

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

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

Thème

Etude du portage fécal des bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération chez des enfants consultant dans les cabinets de pédiatrie en ville et ceux admis au niveau des services de pédiatrie de l'hôpital Khelil Amrane et d'Amizour.

Réalisé par :

M^{lle} HAMRIOUI Yasmine.

M^{lle} LATIEME Sara

Membres du jury :

Président : M^r TOUATI A. (MCA)

Promoteur : M^{me} GHAROUT A. (MAA)

Examineur 1 : M^{lle} YANAT B. (MAA)

Examineur 2 : M^{me} BELHADI K. (MAB)

Invité : M^{me} AYAD M.

Promotion 2012/2013



Remerciements

En premier lieu, nous remercions Dieu le tout puissant pour son aide et pour nous avoir donné volonté, courage et patience.

Notre chère promotrice, Mme GHAROUT Alima, de nous avoir encadré, orienté, encouragé, en nous laissant en toute confiance une grande liberté pour mener à bien ce travail.

Notre enseignant ; Dr TOUATI Abdelaziz, maître de conférences de classe A à l'université de Bejaïa, de nous avoir précieusement et avec beaucoup de compréhension.

Nous vous exprimons toute notre gratitude d'avoir accepté de nous consacrer de votre précieux temps et présider notre soutenance.

C'est un grand honneur pour nous.

Nous exprimons le même sentiment de reconnaissance aux autres membres du jury.

Nos reconnaissances et remerciements s'adressent à notre très chère invitée Mme AYAD chef de service du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Bejaia.

Et pour sa disponibilité, sa gentillesse et ses conseils tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous remercions vivement les médecins qui nous ont aidé à la réalisation de cette étude et nous citerons : Dr HAMRIOUI, Dr HADDI, Dr SADI, Dr IATARIYENE et Dr CHERIFI.

Nous remercions l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire d'hygiène de la wilaya de Bejaia et au laboratoire de l'hôpital d'Amizour particulièrement Mr ABDELI et Mr MAMMAS.

Ainsi que tous ceux et celles qui nous ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de notre mémoire.



Dédicaces

A ma merveilleuse Grand-mère

Hadja Djamila

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher Père Mohamed et mère que j'aime tant avec beaucoup d'affection. Tous les mots du monde ne peuvent exprimer l'amour et le respect que je leur porte.

A mes chers frère et sœurs

Sid ali, Maroua, Sonia, et Kenza

A mon Oncle Djamel et Tantes Dalila et Ghania, titis et tous les membres de ma famille

A une personne qui m'a beaucoup soutenu tout le long de ce travail
Ahmed

A mon adorable binôme et copine

Yasmine et ses chers parents et sa sœur Sarah.

Aux personnes qui m'ont aidé pendant la période de mon stage
Mme AYAD, Amel, Lydia, Sabrina, Nabila, Salima, Louiza, Biba

Amis : Mina, Hiba, Lynda, Imene, Meriem, Lamia, Kamel, Katia, Rym, Riad, Lamine, Yamina, Rosa, Adel
et cousins : Idir, Syhem, Celia, Meriem, Imene.

Sans oublier tous les étudiants de la promotion MMM 2013

LATIEME Sara



Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A mes très chers parents et à mamaRbiha que j'aime tant.
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.*

*A mon cher frère Yanis et à ma très chère sœur Sarah
Qui m'ont toujours aidé et encouragé*

*A une personne qui m'a énormément soutenu tout le long de ce travail
et à qui je dis **MERCI**
Que Dieu te bénisse et te garde pour nous*

*A ma très chère copine et binôme Sara
que j'apprécie beaucoup*

*A toute ma famille, paternelle et maternelle
et aux très chers cousins et cousines
Ness, Imene, Nina, Melli, Ines, Manel, Samy, Massil, Adel et Karim*

*Aux personnes qui m'ont aidé pendant la période de mon stage
Mme AYAD, Amel, Sabrina, Nabila, Salima, Louiza, Biba, Lydia*

Et aux amis : Minoucha, Didi, Sissa, Mourad et les autres.

Sans oublier tous les étudiants de la promotion MMM 2013

HAMRIOUI Yasmine

Dédicace pour les médecins

Nous vous dédions ce travail et avec toute

notre gratitude pour d'abord votre

contribution inestimable, votre aide

si précieuse, votre disponibilité

et surtout votre gentillesse.

Nous vous remercions de tout cœur.

Liste des tableaux

N°	TITRE	Page
I.	Liste des milieux de culture et réactifs utilisés durant cette étude.	7
II.	Aspect des colonies sur milieu UriSelect.	9
III.	Différents tests biochimiques d'identification.	9
IV.	Liste des antibiotiques testés durant cette étude.	11
V.	Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI.	14
VI.	Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce.	19
VII.	Critères de distinction des phénotypes de résistance probables.	24
VIII.	Autres phénotypes de résistance retrouvés.	25
IX.	Répartition des souches d'EBLSE selon l'âge.	28
X.	Types d'antibiotiques administrés au niveau des cabinets et des hôpitaux.	29
XI.	Répartition des EBLSE selon les motifs de consultation et d'admission.	29

Liste des figures

N°	TITRE	Page
01.	Répartition des patients selon l'âge au niveau des cabinets de pédiatrie et des hôpitaux.	15
02.	Répartition des patients selon le sexe.	16
03.	Taux des bacilles à Gram négatif isolés.	16
04.	Répartition des souches isolées par espèce au niveau des cabinets et des hôpitaux.	17
05.	Répartition des souches isolées au niveau des cabinets et des hôpitaux.	17
06.	Résistance des souches isolées aux β -lactamines.	18
07.	Images de synergie obtenues pour les souches CA08 (CAZ) <i>E. coli</i> et CH14(CAZ) <i>Klebsiella sp.</i>	20
08.	Résultat de la présence de synergie avec cloxacilline pour la souche PK01.	20
09.	Phénotype de production de céphalosporinase plasmidique pour la souche CH04.	21
10.	Test de Hodge modifié positif pour la souche PK22 (CTX) <i>Klebsiella sp.</i>	21
11.	Test de Hodge positif pour la souche P26 (CAZ) <i>Acinetobacter baumannii.</i>	22
12.	Résultat positif du test à l'EDTA pour la souche P25 (CTX) <i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	22
13.	Résultat positif du test au NaCl pour la souche P26 (CAZ) <i>Acinetobacter baumannii.</i>	23
14.	Critères de déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines.	23
15.	Les phénotypes de résistance probables pour les souches résistantes aux C3G.	24
16.	Taux de résistance aux autres antibiotiques des souches résistantes aux C3G.	25
17.	Comparaison entre un résultat positif et négatif pour la production de l'enzyme AAC(6')Ib-cr.	26

18.	Répartition des souches d'EBLSE par espèce.	27
19.	Répartition des souches d'EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux.	27
20.	Répartition des souches d'EBLSE selon le sexe.	28
21.	Répartition des souches d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure.	29

Liste des abréviations

AAC : aminosides acetyltransférase.

ADH : arginine dihydrolase.

AmpC : Adénosine Monophosphate Cyclique.

ATB : Antibiotique.

bla : beta-lactamase-encoding *gene*.

BLSE: Beta-lactamase à spectre élargi.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BMR : Bactéries multi résistantes.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

CIT : Citrate de Simmons.

C2G: Céphalosporine de deuxième Génération.

C3G : Céphalosporine de troisième Génération.

C4G: Céphalosporine de quatrième Génération.

CFA-SFM: Comité français de l'antibiogramme.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

CTX-M : Céfotaximase-Munich.

DD-test: Doubler Disc test.

EBLSE : Entérobactéries Productrices d'une β -Lactamases à spectre étendu.

EDTA : Ethylene-Diamine-TetraAcétate.

EMB: Eosine-Bleu de Méthylène.

EPC: Entérobactéries productrices de carbapénémases.

FOX- R: Résistance à la céfoxitine.

Gélose TSI: Three Sugar Iron.

H2S : Hydrogène Sulfuré.

I : Intermédiaire.

IMP-R : Résistance à l'imipénème.

IND : Indole.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase.

LAC : Lactose.

LDC : Lysine décarboxylase.

ODC : Ornithine décarboxylase.

MAN : Mannitol.

MOB : Mobilité.

MH : Mueller Hinton.

MHC : Mueller Hinton additionnée à la cloxacilline.

MβL : Métallo-β-lactamases.

NaCl : Chlorure de Sodium.

NIT : Nitrateréductase.

OXA: Oxacillinase.

qnr : Quinolones gene résistance.

R : Résistant.

RM: Rouge de méthyle.

S : Sensible.

SHV : Sulfhydryl variable.

Tet(A) :Tetracyclineproteinresistances.

TDA: Tryptophane désaminase.

TEM : Temoneira. (Résistant aux inhibiteurs).

UFC : Unité Formant Colonie.

URE: Uréase.

VP: Voges- Proskauer.

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

Introduction 1

Matériel et méthodes

I.1. Recueil de données	7
I.2. Prélèvements	7
I.3. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	11
I.3.1. Antibiogramme standard	11
I.3.2. Recherche de la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE)	12
I.3.3. Recherche de la production des céphalosporinases plasmidiques	12
I.3.4. Recherche de la production de carbapénèmases	13
I.3.5. Détermination des CMI en milieu solide (CA-SFM, 1995)	13
I.4. Recherche de la production de l'enzyme AAC (6')Ib-cr	14
I.5. Traitement statistique des données	14

Résultats et discussions

I/ Caractéristiques de la population	15
I.1 Selon les cabinets de pédiatrie	15
I.2 Selon l'âge	15
I.3 Selon le sexe	15
II/ Souches bactériennes	16
III/ Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	18
III.1 Résistance des souches aux β -lactamines.	18
III.1.1 Recherche de BLSE	19
III.1.2 Recherche de céphalosporinases plasmidiques	21
III.1.3 Recherche de la production de carbapénèmases	21
III.1.4 Détermination des CMI	23

III.1.5 Dédution des phénotypes de résistance aux β -lactamines	23
III.2 Résistances associées aux autres familles d'antibiotiques	25
IV/Portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE.	27
IV.1 Entérobactéries productrices de BLSE identifiées.....	27
IV.2 Portage fécal d'EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux.....	27
IV.3 Portage fécal d'EBLSE selon le sexe.....	28
IV.4. Portage fécal d'EBLSE selon l'âge.....	28
IV.5. Portage fécal d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure	28
IV.6.Portage fécal des EBLSE selon l'antibiotique administré	29
IV.7. Portage fécal des EBLSE selon le motif de consultation au cabinet et d'admission à l'hôpital	29
IV.8. Portage fécal d'EBLSE selon d'autres facteurs	30
V/. Discussion générale.....	31
Conclusion générale	37
Références bibliographiques	
Annexes	

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). En raison de la très forte densité des microorganismes retrouvés dans le tractus intestinal humain (généralement 10^{11} - 10^{12} microorganismes/ml du contenu luminal), 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 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).

