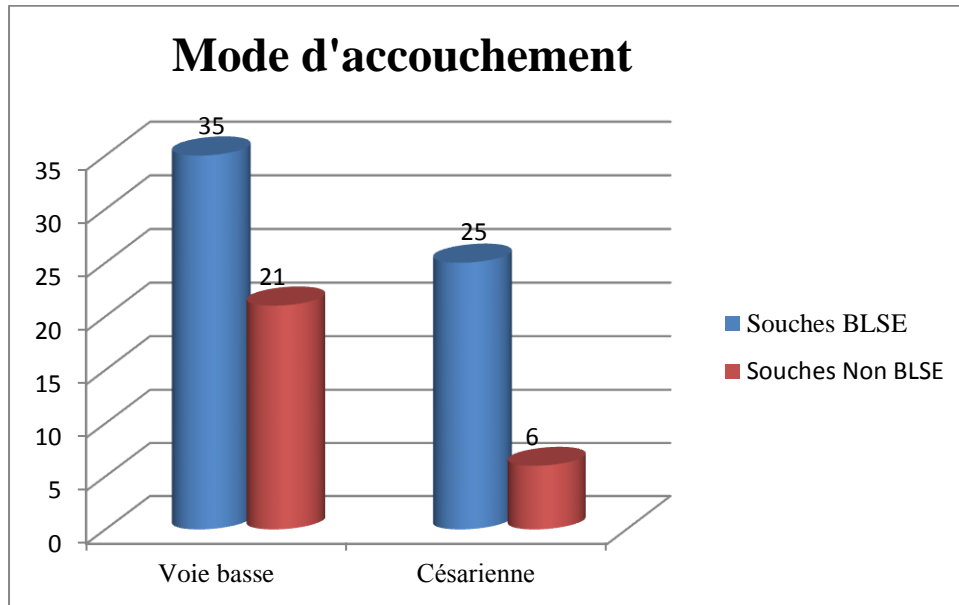


Figure 09: Répartition des souches résistantes et sensibles selon le mode d'accouchement.

III.7. Portage fécal d'EBLSE selon le mode d'allaitement

Selon le test de khi^2 et le test exact de Fisher, le mode d'allaitement n'est pas considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe III, tableau N°V). Les résultats obtenus sont résumés dans la figure suivante.

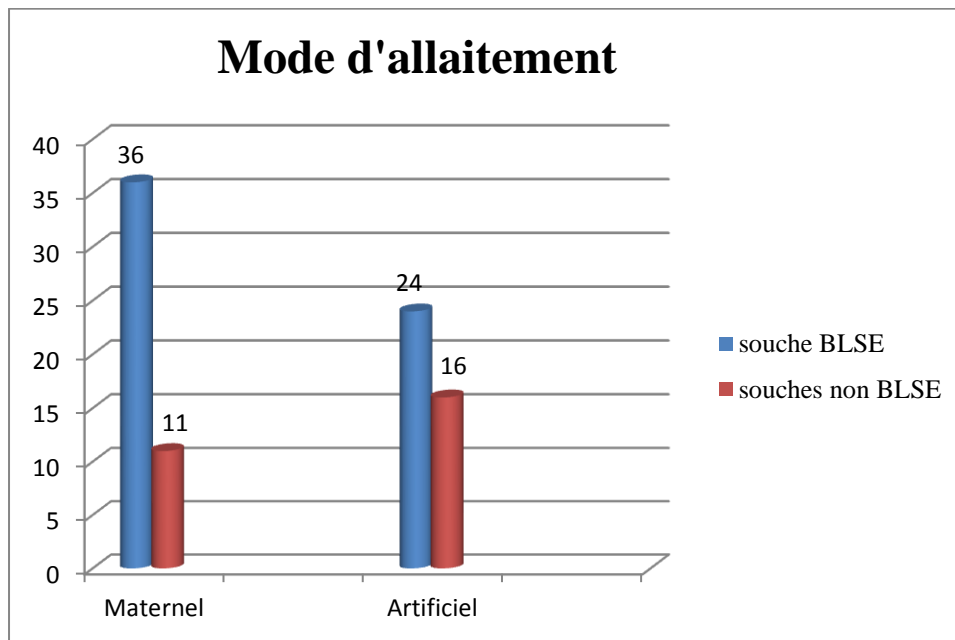


Figure 10: Répartition des souches EBLSE selon le mode d'allaitement

II.8. Portage fécal des EBLSE selon le motif de consultation au cabinet et d'admission à l'hôpital

Les motifs de consultation et d'admission au niveau des hôpitaux et des cabinets de pédiatrie montrent une présence d'EBLSE plus importante chez les patients atteints de bronchiolites. Le Test χ^2 révèle que le motif de consultation n'est pas considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe III, tableau N°VI).

Les différents motifs sont représentés dans la figure suivante.