Le nouveau-né, stérile *in utero*, se trouve à la naissance brutalement plongé dans un univers bactérien riche et se colonise rapidement avec une flore simple à partir des flores vaginales et fécales maternelles et de l'environnement proche. Cette colonisation a été clairement montrée, cependant, la flore fécale maternelle apparaît être le déterminant essentiel des premières bactéries s'implantant chez l'enfant, les nouveau-nés étant colonisés plutôt par des entérobactéries et bifidobactéries d'origine fécale, que par des lactobacilles d'origine vaginale (Tannock *et al.*, 1990). En effet, des études indiquent qu'en général, les nouveau-nés sont premièrement colonisés par des entérobactéries (*Escherichia coli*), des staphylocoques, des entérocoques (*Enterococcus faecalis*), des streptocoques et des lactobacilles qui semblent créer un environnement réduit favorable à l'établissement deux à trois jours après la naissance des bactéries appartenant à des genres comme *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Clostridium* ainsi que les lactobacilles supportant mal l'oxygène (Favier, 2002).

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 R. 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 2ans, parallèlement à la diversification alimentaire, une modification progressive de la flore tend vers celle de l'adulte et est qualifiée de "flore normale".

Les facteurs bactériens permettant l'implantation d'une souche donnée sont peu connus. Une étude sur le suivi de l'implantation d'*Escherichia coli* a montré que les souches résidentes, contrairement aux souches transitoires, avaient certaines caractéristiques pouvant favoriser leur colonisation comme des gènes codant des *fimbriae* ou des hémolysines (Nowrouzian *et al.*, 2003).

Il existe certains facteurs influençant sur l'établissement de ce microbiote : le mode d'accouchement et les conditions d'hygiène strictes entourant les accouchements, les bactéries de l'environnement véhiculées par le personnel soignant et l'entourage, le mode d'alimentation, l'âge gestationnel et l'antibiothérapie. Une étude a observé que les traitements à base d'antibiotiques pendant 2 à 4 jours pour suspicion d'infection materno-foetale a montré une réduction de la diversité du microbiote fécal des nouveau-nés et un retard de colonisation de plus de 10 jours par des espèces, considérées comme ayant des effets bénéfiques (lactobacilles et bifidobactéries) (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 (Campeotto *et al.*, 2004).

L'avènement de cette antibiothérapie, dans les années 1940, a complètement révolutionné le domaine médical et entraîné une réduction significative de la mortalité associée aux maladies infectieuses d'origine bactérienne (Carle, 2004). Cependant, l'utilisation abusive et non contrôlée des antibiotiques a pour conséquence l'émergence de bactéries résistantes et ce par le développement de nombreux mécanismes que ce soit d'origine chromosomique ou plasmidique (Mesaros *et al.*, 2005).

Ces mécanismes favorisent le transfert horizontal des gènes de la résistance permettant ainsi leur dissémination à l'hôpital, dans la communauté ou même dans l'environnement (Arpin *et al.*, 2005). Les germes résistants les plus rencontrés sont les bacilles à Gram négatif parmi lesquels les espèces les plus importantes en clinique demeurent les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Lucet et Birgand. 2011). Néanmoins, les entérobactéries productrices de β -lactamase (EBLSE) sont les germes les plus concernés et leur dissémination est mondiale (Emile, 2010).

L'emploi intensif des β -lactamines, en ville comme à l'hôpital, a entraîné la sélection de bactéries multirésistantes (BMR) représentant un problème de santé publique mondiale, contribuant fortement à l'installation et l'émergence de la résistance. Suite au contact fréquent de l'homme avec son environnement, cette installation peut avoir un impact sur l'acquisition de bactéries résistantes de la flore digestive, cela conduit à la colonisation et à la dissémination de bactéries multirésistantes. Une fois ces bactéries installées, la résistance bactérienne persiste très longtemps, voire indéfiniment (Andremont, 2000).

L'impact du traitement antibiotique sur la flore bactérienne dépend de deux types d'effets. Ils peuvent tout d'abord sélectionner, parmi les bactéries présentes à leur arrivée, celles qui sont résistantes. Ces bactéries résistantes aux antibiotiques sont généralement défavorisées dans les conditions normales. En l'absence d'antibiotiques ils se multiplient peu dans le tube digestif. En revanche, lorsque le ou les antibiotiques auxquels ils résistent exercent une pression de sélection, ces bactéries résistantes se retrouvent en position « favorable » par rapport aux bactéries sensibles à l'antibiotique. Les bactéries sensibles sont éliminées et les bactéries résistantes prolifèrent. A l'arrêt des antibiotiques, la flore se réinstalle mais la population de bactéries résistantes peut se maintenir à des concentrations élevées sur une durée variable (Andremont, 1995).

En effet, des études ont montré que chez l'adulte, l'administration de Céfotaxime entraînait l'élimination des populations d'entérobactéries commensales tout en favorisant la croissance de bactéries résistantes comme *Klebsiella pneumoniae* productrice de BLSE ou *Enterobacter spp.*, hyperproducteur de céphalosporinase chromosomique (Quinn *et al.*, 1987).

Les entérobactéries productrices de BLSE, sont souvent les BMR majoritaires. Les BLSE sont des enzymes qui hydrolysent l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes. Elles sont inhibées partiellement par les inhibiteurs de bêta-lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam), et portées souvent par des plasmides conjugatifs.

Les premières BLSE ont été mises en évidence en Allemagne et en France en 1984 (Sirot *et al.*, 1987). Elles dérivent 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 ceftazidime. 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 (Mariani- Kurkdjian *et al.*, 2013).

Ce mécanisme de résistance est le plus souvent associé à une résistance multiple aux aminosides, aux quinolones, au cotrimoxazole et aux tétracyclines. Diverses alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes ont été proposées pour le traitement des entérobactéries productrices de BLSE. L'utilisation de céphamycines stable à l'hydrolyse par les BLSE a été rapportée. Cependant, leur prescription a été associée à l'émergence de mutants résistants par imperméabilité des porines en cours de traitement. Ainsi en dépit de leur bonne sensibilité *in vitro* les céphamycines ne sont pas recommandées en traitement de 1^{ère} intention (Mariani-Kurkdjian *et al.*, 2013).

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des bêta-lactamases :

- Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des protéines transmembranaires que sont les porines.
- Le second mécanisme de résistance aux carbapénèmes est lié à l'expression de bêta-lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases (Classe A et Classe B) (Nordmann et Carrer, 2010).

Les 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 entérobactéries-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).

Le milieu communautaire peut donc représenter un réservoir de BLSE pas encore détecté dans des isolats cliniques (Valverde *et al.*, 2004). La colonisation dans le compartiment intestinal par des souches productrices de BLSE a été associée à un risque élevé de développer une infection extra-intestinale difficile à traiter due aux souches productrices de BLSE (Reddy *et al.*, 2007). En pédiatrie, ces souches sont principalement responsables de cystites et de pyélonéphrites (Birgy *et al.*, 2012), où elles peuvent mettre en échec les traitements de première intention. De rares cas d'infections materno-foetales, de méningites néonatales impliquant ces souches ont été publiés (Moissenet *et al.*, 2010).

La prévalence du portage de BLSE chez les enfants varie en fonction des études et des zones géographiques. Elle varie de 7,2% en Turquie (Kiremitçi *et al.*, 2011) à 31% au Niger (Woerther *et al.*, 2011).

Les entérobactéries productrices de BLSE sont reconnues comme agents pathogènes nosocomiaux importants chez les enfants, et sont souvent associées à des épidémies (Moissenet *et al.*, 2010). Le dépistage du portage intestinal est crucial pour prédire le risque d'infection aux EBLSE, sachant que le côlon sert de réservoir pour les *E. coli* pathogènes extra-intestinales (Emori *et al.*, 1993). *E. coli* productrice de BLSE a déjà été décrite comme acquise dans la communauté chez les patients adultes (Ho *et al.*, 2007).

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

Dans cette optique, nous nous sommes intéressés à l'évaluation du portage digestif de bacilles à Gram négatif résistants aux antibiotiques (céphalosporines de troisième génération) chez les enfants admis au niveau du service de pédiatrie de l'hôpital d'Amizour et du CHU de la ville de Bejaia et ceux consultant au niveau de cinq cabinets de pédiatrie de la ville de Bejaia, sur une période de 86 jours, soit du 03 Février au 30 Avril 2013.

Cette étude donnera une idée du risque de diffusion des résistances bactériennes dans les cabinets de consultation pédiatrique et les établissements de santé.

Pour ce faire, nous optons pour la méthodologie suivante :

- Isolement et identification des souches de bacilles à Gram négatif à partir des prélèvements rectaux.
- Etude de la sensibilité de ces souches vis-à-vis du céfotaxime et de céftazidime.
- Recherche de production de BLSE ou de céphalosporinases sur gélose Mueller-Hinton (avec ou sans cloxacilline).
- Etude de la sensibilité des souches vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques par un antibiogramme.
- Recherche de la production de céphalosporinases plasmidiques (AmpC acquises) en utilisant le hodge-test modifié.
- Recherche de la production de carbapénémases (Oxacillinases ou Métallo- β -lactamases) en utilisant le hodge-test, le test à l'EDTA et le test au NaCl.
- Détermination des CMI pour la céftazidime.
- Dédution des phénotypes probables des souches isolées.
- Etude de la sensibilité de ces souches vis-à-vis des fluoroquinolones et recherche de la production de l'enzyme AAC(6')Ib-cr.
- Traitement statistique des données.
- Discussion générale des résultats obtenus.

I.1. Recueil de données

Notre étude s'est déroulée durant la période du 03 Février 2013 au 30 Avril 2013 au sein du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Bejaia. Elle a pour objectif l'étude du portage digestif de bactéries à Gram négatif résistantes aux céphalosporines de troisième génération. L'étude est effectuée chez les nouveau-nés, nourrissons et enfants admis dans les services de pédiatrie de l'hôpital d'Amizour et du CHU de Bejaia et ceux examinés dans cinq cabinets de pédiatrie de la ville de Bejaia. Pour chaque patient un questionnaire (Annexe I et Annexe II) a été rempli afin de recueillir des informations indispensables pour la détermination des facteurs de risque.

I.2. Prélèvements

Des écouvillonnages rectaux sont effectués chez 150 enfants, 75 au niveau des services de pédiatrie et 75 au niveau des cabinets. Les prélèvements recueillis sont à visée écologique.

I.2.1. Milieux et réactifs utilisés

Les milieux de culture et les réactifs utilisés durant cette étude sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau N°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), Céftazidime (CAZ à 4µg/ml) et de la Vancomycine (VAN à 16µg/ml)	Bouillon nutritif : Institut Pasteur Céftazidime : GlaxoSmithKline Céfotaxime : Sopal Vancomycine : Mylan
Gélose EMB	HIMEDIA
Gélose Mac Conkey additionnée de CTX et/ou de CAZ	HIMEDIA
Gélose Hektoen	HIMEDIA
TSI	Institut Pasteur d'Algérie
Mannitol-mobilité	Institut Pasteur d'Algérie
Citrate de Simmons	Institut Pasteur d'Algérie
Bouillon nitraté	Institut Pasteur d'Algérie
Eau peptonée exempte d'indole	Institut Pasteur d'Algérie
Urée-indole	Institut Pasteur d'Algérie

Clark et Lubs	Institut Pasteur d'Algérie
Milieux Moeller (ADH, LDC, ODC)	Institut Pasteur d'Algérie
Gélose Mueller-Hinton	HIMEDIA
Gélose nutritive	Institut Pasteur d'Algérie
Milieu Chromogène (UriSelect)	BioRad
King A et King B	Institut Pasteur d'Algérie
Réactifs	Marques
NRI et NRII	Institut Pasteur d'Algérie
Poudre de zinc	Institut Pasteur d'Algérie
Disque d'oxydase	Institut Pasteur d'Algérie
Disque d'ONPG	Institut Pasteur d'Algérie
Réactifs de Kovacs	Institut Pasteur d'Algérie
VPI, VPII et RM	Institut Pasteur d'Algérie
TDA	Institut Pasteur d'Algérie
EDTA	Préparation au laboratoire de Microbiologie
NaCl	Préparation au laboratoire de Microbiologie

La composition de ces milieux est donnée en (Annexe III).