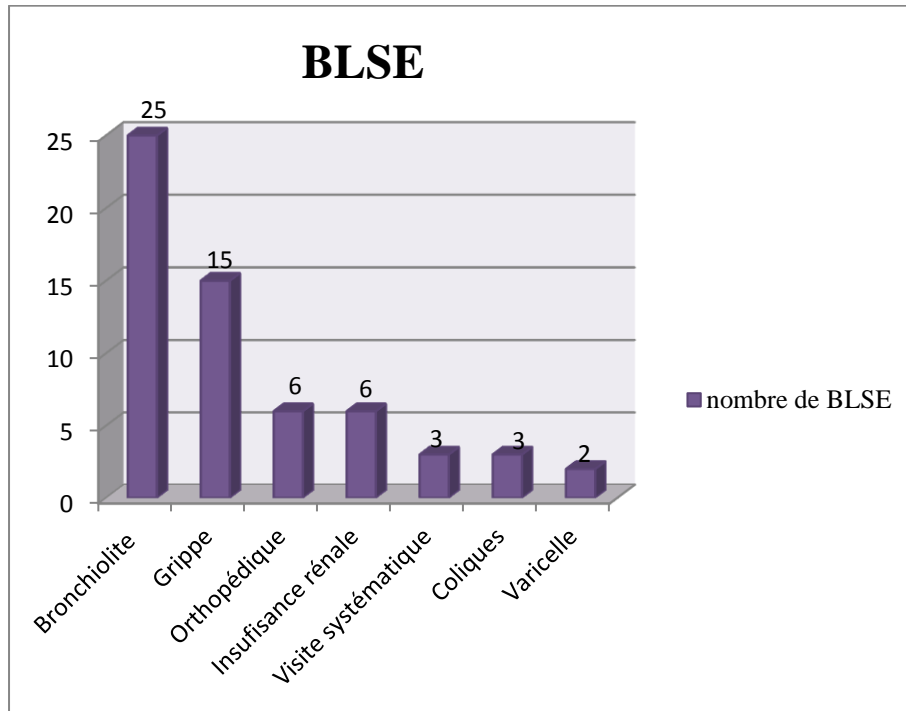


Figure 11: Répartition des EBLSE selon les motifs de consultation et d'admission.

II. Discussion générale

Les résistances aux β -lactamines chez les entérobactéries sont dominées actuellement par les problèmes de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) parmi les isolats communautaire et les isolats hospitaliers (Vodovar *et al.*, 2012).

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 par des 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 (Godreuil *et al.*, 2007).

La plupart des entérobactéries étant des souches de colonisation, sans indications de traitement constituent dès lors un important réservoir de BMR (Bactéries multi résistance) (Mayoral *et al.*, 2010).

Les patients les plus colonisés sont les jeunes enfants et les personnes âgées, dus à leur faible immunité. Les infections dépendent de l'état du patient et sont favorisées par la technicité des actes et traitements. En effet, un taux assez important d'infections ou de colonisations est souvent enregistré au niveau des pédiatries des hôpitaux (Rodrigeuz-Bano *et al.*, 2006).

Sur les 87 souches identifiées, dont 37 souches isolées au niveau des cabinets et 50 souches au niveau des hôpitaux, nous avons retrouvé un taux élevé de *Klebsiella sp* (17,24%), suivi d'*E.coli* avec un taux de 14,94 % au niveau des cabinets, les autres espèces sont faiblement représentées. Ces résultats ne concordent pas avec ceux obtenus par l'équipe de Barguigua *et al.* (2011) menée au Maroc sur la caractérisation des souches de *E. coli* et *K. pneumoniae* productrices de BLSE isolées dans la communauté où une dominance apparente d'*E.coli* a été signalée. Quant aux 50 souches isolées au niveau des hôpitaux, un taux élevé d'*Enterobacter sp* (18,39 %) a été retrouvé suivi d'*E. coli* avec un taux de 17,24% et de *Klebsiella sp* avec 11,49%. Les autres espèces sont faiblement représentées. Selon Quinet *et al.*, 2010, les principales épidémies hospitalières dues à des

entérobactéries ont concerné principalement *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* mais, depuis une décennie, nous assistons à une augmentation de la fréquence d'*E. coli* producteur de BLSE aussi bien en milieu communautaire qu'en intra-hospitalier.

La résistance des entérobactéries aux β -lactamine 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 hyperproduites et les céphalosporinases plasmidiques.

L'analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches d'entérobactéries a montré qu'elles résistent par plusieurs mécanismes (naturels et/ou acquis) : par production d'enzyme chromosomique inductible, de céphalosporinases chromosomiques (entérobactéries du groupe 3), de céphalosporinases plasmidiques, de BLSE et par l'association de ces mécanismes.

Une autre tendance rapportée pour ces bactéries, est l'augmentation de la prévalence de production d'AmpC plasmidiques. En effet, ces quelques dernières années, les microorganismes producteurs d'AmpC étaient l'une des plus importantes causes d'infections nosocomiales et considérés comme des réservoirs discrets de BLSE (Parka *et al.*, 2009).

La prévalence des enfants porteurs d'entérobactéries productrices d'AmpC plasmidiques est de 18,39% (16/87).

La prévalence de patients porteurs d'EBLSE avoisine les 12.05% (60/498). Cette prévalence témoigne la dissémination 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 (Carrèr et Nordmann, 2009).

L'émergence des EBLSE dans les infections communautaires, particulièrement les infections urinaires est une réalité depuis une dizaine d'années. L'espèce la plus fréquemment observée est *E. coli* (Janvier *et al.*, 2011).

Les 60 EBLSE isolées sont réparties en 27 EBLSE au niveau des cabinets de la wilaya de Béjaïa et 33 EBLSE au niveau des hôpitaux (Amizour et CHU de Béjaïa).

Les BLSE de types CTX-M sont les enzymes les plus répandues, distribuées à la fois sur de vastes régions géographiques et entre une large gamme de bactéries cliniques,

en particulier, les membres de la famille des entérobactéries (Ben Achour *et al.*, 2009). Les BLSE de type CTX-M est, le phénotype de résistance le plus répandu dans notre étude. Il s'agit probablement de BLSE de type CTX-M-15. Ces dernières sont les plus isolées en Algérie (Touati *et al.*, 2006; Ramdani-Bouguessa *et al.*, 2006; Iabadene *et al.*, 2009 ; Gharout *et al.*, 2012).

Plusieurs facteurs de risque d'acquisition des BMR ont pu être soulevés comme le sexe, l'âge, le mode d'accouchement, et le mode d'allaitement. 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 estimées 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).

Dans notre étude, l'étude statistique des facteurs de risque d'acquisition des EBLSE, a montré que le sexe, l'âge, le mode d'accouchement, le mode d'allaitement, l'antibiothérapie, et le motif de consultation et d'admission ne sont pas considérés comme facteur de risques d'acquisition de BLSE.

Différentes techniques ont été développées afin de répondre au besoin d'identification des bactéries productrices de carbapénémase telles que le test de Hodge, le test à l'EDTA, ainsi que la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Récemment, des publications ont décrit une nouvelle technique de détection des carbapénèmases dont le principe repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu en cas d'hydrolyse de l'imipénème par les enzymes de type carbapénémase. Le Carba NP test est un test biochimique basé sur l'identification de la production de carbapénémase chez les bactéries à Gram négatif par détection de l'hydrolyse de l'imipénème en utilisant le rouge de phénol comme indicateur de couleur et un tampon de lyse pour les *Enterobacteriaceae* et les *Pseudomonas* (Carba NP test) (Nordmann *et al.*, 2012 ; Dortet *et al.*, 2012).

Le test a été effectué sur un total de 87 souches d'entérobactéries, et aucune souche n'est retrouvée productrice de carbapénémase.

Les entérobactéries productrices de BLSE sont historiquement décrites dans les infections associées aux soins (Jarlier *et al.*, 2004) . 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. De fait, l'augmentation des EBLSE est maintenant observée partout dans le monde non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires (Pitout *et al.*, 2005; Arpin *et al.*, 2009). L'actuelle diffusion des EBLSE apparaît être la conséquence de 2 phénomènes : la pression de sélection des antibiothérapies utilisées en médecine humaine et la transmission croisée de ces bactéries commensales digestives en milieu hospitalier et en milieu communautaire (Kritsotakis *et al.*; 2011).

La prévention des infections par EBLSE et de leur dissémination est un problème de santé publique. L'approche doit être pluridimensionnelle et intégrer la rationalisation de la consommation des antibiotiques et de leur prescription (Zahar *et al.*; 2011).

Au terme de cette étude effectuée au sein du laboratoire de microbiologie à l'université A. Mira de Bejaia, et qui a pour objectif l'étude des mécanismes de résistance aux β -lactamines chez des souches d'entérobactéries, isolées au niveau des services de pédiatrie (CHU de Béjaia et d'Amizour), et au niveau des cabinets de pédiatrie de la wilaya de Bejaia. Le nombre des souches d'entérobactéries collectées est de 370 souches, dont 246 souches d'entérobactéries sont isolées au niveau des services de pédiatrie (CHU de Béjaia et d'Amizour) (AISSAT ET TOUGOUDJIT, BOUKHAOUFA, HAMRIOUI et LATIEME, ABRKANE et BOUCHICHA), et 124 souche d'entérobactéries sont isolées au niveau des cabinets de pédiatrie de la wilaya de Béjaia (DRAOUI et RABHI, HAMRIOUI et LATIEME).

Les résultats d'identification ont montré une prédominance d'*E. coli* (28 /87) suivi de *Klebsiella sp* (25/87) et d'*Enterobacter sp* (22/87).

Le test de synergie a montré que 60 souches sont productrices de BLSE. Le phénotype de résistance le plus couramment observé est BLSE de type CTX-M.

La prévalence de porteurs d'EBLSE est de 12,05% (60/498). Dans notre étude, l'étude statistique a montré que le sexe, l'âge, le mode d'accouchement, le mode d'allaitement, l'antibiothérapie, et le motif de consultation et d'admission ne sont pas considérés comme facteur de risques d'acquisition de BLSE.

La lutte contre la diffusion des bactéries multi-résistantes est un axe majeur de santé publique dans le monde. Un des moyens mis en avant depuis plusieurs années est la diminution de la consommation globale d'antibiotiques.

Notre étude reste préliminaire et mérite d'être plus approfondie, et doit être complété par les techniques de biologie moléculaire pour la caractérisation des gènes de résistance et le typage des souches.

Bibliographie

A

Anastay M, Lagier E, Blanc V, Chardon H. (2013). Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les Enterobacteries dans un hôpital du sud de la France, 1999–2007. *Pathol Biol.* **61**, 38–43.799.

Andremont A. (2000). Conséquences de l'antibiothérapie sur l'écosystème intestinal. Éditions scientifiques et médicales Elsevier. *Ann Fr Anesth Réanim.* **19**: 395–402.

Arpin C, Dubois V, Maugein J, Jullin J, Dutith B, Brochet PJ, Larribet G, Fischer I, and Quentin C. (2005). Clinical and molecular analysis of extended-spectrum β -lactamase producing *Enterobacteria* in the community setting. *J Clin Microbiol.* **43**: 5048-5054.