I.2.2. Isolement

Chaque écouvillon est ensemencé dans deux tubes de bouillon nutritif additionnés pour l'un de Céfotaxime (2 μ g/ml) et pour l'autre de Céfotaxidime (4 μ g/ml), servant à sélectionner ainsi les souches de bacilles à Gram négatif résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération. La Vancomycine (16 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 Mac Conkey est additionnée de CTX (2 μ g/ml) et/ou de CAZ (4 μ g/ml).

I.2.3. Purification

Après 24h d'incubation, les colonies ayant poussées sur le milieu de culture sont analysées. Les cultures polymicrobiennes sont repiquées sur gélose Hektoen et/ou EMB, afin de purifier les souches isolées. Ces boites sont incubées à 37°C pendant 24 h.

I.2.4. Identification

Lorsque la culture est pure, l'identification des bacilles à Gram négatif est réalisée sur la base de : la coloration de Gram, le test de catalase et d'oxydase et la galerie biochimique. Cette dernière comprend plusieurs tests (Denis *et al.*, 2007). Les souches sontensemencées sur milieu chromogène « UriSelect » afin d'avoir une orientation sur l'identification des souches isolées. Les résultats attendus de ce test sont résumés dans le tableau II.

Tableau N°II : Aspect des colonies sur milieu UriSelect (UriSelect4, 2007)

Espèce	Couleur des colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
<i>KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia)</i>	Colonies bleu violet / bleu pourpre
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia</i>	Colonies beige à brun orangé
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaque

Le principe, les techniques et les règles d'interprétation des tests effectués sont résumés dans le tableau III.

Tableau N°III : Différents tests biochimiques d'identification (Denis *et al.*, 2007).

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 et 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 production d'indole	Ensemencement à partir d'une culture sur milieu solide. Incubation à 37°C/24h	Virage du milieu en rouge	Présence d'une Uréase
			Anneau rouge en surface après ajout du réactif de Kovacs	Production d'indole
			Formation d'un précipité marron	Présence de TDA

I.3. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité de toutes les souches à Gram négatif identifiées aux antibiotiques (tableau IV) appartenant à différentes familles est testée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller-Hinton, selon les recommandations du CFA-SFM (2012).

I.3.1. Antibiogramme standard

3 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques d'une culture pure sont dissociées dans 3 ml d'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est à une DO d'environ 0.1 lue à 625nm, ensuite une dilution à 10^{-1} est réalisée correspondant à une charge bactérienne de 10^7 UFC/ml (CA-SFM, 2012).

L'ensemencement de la suspension bactérienne est effectué sur des boîtes de gélose Mueller-Hinton, d'une épaisseur de 4mm, par écouvillonnage en stries serrées. Les disques d'antibiotiques à tester sont déposés à la surface de la gélose à l'aide d'une pince stérile. Ces boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, les différents diamètres des zones d'inhibition sont mesurés. L'interprétation en résistance (R), intermédiaire (I) ou sensible (S) est effectuée par comparaison avec les diamètres critiques édités par le CA-SFM (2012).

Tableau N°IV : Liste des antibiotiques testés durant cette étude.

Famille	Antibiotiques	Abréviation	Charge (µg)	Marque
β-lactamines	Amoxicilline + Clavulanate	AMC	20/10	HIMEDIA®
	Céfoxitine	CX	30	HIMEDIA®
	Céfotaxime	CTX	30	HIMEDIA® BIO-RAD®
	Céftazidime	CAZ	30	HIMEDIA®
	Céfépime	FEP	30	HIMEDIA®
	Aztréonam	ATM	30	HIMEDIA®
	Imipénème	IPM	10	HIMEDIA®
Aminosides	Amikacine	AK	30	HIMEDIA®
	Tobramycine	TOB	10	HIMEDIA®

Quinolones	Acide nalidixique	NA	30	HIMEDIA®
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5	HIMEDIA®
Sulfamides	Triméthoprime	TR	5	HIMEDIA®

I.3.2. Recherche de la production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

La production d'enzymes BLSE est recherchée chez toutes les souches isolées.

➤ DD-TEST (test de synergie)

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

➤ 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 Mueller-Hinton additionnée de la cloxacilline (250 ou 500 μ g/ml selon le niveau de la résistance). La comparaison des diamètres des zones d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE ou l'hyperproduction d'une céphalosporinase (Morin et Fosse, 2008).

I.3.3. Recherche de la production des céphalosporinases plasmidiques

Ce test est réalisé chez les souches qui ne sont pas naturellement productrices de céphalosporinases chromosomiques et résistantes à l'amoxicilline-acide clavulanique ainsi qu'à la céfoxitine en utilisant le test de Hodge modifié. Un disque de céfoxitine (CX) est déposé au centre d'une gélose Mac Conkey préalablementensemencée avec la souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922. La souche à tester, souche témoin positif et témoin négatif sont ensemencées sous forme de stries, du disque à la périphérie de la boîte. Ces boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h. La déformation de la zone d'inhibition en forme de trèfle indique la présence d'une céphalosporinase (Vinoth *et al.*, 2012).

I.3.4. Recherche de la production de carbapénèmases

Les tests suivants sont réalisés chez les souches résistantes ou de sensibilité réduite à l'imipénème :

➤ Test de Hodge

Le même protocole que le Hodge test modifié est utilisé, mais en remplaçant : le disque de céfoxitine par un disque d'imipénème, et la souche témoin résistante à la céfoxitine par une souche résistante à l'imipénème par production de Carbapénémase (Hodge *et al.*, 1978).

➤ Test à l'EDTA

Une solution stérile d'EDTA à 0,5M (pH8) est préparée. Deux méthodes sont utilisées sur la même boîte :

- La première consiste en un DD-test qui est réalisé en utilisant 2 disques d'imipénème déposés l'un à 15mm et l'autre à 20mm d'un disque vierge imbibé d'un volume de 10 μ L d'EDTA à 0,5 M. La présence d'une métallo- β -lactamase est détectée par visualisation d'une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui d'EDTA (Jeong *et al.*, 2006).

- La deuxième consiste en un antibiogramme qui est réalisé avec un disque d'imipénème (témoin), un disque vierge imbibé avec 5 μ l d'EDTA (0,5 M) et un disque d'imipénème additionnée de 5 μ l d'EDTA. Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques sont comparés après 18h d'incubation à 37°C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP-EDTA est supérieur d'au moins 6mm à celui obtenu avec le disque IMP seul seront considérées comme souches productrices de MBL (Yong *et al.*, 2002).

➤ Test au NaCl

Le DD-test est réalisé en utilisant la gélose Mueller-Hinton additionnée de NaCl à 200mM pour les souches résistantes à l'imipénème, dans le but d'inhiber l'activité oxacillinique des souches productrices d'une oxacillinase. Une différence de 6mm des diamètres des zones d'inhibition entre les boîtes avec et sans NaCl permet de mettre en évidence la présence d'une carbapénémase de type oxacillinase (Pournaras *et al.*, 2006).

I.3.5. Détermination des CMI en milieu solide (CA-SFM, 1995)

Les concentrations minimales inhibitrices sont déterminées pour la céftazidime par la méthode de dilution en milieu solide. La poudre d'antibiotique est dissoute dans de l'eau

distillée stérile et à partir de cette solution, des dilutions sont effectuées. Dans une série de boîtes de Pétri, 2 ml de chaque antibiotique sont déposés (de la concentration la plus faible à la plus forte) avec 18 ml de milieu Mueller-Hinton en surfusion. Ces boîtes sont séchées dans l'étuve à 37°C pendant 20 min.

Une suspension bactérienne de 10^8 UFC/ml est diluée à 1/100, puis 10 μ l (10^4 UFC/ml) de cette dilution sont déposés sur le milieu par spot en trois répétitions. Ces boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 h. Les dilutions utilisées sont résumées dans le Tableau V.

Tableau N°V : Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI (CA-SFM, 1995).

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

I.4. Recherche de la production de l'enzyme AAC(6')Ib-cr

Ce test est réalisé chez les souches qui sont résistantes aux fluoroquinolones. Nous avons réalisé le test de **Wachino et al. (2011)** modifié. Il consiste à mettre en culture les souches à tester dans du bouillon nutritif additionné de 8 μ g/ml de ciprofloxacine. Un témoin négatif est également utilisé. L'incubation est effectuée à 37°C/18h sous agitation. Au terme de la période d'incubation, 10 μ l de chaque culture sont déposés sur des disques vierges appliqués sur des boîtes du milieu Mueller-Hinton préalablement ensemencées avec la souche sensible *E. coli* ATCC 25922. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C/24h. Les diamètres obtenus autour du témoin et de la souche à tester sont mesurés. Une différence de 10 mm signifie que la souche testée est probablement productrice de cette enzyme.

I.5. Traitement statistique des données

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

I. Caractéristiques de la population

I.1. Selon les services de pédiatrie et cabinets de pédiatrie

Cette étude a concerné deux services de pédiatrie en l'occurrence celui de l'hôpital d'Amizour et celui du CHU de Bejaia et parallèlement cinq cabinets de consultation pédiatrique de la ville de Bejaia. Le nombre de prélèvements est équivalent entre les services et les cabinets, soit 75 prélèvements.

I.2 Selon l'âge

La figure 01 montre que les prélèvements effectués ont touché trois tranches d'âge qui sont les nouveau-nés (1j-28j), les nourrissons (1mois-2ans) et les enfants (2ans-15 ans). Un même taux de 80% est observé pour les nourrissons (soit 60 nourrissons) au niveau des cabinets et des services de pédiatrie.

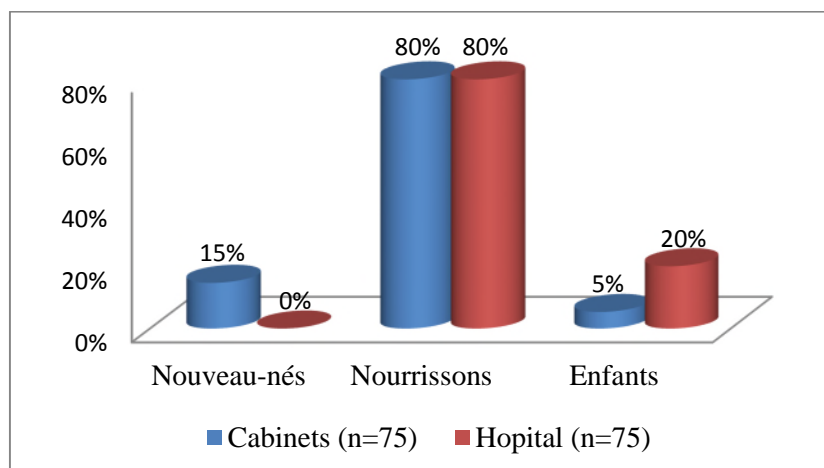


Figure 01 : Répartition des patients selon l'âge au niveau des cabinets de pédiatrie et des hôpitaux.