B

Bakour S, Loucif L, Brunel JM, Touati A, Rolain JM. Rapid identification of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a Modified Carba NP test (Soumis).

Barguigua A, El Otman F, Talmi M, Bourjilat F, Haouzane F, Zerouali K. and Timinou M. (2011). Characterization of extended-spectrum lactamases producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from the community in Morocco. *Med Microbiol.* **60**:9 1344-1352.

Ben Achour N, Mercuri PS, Power P, Belhadj C, Ben Moussa M, Galleni M, et Belhadj O. (2009). First detection of CTX-M-28 in a Tunisian hospital from a cefotaxim-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain. *Pathol Biol.* **57**: 343-348.

Bonnemaison E, Lanotte P, Cantagrel S, Thionois S, Quentin R, Chamboux C, et al. (2003). Comparison of fecal flora following administration of two antibiotic protocols For suspected materno-fetal infection. *Biol Neonate*. **84**: 304-10.

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 AJ, Doucet-Populaire F, Kalach N, Dupont C, Butel MJ (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.

Carrër A, Nordmann P. (2009). *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15: vers une modification de l'épidémiologie des β -lactamases à spectre étendu. *Pathol Biol*. Article in Press.

Cibik R, Marcille F, Corthier G, Dore J. (2004). La flore intestinale : mise en place, description et influence du mode d'alimentation. *Archives de pédiatrie* **11**: 573-575.

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

D

Dortet L, Poirel L, Nordmann P. (2012). Rapid detection of carbapénémase producing *Pseudomonas* spp. J Clin Microbiol. **50** : 3773-3776.

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

G

Gewolb IH, Schwalbe RS, Taciak VL, Harrison TS, Panigrahi P. (1999). Stool microflora in extremely low birth weight 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 J Microbiol Res **6**(25): 5306-5313.

Godreuil S, Torrea G, Terru D, Chevenet F, Diabougba S, Supply P, Van de Perre P, Carriere C, et Banuls AL. (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.

Gras – Le Guen C, Launay E, Caillon J. (2012). Conséquences à long terme de l'antibiothérapie néonatale .Elsevier Masson SAS. Pédiatrie, Hôpital CHU Nantes, France Équipe d'accueil 3826, Faculté de médecine.

Guillet M, Bille E, Lecuyer H, Taieb F, Masse V, Lanternier F, Lage-Ryke N, Talbi A, Degand N, Lortholary O, Nassif X, Zahar JR. (2010). Epidemiology of patients harboring extended-spectrum bêta-lactamase-producing enterobacteriaceae (ESBLE), on admission.Laboratoire de microbiologie,

d'hygiène hospitalière, hôpital Necker–Enfants-Malades, AP-HP, université Paris Descartes, 145, rue de Sèvres, 75015 Paris, France.

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

Janvier F, Mérens A, Delaune D, Soler C. and Cavallo JD. (2011). Faecal carriage of third generation cephalosporin's resistant *Enterobacteriaceae* in asymptomatic young adults: evolution between 1999 and 2009. *Pathol Biol*. **59** (2): 97–101.

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.

Jarlier V. (2004) Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : des premiers indicateurs au réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). *BEH* ; 32–33:148–51.

K

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

Kritsotakis EI, Tsioutis C, Roubelaki M. (2011). Antibiotic use and the risk of carbapenem- resistant extended- spectrum- (beta) lactamase- producing *Klebsiella pneumoniae* infection in hospitalized patients: results of a double case- control study. *J Antimicrob Chemother.* **66**: 1383- 91.

L

Lundequist B , Nord CE, Winberg J. The composition of the faecal microflora in breast-fed and bottle-fed infants from birth to eight weeks. *Acta Paediatr Scand* 1985 ; **74** : 45-51.

M

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. *Pathol Biol.* **58** : 7-10.

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). *Med maladies infect.* **38** ,293–298.

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

N

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

Nordmann P, Poirel L, Dortet L. (2012). Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* **18**: 1503-1507.

P

Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB, Relman DA, Brown PO. (2007). Development of the Human Infant Intestinal Microbiota. *PLoS Biol.* **5**(7), 177.

Parka YS, Yoo S, Seo M.R, Kim JY, Cho Y.K. etPai H. (2009). Risk factors and clinical features of infections caused by plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Inter J Antimicrob Agent.* **34** : 38-43.

Philippon A (2013). Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). *Immuno-Anal et Biol Spe* .28, 287–296.

Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L(2005). Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum-bêta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother* .**56**:52–9.

Q

Quinet, D. Mitanchez, B. Salauze, A. Carbonne, E. Bingen, S. Fournier, D. Moissenet, H. (2010). Description and investigation of an outbreak of extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* strain in a neonatal unit *Archives de Pédiatrie.* **17**: S145-S149.

R

Ramdani-Bouguessa 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 *Escherichiacoli* from a Hospital in Algiers, Algeria. *J Clin Microbiol.* **4**, 4584–

4586.

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

Rodriguez-Bano J, Navarro M.D, Romero L, Muniain MA, Perea EJ, Perez-Cano R, Hernandez JR. et Pascual A. (2006). Clinical and Molecular Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* as a Cause of Nosocomial Infection or Colonization: Implications for Control. *Clin Infec Dis.* **42**: 37-45.

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

S

Seignalet J. (2004). *L'alimentation ou la troisième médecine.* Paris: François-Xavier de Guibert.

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 weigh infants. *N Engl J Med.* 347,240-7

T

Tannock GW, Fuller R, Smith SL, Hall MA. (1990). Plasmid profiling of members of the family *Enterobacteriaceae*, *lactobacilli*, and *bifidobacteria* to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J Clin Microbiol.* 28: 1225-8.

Touati A. (2006). Caractérisation des phénotypes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines isolées en milieu hospitalier : cas de deux hôpitaux de la wilaya de Béjaia. Thèse de doctorat. Université A/MIRA. 86p.

V

Valverde A, Grill F, Coque TM, Pintado V, Baquero F, Canton R, Cobo J. (2008). High rate of intestinal colonization with extended-spectrum-bêta-lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. *J Clin Microbiol.* **46**(8), 2796-2

Van dec Waaij D. (1988) Determination of the colonization resistance of the digestive tract of individual mice. *J Hyg Comb* **72**: 379-89

Vodovar D, et al. (2012). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *Rev Med Interne*

W

Wright G D. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: Enzymatic degradation and Modification. *Adv Drug Deliv Rev.* 57, 1451- 1470.

Z

Zahar JR, Mamzer MF, Kouatchet A. Contact isolation in the intensive care units: why, when and adverse effects. *Reanimation* 2011; 21 (Suppl. 2):494–502.

ANNEXE 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	

Gélose EMB :

Peptone	10 g
Lactose	10 g
Phosphate bipotassique	2g
Eosine	0.4g
Bleu de méthylène	0.065g
Gélose	15g
PH : 7.1	

Gélose Mueller Hinton :

Infusion de viande de boeuf	3g
Hydrolysate de caséine	17, 5g
Amidon	1, 5g
Agar	17g
PH : 7,4	

Gélose VRBG :

(grammes/litre)	
Extrait de levure	3,0
Peptone	7,0

Chlorure de sodium.....	5,0
Sels biliaires	1,5
Glucose	10,0
Rouge neutre.....	0,03
Cristal violet.....	0,002
Agar	12,0

PH 7,4 ± 0,2

Gélose BCP :

Dans un volume final d'un litre:

<u>Peptone</u>	5,0 g
<u>Extrait de viande</u> de bœuf	3,0 g
<u>Lactose</u>	10,0 g
Pourpre de bromocrésol	25 mg
<u>Agar</u>	15 g

PH = 6,8

Gélose TSI (Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de boeuf	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 trypsique 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 :

α-naphtol 6g

Alcool à 90° 100 ml

VPII:

NaOH 4N

ANNEXE II

Tableau I: diamètres des zones d'inhibition 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
Céfoxitine	FOX	30	≥22	<15	≤8	>32
Céfotaxime	CTX	30	≥26	<23	≤1	>2
Céftazidime	CAZ	30	≥26	<21	≤1	>4
Céfépime	FEP	30	≥24	<21	≤1	>4
Imipénéme	IMP	10	≥24	<17	≤2	>8
Tobramycine	TOB	10	≥18	<16	≤2	>4
Acide naldixique	AN	30	≥20	<15	≤8	>16
Amikacine	AK	30	≥18	<16	≤8	>18

Tableau II : résultats des tests d'identification des entérobactéries isolées:

« Cabinets »

Code	Espèce	NIT	LAC	H ₂ S	CIT	VP	URE	IND	MAN	MOB
A07(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
A17(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
G03(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
G22(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
G29(CAZ)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
G34(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H06(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H08(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H13(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H17(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H19(CAZ)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H27(CTX)	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
H17	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
G19(CTX)	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
I10CAZ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
G32(CAZ)	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
I13CAZ	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-

A30 (CAZ)	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
I10CTX	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
G11(CAZ)	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
G37(CAZ)	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
H19CAZ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
A03CTX	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
H16CAZ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
H01CAZ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
A18CAZ C/G	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
G18(CTX)	<i>k.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
G39(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
G32(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
G35(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
I14CTX	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
I08CAZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
G33(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
G38(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
I13CTX	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
A23 CTX	<i>Serratia marcescens</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	+
H23CTX	<i>Serratia marcescens</i>	+	-	-	+	+	-	-	-	+
G13CAZ	<i>P.mirabilis</i>	+	-	+	-	-		-	-	+
H16CTX	<i>P.mirabilis</i>	+	-	+	-	-		-	-	+
H12(CTX)	<i>C.freundii</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+

Hôpital										
Code	Espèce	NIT	LAC	H2s	CIT	VP	URE	IND	MAN	MOB
P004	<i>Ecoli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P012	<i>Ecoli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P015CAZ	<i>Ecoli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P03 Z	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P05RX	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P05X	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P06MZ	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P20XJJ	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P26X	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P27pbX	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P29X	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P30MX	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P34gZ	<i>E. coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
SPM65CTXJ	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
SPM50CTXR	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
SPM34CAZ	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P07Z	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P24	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P29X	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P29Z	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	-	-	+	+	+
P007	<i>k .pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P008	<i>k .pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P18X	<i>k .pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	+

P31PPZ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	+
P31PMZ	<i>k.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	+
SPM47CTXJ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
SPM50CAZR	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
SPM64CTXJ	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
SPM53CTXR	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P03	<i>k.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P22X	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P23X	<i>k.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P23Z	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	-	+	-
P002	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P003	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P020CTX	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P10X	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P10FZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P13X	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P19CAZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P24/gZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P27RZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P34gX	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P39RZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P39MZ	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P44g	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P01	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
P06	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+