I.3 Selon le sexe

Le nombre de prélèvements effectués n'est pas homogène chez les deux sexes (masculin 53,33%, féminin 46,66%) au niveau des cabinets de pédiatrie et (masculin 48%, féminin 52%) au niveau des hôpitaux. Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 02.

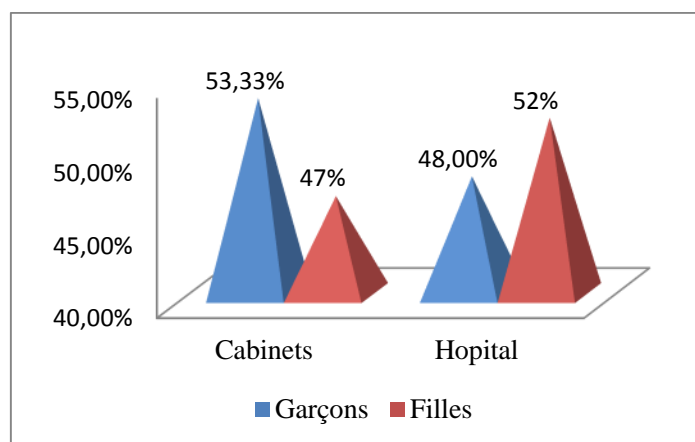


Figure 02 : Répartition des patients selon le sexe.

II. Souches bactériennes isolées

Le nombre des souches de bacille à Gram négatif collectées est de 118 souches isolées sur gélose Mac Conkey additionnée de CTX et/ou de CAZ, dont 100 souches d'*Enterobacteriaceae*, 17 de *Pseudomonas aeruginosa* et 1 d'*Acinetobacter baumannii* (figure 03). Les résultats de l'identification sont donnés dans le tableau II (Annexe IV).

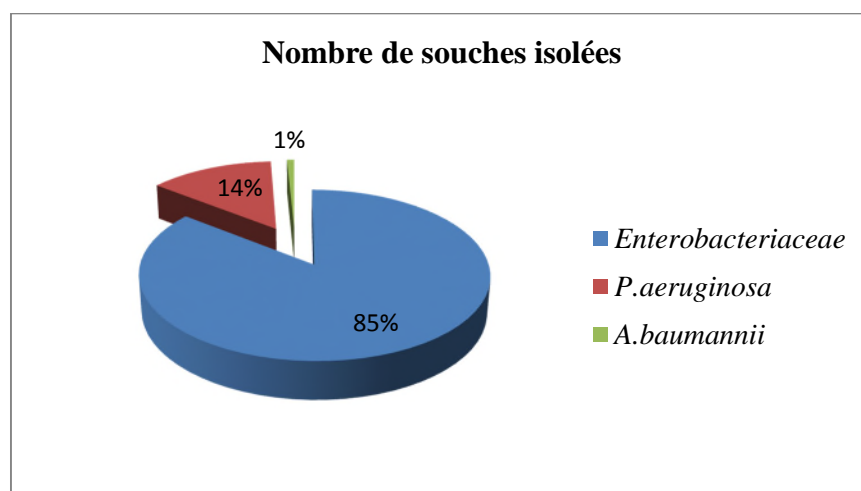


Figure 03: Taux des bacilles à Gram négatif isolés.

➤ Répartition des souches isolées par espèce

Sur les 150 prélèvements effectués, 118 souches sont isolées à partir de 94 prélèvements positifs. La figure ci-dessous montre la répartition des souches isolées par espèce au niveau des cabinets et des hôpitaux.

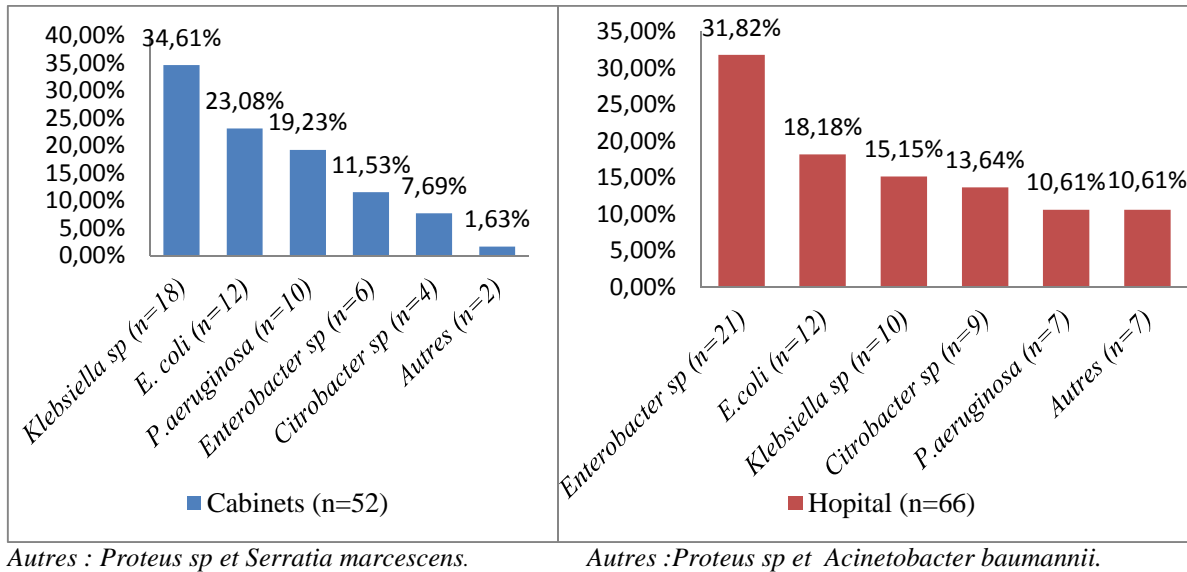


Figure 04 : Répartition des souches isolées par espèce au niveau des cabinets et des hôpitaux.

La répartition des souches par espèce nous montre que la souche la plus retrouvée au niveau des cabinets est *Klebsiella sp* (34,61%) suivi par *E.coli* (23,08%). Contrairement au niveau des hôpitaux où *Enterobacter sp* (31,82%) est plus fréquent cela est probablement due à la résistance naturelle, suivi d'*E.coli* (18,18%) puis de *Klebsiella sp* (15,15%). Des taux significatifs de *Pseudomonas aeruginosa* sont retrouvés au niveau des cabinets (19,23%) et des hôpitaux (10,61%).

➤ **Répartition des souches isolées au niveau des cabinets et des hôpitaux**

La répartition des souches isolées au niveau des cabinets de pédiatrie et des hôpitaux est représentée dans la figure 05.

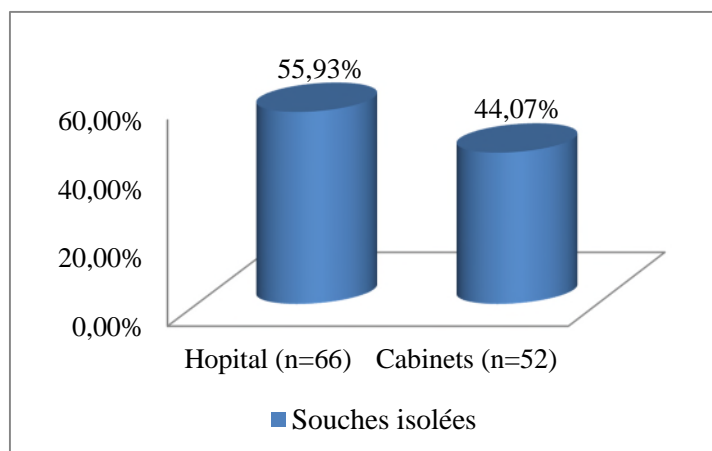


Figure 05 : Répartition des souches isolées au niveau des cabinets et des hôpitaux.

Nous avons noté au cours de notre étude que les souches d'entérobactéries sont le plus souvent isolées au niveau des services de pédiatrie qu'au niveau des cabinets.

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

III.1. Résistance des bacilles à Gram négatif isolés aux β-lactamines

Plusieurs antibiotiques de la famille des β-lactamines ont été testés sur les souches isolées. Les taux de résistance à sept β-lactamines de l'ensemble des souches sont donnés dans la figure 06.

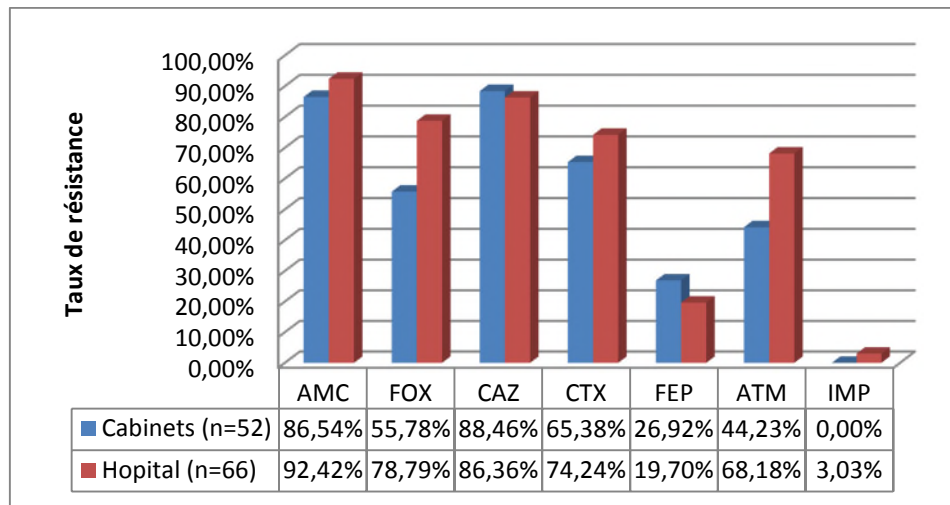


Figure 06 : Résistance des souches isolées aux β-lactamines.

Légende : CAZ (Céftazidime), AMC (Amoxicilline + Acide clavulanique), CTX(Céfotaxime), FOX (Céfoxitine), FEP (Céfépime), ATM (Aztréonam),IPM (Imipénème).

Sur un total de 118 souches isolées, 52 souches sont isolées au niveau des cabinets et 66 souches au niveau des services de pédiatrie. D'après les résultats obtenus, nous notons une résistance importante vis-à-vis de l'AMC avec un taux de 86,54% dans les cabinets et de 92,42% dans les hôpitaux. Pour la FOX, un taux de 78,79% est observé au niveau des hôpitaux et de 55,78% au niveau des cabinets. Ces taux élevés sont probablement dues à la résistance naturelle de certaines souches (*Enterobacter sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Citrobacter freundii*).

Le taux de résistance à l'ATM est légèrement élevé au niveau des services avec 68,18% contrairement à 44,23% au niveau des cabinets. Concernant la FEP, les taux enregistrés restent peu élevés avec 26,92% au niveau des cabinets et 19,70% au niveau des services. Enfin, nous observons un taux de résistance à l'IMP (résistance intermédiaire) uniquement au niveau des hôpitaux 3,03%.