P32X	<i>Enterobacter sp</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
H04CTX	<i>C.freundi</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	+
P12Z	<i>Citrobacter sp</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+
P25bZ	<i>Citrobacter sp</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+
P28MPX	<i>Citrobacter sp</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+
P28Z	<i>Citrobacter sp</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+
P25X	<i>Citrobactersp</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+
SPM12CAZJ	<i>E.cloacae</i>	+	+	-	+	+	-	-	+	+
SPM07CAZ	<i>Salmonella sp</i>	+	+	+	+	-	-	-	+	+
SPM32CTXR	<i>K.oxytoka</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
SPM49CTXJ	<i>K.oxytoka</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	-
SPM47CTXR	<i>E.sakazakii</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+
SPM51CTXJ	<i>P.penneri</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	+
P30X	<i>P.mirabilis</i>	+	-	+	-	-	-	-	-	+

Tableau III : Résultats de l'antibiogramme.

« Cabinet »

Tableau IV : Diamètres des zones d'inhibition des souches résistantes aux B-lactamines sur gélose Mueller-Hinton avec et sans cloxacilline

code	Espece			Antibiogramme1						synergie
				AMC	CTX	CAZ	FOX	IMP	FEP	
<i>H27(CTX)</i>	<i>E. coli</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	S/28	S/26	NON
<i>P012</i>	<i>Ecoli</i>	2013	MH	10/R	32/S	25/I	24/S	36/S	36/S	NON
			MH+CLX	R/8	S/25	R/15	S/22	/	SI24	OUI
<i>G38(CAZ)</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	32/S	R	NON
			MH+CLX	R/6	R/15	R/16	22/S	/	R	OUI
<i>I13CTX</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	20/S	/	NON
			MH+CLX	R/6	R/6	R/6	23/S	/		OUI
<i>G19(CTX)</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	6R	6R	6R	R/6	S/27	R	NON
			MH+CLX	10R	R	R	22/S	/	R/26	OUI
<i>I10CAZ</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/11	R/13	R/19	6/R	26/S	S/27	NON
			MH+CLX	16/R	28/S	22/I	23/S	/	/	OUI
<i>G32(CAZ)</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	I/17	R/13	R/13	13/R	32/S	R/15	NON
			MH+CLX	R/6	24/I	11/R	23/S	/	/	OUI
<i>I13CAZ</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	15/R	24S	29/S	NON
			MH+CLX	R/6	R/6	R/6	11/R	/	/	OUI
		2014	MH	6R	6R	6R	/	S/25	R/19	NON

A30 (CAZ)	<i>K.pneumoniae</i>		MH+CLX	R/14	15/R	R/6	13/R	/	/	OUI
I10CTX	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	6R	23S	S/28	NON
			MH+CLX	R/9	/	/	12/R	/	/	OUI
G11(CAZ)	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/8	R/6	R/15	R/6	S/25	R/18	NON
			MH+CLX	R/10	R/10	R/10	24/S	/	/	OUI
H19CAZ	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	6R	6R	6R	6R	26S	6R	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	25/S	/	/	OUI
A03CTX	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	6R	6R	6R	6R	29 S	6R	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	23/S	/	/	OUI
H16CAZ	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	6R	6R	6R	6R	32 S	6R	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	26/S	/	/	OUI
SPM12CTXJ	<i>k.pneumoniae</i>	2014	MH	6/R	6R	12R	14/R	32/S	19R	NON
			MH+CLX	6/R	6R	10R	22/S	/	/	OUI
P008	<i>k.pneumoniae</i>	2014	MH	9/R	31/S	20/I	15/R	32/S	25/S	NON
			MH+CLX	6R	R/20	6R	24/S	/	/	OUI
P22X	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R(6)	R(12)	R(6)	R(6)	S(27)	R/15	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	25/S	/	/	OUI

<i>P003</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2013	MH+CLX	13/R	6/R	6/R	19/I	30/S	11/R	NON
			MH+CLX	R/12	6R	6R	R/23	/	/	OUI
<i>P39MZ</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	S/24	24/S	6/R	NON
			MH+CLX	15/R	6R	6R	S/26	/	/	OUI
<i>P44g</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	14R	6R	6R	30/S	24/S	18R	NON
			MH+CLX	15/R	6R	6R	32/S	/	/	OUI
<i>P31PPZ</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	<6	<6	<6	6R	31/S	R/12	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	24/S	/	/	OUI
<i>SPM12CAZJ</i>	<i>E.cloacae</i>	2014	MH	6/R	6R	12R	26/S	23/S	19R	NON
			MH+CLX	6/R	6R	6R	25/S	/	/	OUI
<i>SPM51CTXJ</i>	<i>Proteus penneri</i>	2014	MH	6R	6R	6R	31/S	31S	19R	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	28/S	/	/	OUI
<i>P28Z</i>	<i>Citrobacter sp</i>	2014	MH	6/R	6/R	6/R	6/R	15/R	24/S	NON
<i>P25X</i>	<i>Citrobacter sp</i>	2014	MH	R(6)	R(14)	R(6)	S(21)	/	R/15	OUI

Tableau V : Diamètres des zones d'inhibition des souches productrices de céphalosporinase chromosomique/plasmidique.