➤ **Répartition des souches résistantes aux C3G par espèce**

Les résultats présentés dans le tableau VI montre que sur la totalité des souches isolées, 88,98% (105/118) sont résistantes ou intermédiaires au CTX et/ou CAZ. Les taux sont comparables au niveau des cabinets et des services de pédiatrie soit 88,46% (46/52) et 89,39% (59/66).

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

Souche	<i>Klebsiellasp</i>	<i>Enterobacter sp</i>	<i>E. coli</i>	<i>Citrobacter sp</i>	<i>Proteus sp</i>	Autres
Nb de souches C3G « R »	25	25	19	12	7	17
% de résistance	23,81	23,81	18,10	11,43	6,67	16,19

Autres : *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*.

C3G R : résistantes aux céphalosporines de troisième génération.

III.1.1. Recherche de BLSE

Le profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées est donné au tableau III (annexe IV). Des tests phénotypiques de détection des BLSE sont utilisés durant cette étude :

➤ **DD-Test**

Le DD-test effectué pour les souches isolées résistantes aux C3G a révélé la présence d'une image de synergie pour 41/105 souches (40%), ce qui indique la présence probable d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE). Les résultats de ce test 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 07.

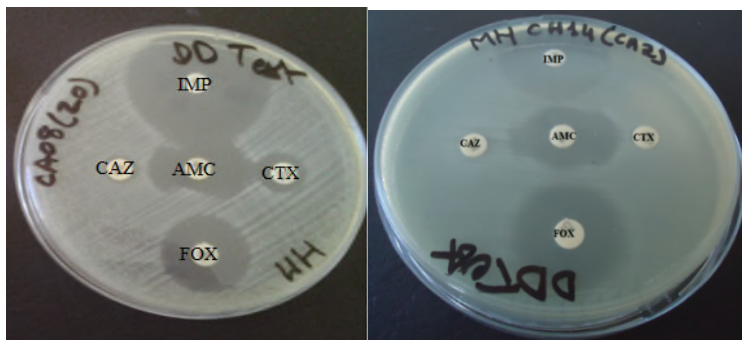


Figure 07 : Images de synergie obtenues pour les souches CA08 (CAZ) *E. coli* et CH14(CAZ) *Klebsiella sp.*

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

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 cloxacilline à une concentration de 250µg/ml.

Sur 57 souches testées, 8 souches présentaient une image de synergie révélant la présence d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE) et 49 souches présentaient une récupération de la zone d'inhibition (≥ 6 mm) rendant compte de la présence possible d'une céphalosporinase chromosomique (hyperproduction d'AmpC naturelle) ou d'une céphalosporinase plasmidique (AmpC acquise). Ces résultats sont résumés dans le tableau IV (annexe IV). Les diamètres des zones d'inhibition de quelques souches sur gélose Mueller Hinton puis sur gélose Mueller Hinton additionnée de la cloxacilline sont donnés dans le tableau IV (annexe IV). Il est à noter que 7 souches n'ont pas été testées pour le test de cloxacilline.

Le résultat de la présence de synergie pour la souche PK01 *Enterobacter sp* est illustré sur la figure 08.

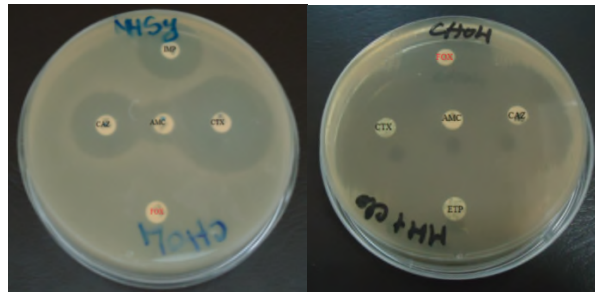


DD test sans cloxacilline

DD test avec cloxacilline

Figure 08: Résultat de la présence de synergie avec cloxacilline pour la souche PK01.

Le résultat de l'absence de synergie pour la souche CH04 *E. coli* est illustré sur la figure 09.



DD test sans cloxacilline. DD test avec cloxacilline

Figure 09: Phénotype de production de céphalosporinase plasmidique pour la souche CH04.

III.1.2. Recherche de la production de céphalosporinases plasmidiques

L'image de trèfle était bien visible sur 19/27 (70,37%) souches retrouvées résistantes ou intermédiaires à la FOX, ce qui indique que ces dernières produisent probablement une céphalosporinase plasmidique, par contre aucune image de trèfle n'a été observée sur 8/27 (29,62%) souches. La souche témoin positif *Klebsiella pneumoniae* appartient à la collection des souches résistantes du laboratoire de Microbiologie appliquée.

Un exemple de cette image de trèfle est bien visible pour la souche PK22 (CTX) *Klebsiella sp* (figure 10).

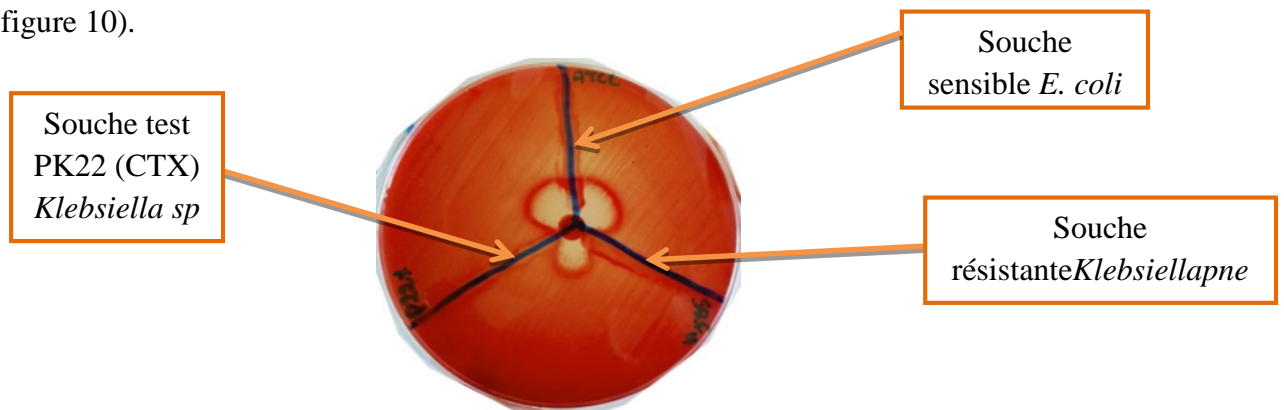


Figure 10 : Test de Hodge modifié positif pour la souche PK22 (CTX) *Klebsiella sp*.

III.1.3. Recherche de la production de carbapénèmes

➤ Test de Hodge

L'image de trèfle est bien visible pour deux souches retrouvées résistantes ou intermédiaires à l'IMP, ce qui indique que ces dernières produisent probablement une carbapénémase.

La souche témoin positif *Acinetobacter baumannii* appartient à la collection des souches résistantes du laboratoire d'écologie microbienne. La figure 11 montre un Hodge-test positif pour la souche P26 (CAZ).

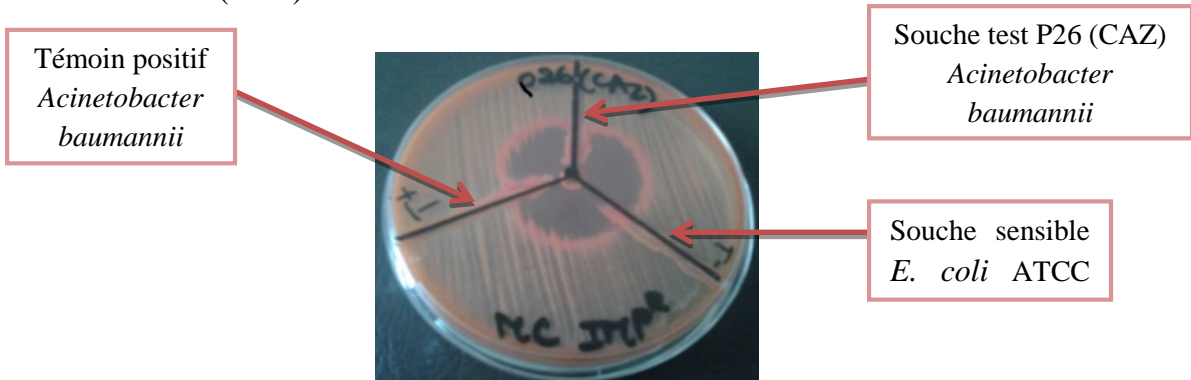


Figure 11 : Test de Hodge positif pour la souche P26 (CAZ) *Acinetobacter baumannii*.

➤ Test à l'EDTA

Le test à l'EDTA a montré une récupération de 6mm (IMP seul : 20mm, IMP-EDTA :30mm) pour l'IMP-EDTA pour la souche P25(CTX) ce qui signifie que cette souche produit probablement une carbapénémase de type métallo-bêta-lactamases (B). Ce résultat est illustré dans la figure 12.



Figure 12 : Résultat positif du test à l'EDTA pour la souche P25 (CTX) *Pseudomonas aeruginosa*.

➤ Test au NaCl

L'addition de NaCl à la gélose Mueller-Hinton à une concentration de 200mM, permet de déterminer si la carbapénémase appartient à la classe D (oxacillinases). Ce test s'est montré positif pour la souche P26 (CAZ) *Acinetobacter baumannii* avec une récupération de 6mm (de 10mm sans NaCl à 16mm avec NaCl). Ce résultat est illustré dans la figure 13.



Figure 13 : Résultat positif du test au NaCl pour la souche P26 (CAZ) *Acinetobacter baumannii*.

III.1.4. Détermination des CMI

Nous avons testé les CMI pour 40/105 souches isolées par rapport à la Ceftriaxone (CAZ) avec 14/40 (35%) souches au niveau des cabinets et 26/40 (65%) souches au niveau des hôpitaux. Les valeurs des CMI varient entre 8µg/ml et 64µg/ml ou plus. Les résultats sont donnés dans le tableau V (annexe IV). Nous remarquons que les CMI > 64µg/ml sont beaucoup plus retrouvées avec 29/40 des souches.

III.1.5 Dédution des phénotypes de résistance aux β-lactamines

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

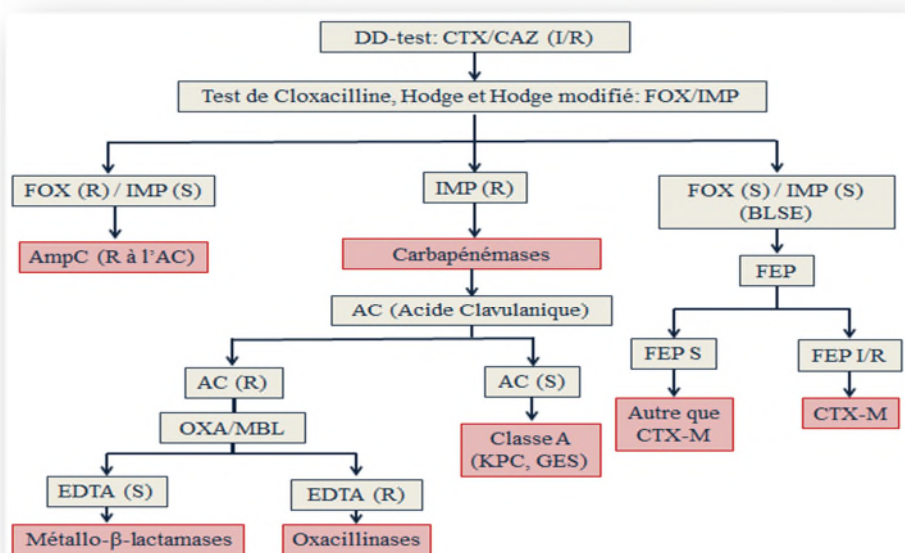


Figure 14 : Critères de déduction des phénotypes de résistance aux β-lactamines.

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

Tableau N°VII : 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

La figure 14 ci-dessous présente la fréquence des phénotypes de résistance observés avec les 105 souches isolées durant cette étude.

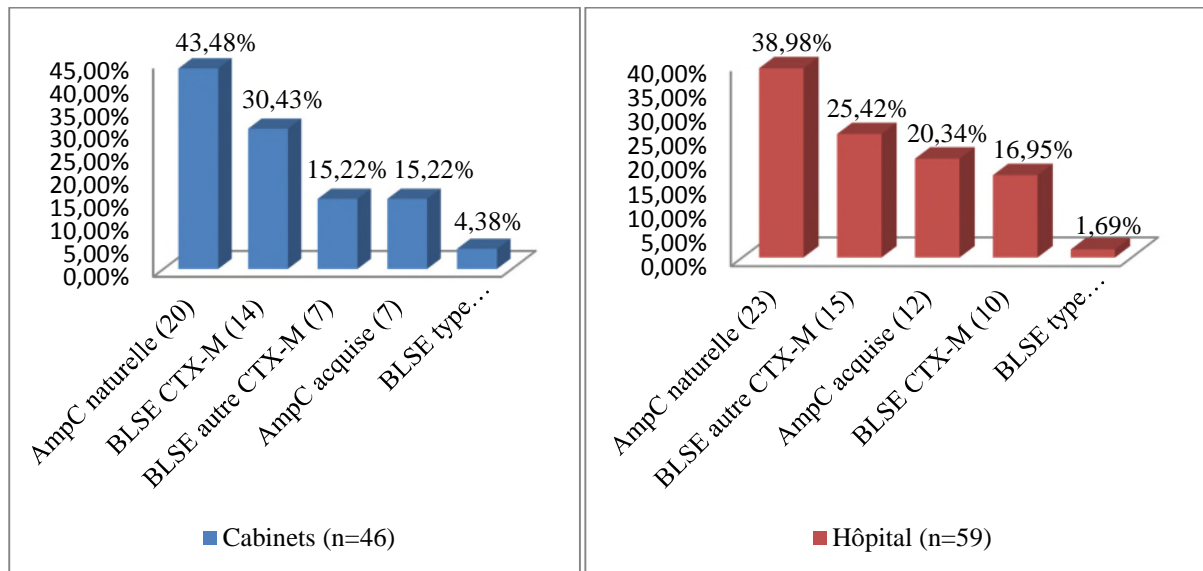


Figure 15 : Les phénotypes de résistance probables pour les souches résistantes aux C3G.

Cette figure montre la dominance du phénotype hyperproduction de céphalosporinase (AmpC) chromosomique au niveau des cabinets 20/46 (43,48%) et des hôpitaux 23/59 (38,98%), suivi du phénotype BLSE de type CTX-M au niveau des cabinets de pédiatrie 14/46 (30,43%) et de BLSE autre CTX-M au niveau des hôpitaux 15/59 (25,42%).

Le phénotype BLSE type céftazidimase est retrouvé faiblement avec un taux de 4,38% au niveau des cabinets et 1,69% au niveau des hôpitaux. En plus de ces phénotypes, nous avons enregistré d'autres phénotypes qui sont représentés dans le tableau IX ci-dessous :

Tableau N°VIII : Autres phénotypes de résistance retrouvés.

Milieu	Code	Souches	Phénotypes probables
Cabinets	CS08 (CTX)	<i>E. coli</i>	Imperméabilité
	CA05	<i>E. coli</i>	Pénicillinase de haut niveau
	CB13 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	Imperméabilité
	CH19 (CTX)	<i>Citrobacter freundii</i>	Imperméabilité
Hôpital	P12	<i>E. coli</i>	Pénicillinase de haut niveau
	P14 (CAZ1)	<i>E. coli</i>	Imperméabilité
	P15 (CAZ)	<i>E. coli</i>	Imperméabilité
	P08	<i>Klebsiella sp</i>	Pénicillinase de haut niveau
	P14 (Z2)	<i>Klebsiella sp</i>	Imperméabilité
	P27 (CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	Imperméabilité
	P34 (CTX)	<i>Citrobacter freundii</i>	Imperméabilité
	P15 (CTX)	<i>Proteus vulgaris</i>	Enzyme chromosomique inductible
	P26 (CAZ)	<i>Acinetobacter</i>	Carbapénémase (OXA)

*Les souches restantes sont des souches sensibles.

III.2. Résistances associées

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 dans les cabinets et les hôpitaux.

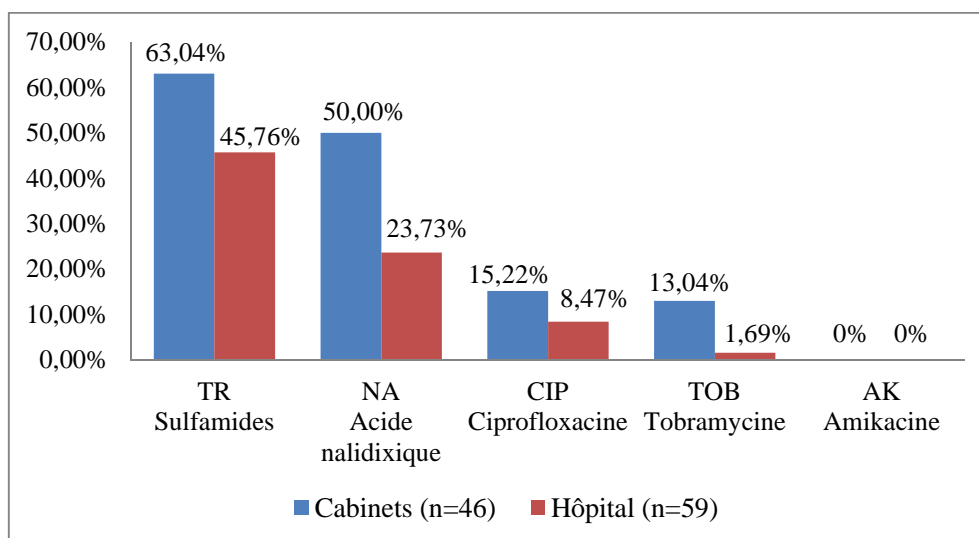


Figure 16: Taux de résistance aux autres antibiotiques des souches résistantes aux C3G.

II.2.1. Résistance aux Aminosides

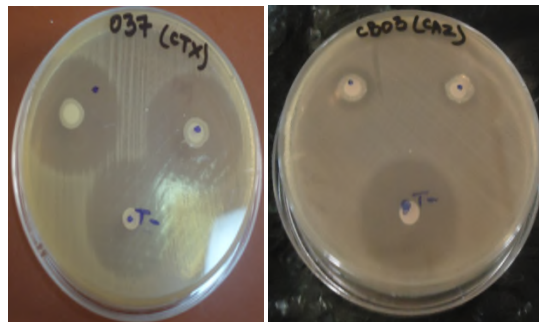
Les aminosides sont représentés par deux antibiotiques qui sont la Tobramycine (TOB) et l'Amikacine (AMK). Une résistance est enregistrée pour la Tobramycine avec un taux de 6,67% (7/105) dont 13,04% (6/46) au niveau des cabinets et 1,69% (1/59) au niveau des hôpitaux. Aucune résistance n'est enregistrée avec l'Amikacine. Nous notons que 87,5% (7/8) de ces souches sont productrices de BLSE : 5 souches de *Klebsiella sp*, 1 souche de *E. coli* et 1 souche de *Citrobacter sp*.

II.2.2. Résistance aux Quinolones (NA) et Fluoroquinolones (CIP)

Dans cette étude, 37/105 (35,24%) des souches présentent une résistance à l'acide nalidixique avec un taux de 50% (23/46) au niveau des cabinets de pédiatrie et 23,73% (14/59) au niveau des hôpitaux. Une autre résistance est révélée vis-à-vis de la ciprofloxacine pour 12/105 (11,43%) des souches, soit un nombre de 7/46 (15,22%) souches au niveau des cabinets et 5/59 (8,47%) souches au niveau des hôpitaux.

- Recherche de la production de l'enzyme AAC(6')Ib-cr

Ce test est réalisé pour les souches résistantes ou intermédiaires aux fluoroquinolones. Les résultats du test de Wachino *et al.*, (2011) modifié ont révélé la présence de l'enzyme AAC(6')Ib-cr pour 3/14 (21,43%) des souches testées, soit 2 souches d' *E. coli* et 1 souche de *Klebsiella sp*. Un exemple d'un résultat négatif et positif sont illustrés dans la figure suivante :



Résultat négatif : 037 (CTX) *E. coli* Résultat positif : CB03(CAZ) *E. coli*

Figure 17: Comparaison entre un résultat positif et négatif pour la production de l'enzyme AAC(6')Ib-cr.

III.2.3. Résistance aux sulfamides

Le taux de résistance au Triméthoprim (TR) est le plus élevé avec 53,33% (56/105), soit de 63,04% (29/46) au niveau des cabinets et de 45,76% (27/59) au niveau des hôpitaux.

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

IV.1. Portage fécal d'EBLSE identifiées

Sur les 150 prélèvements collectés, 118 souches ont été isolées et identifiées comprenant 100 souches d'entérobactéries dont 49/100 (49%) souches sont productrices de BLSE.

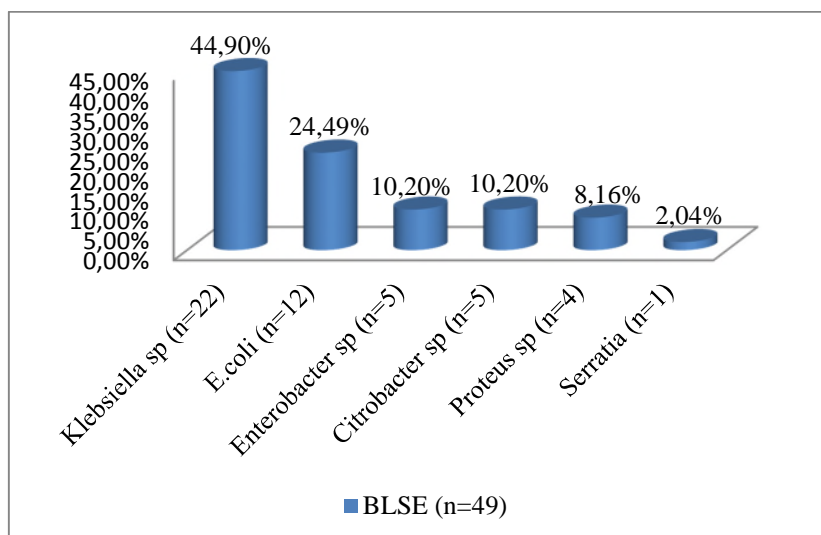


Figure 18 : Répartition des souches d'EBLSE par espèce.