code	Espece	Année		Antibiogramme					synergie	
				AMC	CTX	CAZ	FOX	IMP		FEP
<i>H27(CTX)</i>	<i>E. coli</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6		S/28	S/26	NON
<i>H06(CTX)</i>	<i>E. coli</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	/	S/30	S/25	NON
<i>H13(CTX)</i>	<i>E. coli</i>	2014	MH	R/14	R/12	R/11	8R	S/28	R/17	OUI
<i>H17</i>	<i>E. coli</i>	2014	MH	6R	6R	6R	6R	28 S	6R	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	20 S	28S	6R	NON
<i>P012</i>	<i>Ecoli</i>	2013	MH	10/R	32/S	25/I	24/S	36/S	36/S	NON
			MH+CLX	R/8	S/25	R/15	S/20	S	/	OUI
<i>P06MZ</i>	<i>E.coli</i>	2014	MH	<6	<6	<6		25/S	32/S	NON
<i>P27pbX</i>	<i>E.coli</i>	2014	MH	21/S	<6	<6		28/S	26/S	NON
<i>P015CAZ</i>	<i>Ecoli</i>	2013	MH	17/I	8/R	11/R	17/I	23/S	34/S	NON
<i>P18X</i>	<i>k.pneumoniae</i>	2014	MH	<6	<6	<6	23/S	24/S	30/S	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	S	S	15/S	NON
<i>I13CTX</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	27/S	22/S	NON
			MH+CLX	R	R	R	23	S	/	OUI
<i>G19(CTX)</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	6R	6R	6R	R/14	S/27	R/6	NON
			MH+CLX	10R	R	R	22	S	/	OUI
<i>I10CAZ</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/11	R/13	R/19	6/R	S	24/S	NON
			MH+CLX	16/R	28/S	22/I	23/S	/	/	OUI
		2014	MH	I/17	R/13	R/13	/	32/S	26/S	NON

<i>G32(CAZ)</i>	<i>K.pneumoniae</i>		MH+CLX	R/6	24	11	13	S	/	OUI
<i>I10CTX</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	6R	23S	R/6	NON
			MH+CLX	R/9	/	/	R	S	/	OUI
<i>G18CAZ</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	6R	6R	6R	6R	24 S	6R	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	22R	24 S	6R	NON
<i>SPM50CAZR</i>	<i>k.pneumoniae</i>	2014	MH		29	21	24/S	27/S	26/S	NON
			MH+CLX	6/R	29	21	S	S	/	NON
<i>P22X</i>	<i>K.pneumoniae</i>	2014	MH	R(6)	R(12)	R(6)	R(6)	S(27)	28/S	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	6R	S	/	OUI
<i>G39(CTX)</i>	<i>Enterobacter</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	S/19	S/26	NON
			MH+CLX	R/6	R	R	10	S		NON
<i>G32(CTX)</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	S/30	S	NON
			MH+CLX	R/6	R	R	8	S		NON
<i>I14CTX</i>	<i>Enterobactersp</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	32/S	S/25	NON
			MH+CLX	R/6	R	R	12	S	/	NON
<i>G35(CTX)</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	I/17	S/27	S/24	NON
			MH+CLX	R/6	R	R	R/6	S	/	NON

<i>I08CAZ</i>	<i>Enterobactersp</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	R/6	25/S	S/26	NON
			MH+CLX	R/6	R	R	15	S	/	NON
<i>G33(CTX)</i>	<i>Enterobactersp</i>	2014	MH	R/15	R/10	R/11	R/6	25/S	S/26	NON
			MH+CLX	R/6	R/6	R/6	R	S	/	NON
<i>P01</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	S(27)	S/28	NON
<i>P06</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R(10)	R(14)	R(14)	R(6)	S(30)	R/15	OUI
<i>P32X</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R(6)	R(10)	R(6)	R(6)	S(28)	R/15	OUI
<i>P002</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2013	MH	9/R	30/S	24/S	6/R	32/S	36/S	NON
			MH+CLX	6R	S/25	R/18	6R	S	/	NON
<i>P003</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2013	MH	13/R	6/R	6/R	19/I	30/S	11/R	NON
			MH+CLX	R/12	6R	6R	R/20	S	/	OUI
<i>P020CTX</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2013	MH	7/R	33/S	25/I	6/R	34/S	31/S	NON
<i>P34gX</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	<6	<6	11R		24/S	/	NON
<i>P39RZ</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6	/	24/S	6/R	NON
			MH +CLX		23R	17R	4R	24/S	6R	NON
<i>P10X</i>	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	<6	<6	<6	11R	23/S	18/R	OUI

P13X	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	13	<6	<6		24S	R/6	OUI
P27RZ	<i>Enterobacter sp</i>	2014	MH	21S	6R	6R		28S	S/26	NON
H12(CTX)	<i>C.freundii</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6		S/32	S/25	NON
			MH+CLX	R/6	R/10	R			/	NON
H04CTX	<i>C.freundii</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6		S/33	S/26	NON
			MH+CLX	R/6	R/6	R/6		S	/	NON
P28Z	<i>Citrobacter sp</i>	2014	MH	<6	<6	<6		S(30)	24/S	NON
A23 CTX	<i>S.marcescens</i>	2014	MH	R/6	R/6	R/6		S/24	R/15	NON
			MH+CLX	6R	R/6	R/6	S	S	/	NON
SPM49CTXJ	<i>K.oxytoka</i>	2014	MH	6R	6R	6R	18S	17S	28/S	NON
			MH+CLX	6R	6R	6R	S	S	/	NON
P30X	<i>P.mirabilis</i>	2014	MH	R(6)	R(12)	R(6)	26/S	S(30)	R/15	NON
			MH+CLX	6R	19/R	6R	S	S	/	NON
SPM07CAZ	<i>Salmonellas</i>	2014	MH	21S	23/I	2/S	26S	26S	24S	NON
SPM47CTXR	<i>E.sakazakii</i>	2014	MH	14R	15/R	6R	28/R	28S	30S	NON

ANNEXE III

Analyses statistiques des données

Antibiothérapie

Tableau N°I : Fréquence des EBLSE selon l'antibiothérapie.