La figure 17 montre une prédominance de *Klebsiella sp* (12/49) avec un taux de 44,90%, suivi par *E. coli* (8/49) avec 24,49%. Les autres espèces sont faiblement représentées.

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

Le nombre total d'EBLSE retrouvées est de 49, réparti dans les cabinets et les hôpitaux avec un taux de 23/52 EBLSE au niveau des cabinets et de 26/66 EBLSE au niveau des hôpitaux (figure 18).

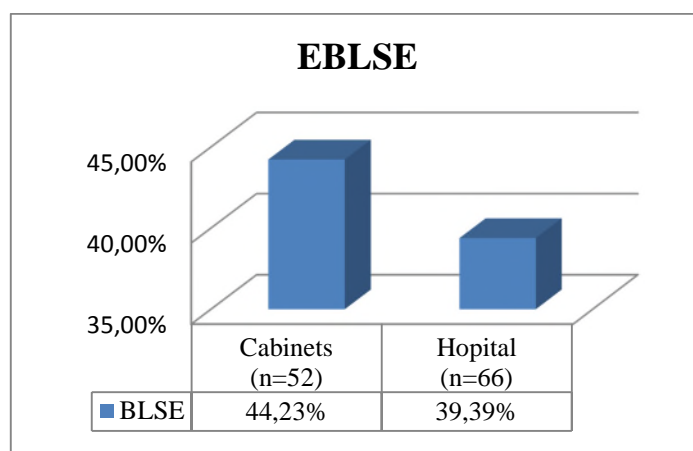


Figure 19 : Répartition des souches d'EBLSE selon les cabinets et les hôpitaux.

IV.3. Portage fécal d'EBLSE selon le sexe

Le portage des EBLSE est plus élevé chez le sexe féminin avec un taux de 55,10% (22/49) que chez le sexe masculin avec 44,90% (27/49). L'analyse statistique des données faite par le test de X^2 (Khi2) révèle que le sexe n'est pas considéré comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe V). La répartition des EBLSE selon le sexe est représentée dans la figure 19.

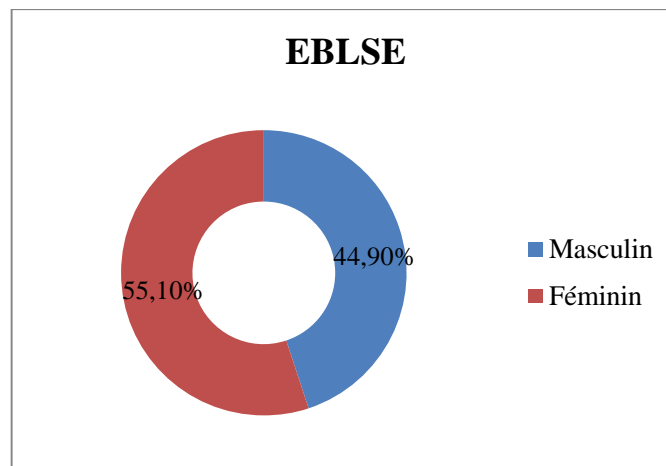


Figure 20: Répartition des souches d'EBLSE selon le sexe.

IV.4. Portage fécal d'EBLSE selon l'âge

Les EBLSE sont retrouvées à un taux élevé chez les nourrissons qui est de 81,63%. Le test de X^2 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°IX : Répartition des souches d'EBLSE selon l'âge.

	Souches Résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Nouveau- nés	2	3	5	4.08%
Nourrissons	40	41	81	81,63%
Enfants	7	7	14	14.29%

IV.5. Portage fécal d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure

22,45 % (11/49) de souches productrices de BLSE sont identifiées chez des enfants sous antibiothérapie au cours de notre étude. Selon le test de X^2 (Khi2) effectué pour l'analyse statistique, l'antibiothérapie est considérée comme un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE. La figure ci-dessous montre la répartition des EBLSE selon l'antibiothérapie préalable.

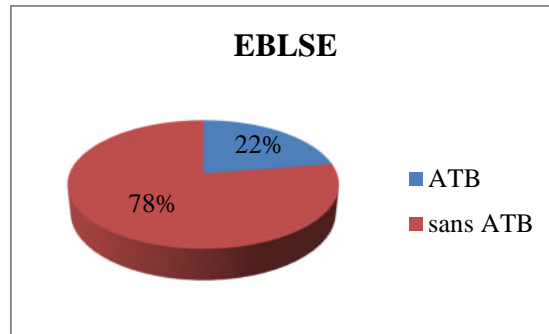


Figure 21 : Répartition des souches d'EBLSE selon l'antibiothérapie antérieure.

Légende : ATB pour antibiothérapie, sans ATB pour sans antibiothérapie.

IV.6. Portage fécal des EBLSE selon l'antibiotique administré

L'antibiotique le plus prescrit au niveau des hôpitaux est l'Amoxicilline avec un taux de 19.23%, en revanche, trois antibiotiques de différentes familles sont prescrits au niveau des cabinets avec un même taux de 8.70%. Les taux des différents antibiotiques administrés sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau N°X : Types d'antibiotiques administrés au niveau des cabinets et des hôpitaux.

	Amoxicilline	Gentamicine	Céfotaxime
Cabinets (n=23)	8,70%	8,70%	8,70%
Hôpital (n=26)	19,23%	0%	0%

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

IV.7. Portage fécal des EBLSE selon le motif de consultation au cabinet et d'admission à l'hôpital

Les motifs de consultation semblent être différents des motifs d'admission au niveau des hôpitaux où nous remarquons une présence d'EBLSE plus importante chez les patients atteints de Bronchiolites au niveau des hôpitaux et chez les patients ayant un problème orthopédique au niveau des cabinets. Nous notons que pour un même prélèvement, plusieurs EBLSE peuvent être retrouvées. Les différents motifs des 49 EBLSE sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau N°XI : Répartition des EBLSE selon les motifs de consultation et d'admission.

Code	Motif d'admission à l'hôpital	Code	Motif de consultation au cabinet
P04	Bronchiolite	CH05	Luxation de hanche
P07	Laryngo-bronchiolite sévère	CH08	Orthopédique

P14	Bronchiolite	CH13	Visite systématique
P15	Laryngo-bronchiolite modérée	CH14	Elongation du plexus brachial droit
P21	Bronchiolite modérée	CH17	Orthopédique
P26	Bronchiolite	CH26	Luxation de hanche
P28	Bronchiolite sévère	CH30	Luxation congénitale bilatérale des hanches
P34	GEA	CB03	Visite systématique
P37	Diminution du taux de plaquettes	CB05	Diarrhées glaireux sanglantes
PK01	Fièvre	CB09	Visite systématique
PK03	Epathomygalie	CB10	Visite systématique
PK06	Enflamment du genou	CS04	Laryngite
PK08	anémie	CS05	Diarrhée
PK12	Diabète	CS08	Visite systématique
PK23	Fièvre	CS10	Gastroentérite
PK24	Bronchiolite	CA04	Bronchiolite
PK25	Bronchiolite	CA08	Syndrome grippal
PK28	Bronchiolite		
PK29	Grippe		
PK30	Bronchiolite		
PK31	Bronchiolite, diabète		

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 :

12,24% d'EBLSE chez les enfants ayant eu une hospitalisation antérieure.

93,88% d'EBLSE chez les enfants nés d'une grossesse à terme.

73,47% d'EBLSE chez les enfants nés par voie basse.

34,70% d'EBLSE chez les enfants allaités artificiellement.

L'analyse statistique de ces données faite par le test de X^2 a révélé que ces facteurs (hospitalisation antérieure, âge gestationnel, mode d'accouchement et d'allaitement) ne sont pas considérés comme des facteurs de risque d'acquisition d'EBLSE (Annexe VI).

V. Discussion générale

Dans la dernière décennie, de nombreuses études ont montré une augmentation spectaculaire de l'émergence d'entérobactéries productrices de BLSE, en raison d'une surutilisation de céphalosporines à large spectre. Cette émergence de la résistance devient préoccupante et pose un vrai problème de santé publique (Birgy *et al.*, 2012).

Le principal réservoir de ces souches est le tractus intestinal. Ces souches se retrouvent aussi au niveau des mains du personnel soignant, contribuant à une contamination croisée (Blaschke *et al.*, 2009; Randrianirina *et al.*, 2009). 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).

Les patients les plus vulnérables et 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 (Auajjar *et al.*, 2006). En effet, un taux assez important d'infections ou de colonisations est souvent enregistré au niveau des pédiatries et des gériatries des hôpitaux (Rodrigeuz-Bano *et al.*, 2006).

Dans notre étude le choix de la population est basé sur les critères suivants : population jeune souvent sans antibiothérapie antérieure et sans hospitalisation répétée. Autrement dit, population avec peu de facteurs de risque d'acquisition de BMR dans le milieu communautaire.

Sur les 150 prélèvements effectués, 118 souches de bacilles à Gram négatif ont été isolées dont 52 souches isolées au niveau des cabinets et 66 souches au niveau des hôpitaux.

Sur les 52 souches isolées au niveau des cabinets, nous avons retrouvé un taux élevé de *Klebsiella sp* (34,61%), suivi d'*E. coli* avec un taux de 23,08%, les autres espèces sont faiblement représentées. Les résultats obtenus durant notre étude sont différents de ceux obtenus dans les études citées par Andrianarivelo *et al.* (2010), qui ont observé que l'espèce la plus fréquemment isolée est *E. coli* avec un taux de 50% suivi de *K.pneumoniae*.

Quant aux 66 souches isolées au niveau des hôpitaux, un taux élevé d'*Enterobacter sp* (31,82%) a été retrouvé suivi d'*E. coli* avec un taux de 18,18% et de *Klebsiella sp* avec 15,15%. Les autres espèces sont faiblement isolées. Concernant le genre *Enterobacter*, les résultats enregistrés concordent avec ceux obtenus par Ho *et al.*, 2005, qui ont étudié la production d'AmpC et de β -lactamases à spectre étendu chez l'espèce *Enterobacter sp*, en vue d'améliorer la surveillance de ce genre bactérien dans l'émergence de nouveaux mécanismes

de résistance aux antibiotiques. Cette étude a révélé que *E. cloacae* était l'espèce prédominante avec un taux de 71,22%.

Les souches isolées dans notre étude montrent des taux de résistance élevés vis-à-vis des β -lactamines testées. 2 souches résistantes (1 *P. aeruginosa* et 1 *A. baumannii*) sont enregistrées vis-à-vis de l'imipénème. Ces 2 souches sont des germes opportunistes non fermentaires incriminés dans les infections nosocomiales (Mansour *et al.*, 2008) pouvant être transportés en médecine de ville par manuportage mais restent habituellement d'origine hospitalière. Nous avons remarqué l'isolement inhabituel de *Pseudomonas* avec un taux de 14,40% sur le nombre total de souches isolées et cela est très préoccupant. Ce taux de résistance semble être élevé par rapport aux études des années précédentes, sachant que cette molécule est censée être active à large spectre, ce qui reste très préoccupant.

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 hyperproduites et les céphalosporinases plasmidiques. La tendance évolutive de la résistance aux C3G dans les pays industrialisés se fait vers la régression. Cela est attribué à l'instauration des programmes de lutte contre les infections nosocomiales et les campagnes de promotion du bon usage des antibiotiques. Les C3G sont les meilleurs substrats pour les différents types de BLSE. Ainsi, la céftazidime est le meilleur indicateur phénotypique dans la détection des BLSE de type TEM et SHV, tandis que le céfotaxime est un très bon substrat pour les BLSE de type CTX-M.