Antibiothérape	Souches Résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Oui	25	13	38	42%
Non	35	14	49	58%

Test du khi² :

Khi ² (Valeur observée)	0,318
Khi ² (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,573
alpha	0,05

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 57,28%.

Test exact de Fisher :

p-value (bilatérale)	0,643
alpha	0,05

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 64,34%.

Alors, dans notre étude l'antibiothérapie est ne considérée pas comme un facteur de Risque d'acquisition d'EBLSE.

Sexe

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

Sexe	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Masculin	28	16	44	46,66%
Féminin	32	11	43	53,33%
Total	60	34	87	

Test du khi² :

Khi ² (Valeur observée)	1,181
Khi ² (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,277
alpha	0,05

Test exact de Fisher :

p-value (bilatérale)	0,355
alpha	0,05

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 35,54%.

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

Age

Tableau N° III : Fréquence des EBLSE selon l'Age

	Souches Résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Nouveau- nés	4	2	6	6,66%
Nourrissons	46	21	67	76,66%
Enfants	10	4	14	16,66%

Test du khi² :

Khi ² (Valeur observée)	0,057
Khi ² (Valeur critique)	5,991
DDL	2
p-value	0,972
alpha	0,05

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 97,17%.

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

Type d'accouchement

Tableau N° VI : Fréquence des EBLSE selon le type d'accouchement.

Accouchement	Souches résistantes	Souches sensibles	Taux de résistance
Voie basse	35	21	58,33%
Césarienne	25	6	41,66%

Test du khi² :

Khi ² (Valeur observée)	3,450
Khi ² (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,063
alpha	0,05

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 6,33%.

Test exact de Fisher :

p-value (bilatérale)	0,076
alpha	0,05

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 7,64%.

Alors, dans notre étude le mode d'accouchement est ne considéré pas comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE.

Allaitement

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

	Souches Résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Maternel	36	11	47	60,00%
Artificiel	24	16	40	40,00%

Test du khi² :

Khi ² (Valeur observée)	2,781
Khi ² (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,095
alpha	0,05

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 9,54%.

Test exact de Fisher :

p-value (bilatérale)	0,109
alpha	0,05

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 10,91%.

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

Motif de consultation

Tableau N° IV : Fréquence des EBLSE selon le motif de consultation.

motif de consultation	Souches résistantes	Souches sensible	Total	Taux de résistance
Bronchiolite	25	5	30	41.66%
Visite systématique	3	4	7	5%
Coliques	3	2	5	5%
Orthopédique	6	3	9	10%
Grippe	15	6	21	25%
Varicelle	2	3	5	3.33%
Insuffisance rénale	6	4	10	10%

Test du khi² :

Khi ² (Valeur observée)	7,728
Khi ² (Valeur critique)	12,592
DDL	6
p-value	0,259
alpha	0,05

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 25,87%.

Résumé

But : Le but de cette étude est d'évaluer le portage fécal des souches résistance aux β -lactamine chez des enfants dans la ville de Béjaia.

Matériel et méthodes : L'identification des isolats a permis d'étudier la sensibilité aux antibiotiques par l'antibiogramme standard, la détection des BLSE par le test de synergie et le Carba NP test. Un modèle logistique est utilisé pour déterminer les associations possibles entre les facteurs de risque et les EBLSE identifiées.

Résultats : Sur 87 souches d'*entérobactéries* identifiées, 60 souches sont productrices de BLSE. L'espèce retrouvée majoritaire est *Klebsiella sp* pour les cabinets et *Enterobacter sp* pour les hôpitaux. Le phénotype le plus probable est BLSE de type CTX-M.

Conclusion : La prévalence des porteurs d'EBLSE est de 12.05%. Dans notre étude, l'étude statistique des facteurs de risque a montré que le sexe, l'âge, le mode d'accouchement, le mode d'allaitement, l'antibiothérapie, et le motif de consultation et d'admission ne sont pas considérés comme facteur de risques d'acquisition de BLSE.

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

Abstract

Purpose: The purpose of this study consists to evaluate the fecal carriage in resistant strains of β -lactam in children in Bejaia city.

Methods: The sensitivity to antibiotics of strains isolates is performed by standard susceptibility testing, detection of ESBL by the synergy test and detection of carbapénémase by modified Carba NP test. A logistic model is used to determine possible associations between risk factors and identified ESBLE.

Results: Of 87 identified *Enterobacteriaceae* strains, 60 strains producing ESBL. The majority found species was *Klebsiella sp* in community and *Enterobacter sp* in hospitals. The most likely type phenotype is ESBL CTX-M.

Conclusion: The prevalence of carriers of ESBL is 12.05%. The statistical study of risk showed that sex, age, mode of delivery, the mode of feeding, antibiotic therapy, and the reason for consultation and admission are not considered as risk factor for acquisition of ESBL.

Keywords: fecal Portage, β -lactams, ESBLE, CTX-M, Enterobacteriaceae, pediatrics.