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 de pénicillinases de haut niveau, d'enzyme chromosomique inductible (*P. vulgaris*), de céphalosporinases chromosomiques (entérobactéries du groupe 3), de céphalosporinases plasmidiques, de BLSE et par imperméabilité ou 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). Durant notre étude, la prévalence des enfants porteurs d'entérobactéries productrices d'AmpC

plasmidiques est de 14%. Une étude en Algérie réalisée entre 2003 et 2007 portant sur la prévalence des entérobactéries productrices de céphalosporinases plasmidiques isolées aux niveau des hôpitaux d'Alger, a montré une prévalence de 2,18% comportant 8 enzymes de type CMY-2 et 3 de type DHA-1 (Iabadane *et al.*, 2009). En 2009, Janvier *et al.*, travaillant entre 1999 et 2009 sur une population de jeunes asymptomatiques, ont isolé 22 entérobactéries résistantes au CTX (prévalence 4,2 %). Parmi lesquelles il y avait 11 entérobactéries présentant une céphalosporinase hyperproduite (Hcase) (Janvier *et al.*, 2011).

La prévalence de patients porteurs d'EBLSE avoisine les 32,66% (49/150). Cette prévalence témoigne l'émergence de ce phénomène dangereux en médecine de ville alors que jusqu'à la fin des années 90, les BLSE étaient principalement identifiées dans des souches de *K. pneumoniae* en milieu hospitalier (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). Selon ce dernier, le portage digestif associé aux infections communautaires est retrouvé dans environs 70% des cas, avec une estimation entre 0,1 à 13,1%.

Les 49 EBLSE isolées lors de notre étude sont réparties en 23 EBLSE au niveau des cabinets et 26 EBLSE au niveau des hôpitaux (Amizour et CHU). Le taux noté durant notre étude concorde avec les résultats obtenus en Afrique. Les études précédentes sont résumées dans le tableau suivant

	Thème d'étude	Prévalence	Référence
Afrique	Portage fécal de bacilles à Gram négatif résistants aux C3G au niveau des cabinets de pédiatrie en ville et au niveau des services de pédiatrie de l'hôpital Khelil Amrane et d'Amizour	32.66%	Cette étude
	L'évaluation du portage fécal des EBLSE chez des enfants, Guinée-Bissau	32.6%	(Isendah <i>et al.</i> , 2012)
	La prévalence du portage d'EBLSE dans un hôpital pédiatrique (dépistage à l'admission) en Afrique	21,2 %	(Andriatahina, 2010)
	La prévalence du portage d'EBLSE chez des enfants vivants dans un orphelinat au Mali	100%	(Tandé <i>et al.</i> , 2009)
	La prévalence du portage d'EBLSE à Madagascar	10,1%	(Herindrainy <i>et al.</i> , 2011).

	La prévalence du portage fécal d'EBLSE chez des personnes fréquentant un hôpital du Caire En Egypte	63,3%	(Abdul Rahman et El-Sherif, 2011).
Asie	La prévalence du portage fécal d'EBLSE en Inde	20%	(Doi <i>et al.</i> , 2009),
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE dans un hôpital de Hong Kong	43,5%	(Lo <i>et al.</i> , 2010).
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE dans une étude israélienne	8%	(Friedmann, 2009)
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE en Arabie Saoudite.	26,1%	(Kader, 2007)
Europe	La prévalence du portage fécal d'EBLSE en France	4,6%	(Birgy <i>et al.</i> , 2012).
	La prévalence du portage fécal d'EBLSE au Portugal chez des enfants sains	2,6%	(Guimaraes <i>et al.</i> 2009)
	En Espagne	7,0%	(Valverde <i>et al</i> 2003)
Turquie	l'évaluation prospective de la prévalence et des facteurs de risques importants pour le portage fécal d'EBLSE chez des enfants hospitalisés et en ambulatoire à Eskisehir en Turquie	7,2% ambulatoire 24,4% hospitalisés	(Kiremitçiet <i>al.</i> , 2011)
	La prévalence du portage fécal d'EB-BLSE comportant les adultes et les enfants	15% ambulatoire 47% hospitalisés	(Kurt-Azap <i>et al.</i> , 2007)
Bolivie et Pérou	La prévalence du portage fécal d'EB-BLSE des enfants sains	0,1%.	(Pallecchi <i>et al.</i> 2004)

Sur les 23 EBLSE retrouvées au niveau des cabinets de pédiatrie *Klebsiella sp* est l'espèce la plus isolée avec un taux 30,61% (15/23) suivi d'*E. coli* avec un taux de 8,16% (4/23). 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 26 EBLSE retrouvées au niveau des hôpitaux, des taux élevés sont enregistrés chez *E. coli* 30,77% (8/26) et *Klebsiella sp* 26,92% (7/26). 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 communautaire qu'en intra-hospitalier.

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

En plus de la résistance aux C3G, les souches d'EBLSE sont aussi, dans leur très grande majorité, résistantes aux autres familles d'antibiotiques, notamment au triméthoprim (TR) et aux quinolones représentés par l'acide nalidixique (NA), signalés dans notre étude, soit : 61,54% ;48,08% au niveau des cabinets et 45,45% ; 25,76% au niveau des hôpitaux respectivement pour TR et NA.

Une résistance a été retrouvée pour la ciprofloxacine avec des taux de 15,38% au niveau des cabinets et 9,09% au niveau des hôpitaux, ceci nous a incité à rechercher la production de l'enzyme AAC(6')Ib-cr. Un résultat positif a été obtenu pour ce test chez 3/14 (21,43%) des souches testées, soit 2 souches d'*E. coli* et 1 souche de *Klebsiella sp.*

Plusieurs études rapportent l'association des gènes codant pour les BLSE de type CTX-M avec les gènes, *qnr* codant pour une protéine qui protège la cible des quinolones (ADN gyrase) et *acc-(6')-Ib-cr*, de résistance aux quinolones sur le même plasmide (Cerquetti *et al.*,2010). L'étude réalisée par Meradi *et al.*(2009), à Annaba portant sur la résistance aux quinolones de types *qnr*, *aac (6')-Ib-cr* chez les entérobactéries, a montré l'association des gènes *bla*_{CTX-M-28} et *qnrB*.

Au Sénégal, une étude a été menée par Ruppe *et al.* 2009, qui consiste à étudier le portage d'isolats d'*E. coli* productrices de CTX-M-15 chez les enfants vivant dans un village isolé au Sénégal. Cette étude a révélé qu'un clone d'*E. coli* qui porte le gène *bla*_{CTX-M-15} et d'autres gènes de résistance, y compris *bla*_{OXA-1}, *bla*_{TEM-1}, *aac(6')Ib-cr* et *Tet(A)*, était présent dans la flore fécale sous-dominante de deux enfants en bonne santé d'un village Sénégalais très éloigné et isolé avec un accès très limité à la médecine. Cette association des déterminants de résistance des souches détectées était très semblable à celle trouvée dans les

E. coli productrices de BLSE qui circulent dans le monde entier dans les zones urbaines denses.

La multi-résistance des entérobactéries productrices de CTX-M a poussé sur le devant de la scène les carbapénèmes. Le moment même où l'usage des carbapénèmes s'est fait plus massif à cause des entérobactéries productrices de BLSE, les carbapénémases ont émergé. Le premier épisode impliquant une entérobactérie productrice de carbapénémases (EPC) en France a été signalé en 2004. Depuis, 104 épisodes ont été identifiés, dont 62 pendant les neuf premiers mois de 2011. Les bactéries en cause sont majoritairement *K. pneumoniae* suivie d'*E. coli* (Boutet-Dubois *et al.*, 2012). Dans notre étude deux carbapénémases ont été retrouvées, une de type oxacillinase pour une souche d'*Acinetobacter baumannii* qui avait un taux de résistance élevé à la majorité des antibiotiques testés et une autre de type métallo- β -lactamase pour une souche de *P. aeruginosa*. Le contrôle de la diffusion de ces souches productrices de carbapénémases revêt une importance particulière car il n'y a plus de possibilité thérapeutique pour le moment. Il est donc capital de préserver autant que possible l'efficacité des molécules existantes.

Nombreuses sont les équipes qui se sont intéressées aux EBLSE ainsi qu'aux facteurs de risque de portage de telles bactéries chez les adultes. En milieu hospitalier, les facteurs de risque d'infection nosocomiale ont largement été étudiés (âge élevé, comorbidités, séjour en réanimation, durée d'hospitalisation avant la colonisation ou l'infection, notion d'une hospitalisation récente, procédures invasives, utilisation préalable d'antibiotiques). Pour le milieu communautaire, les études s'intéressant aux facteurs de risque d'infection et de colonisation sont moins nombreuses et présentent les mêmes écueils. Les facteurs de risque retrouvés sont les mêmes, auxquels s'ajoutent la notion d'un voyage à l'étranger notamment en zone endémique et les infections urinaires récurrentes. Cependant aujourd'hui aucun paramètre ne permet de prédire à un instant « t » qu'un patient est porteur d'EBLSE à son arrivée, sauf en cas de dépistage antérieur (Vodovar *et al.*, 2012).

Dans notre étude, l'analyse statistique a montré que l'antibiothérapie antérieure est un facteur d'acquisition d'EBLSE. Nous rejoignons l'étude de Birgy *et al.*, 2012, qui ont rapporté que l'antibiothérapie antérieure (C3G) était un facteur de risque d'acquisition d'EBLSE chez des enfants consultants dans des cabinets de pédiatrie en France.

Pour cette raison majeure, la prescription d'antibiotique doit rester toujours rationnelle, pragmatique et surtout justifiée et arrêter toute prescription anarchique et parfois défiant toute règle déontologique sachant la facilité d'acquisition des antibiotiques au niveau de certaines pharmacies parfois sans prescription médicale.

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

La flore digestive est le principal réservoir d'entérobactéries. Dans les infections communautaires à EBLSE, un portage digestif associé est retrouvé dans la plupart des cas. L'estimation du portage digestif d'EBLSE permet d'apprécier leur diffusion dans la population, en dehors de tout contexte infectieux et ainsi de limiter leur diffusion dans la communauté.

Au terme de cette étude, nous avons effectué 150 prélèvements par écouvillonnage rectal chez des enfants consultants dans les cabinets de pédiatrie en ville et ceux admis dans les services de pédiatrie de l'hôpital d'Amizour et de l'hôpital Khelil Amrane. La population étudiée présente un sex-ratio de 1,03 (76(M)/74(F)).

118 bacilles à Gram négatif dont 100 souches d'entérobactéries, 17 souches de *Pseudomonas aeruginosa* et 1 souche d'*Acinetobacter baumannii* sont isolées.

Les résultats d'identification ont montré une prédominance de *Klebsiella sp* (28) suivi d'*Enterobacter sp* (27) et d'*E. coli* (24).

Concernant la résistance de ces souches, nous avons enregistré un taux de 88,98% de résistance vis à vis des C3G (CTX et/ou CAZ). La résistance à l'imipénème est notée chez deux souches (*Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*).

Le test de synergie a montré que 49 souches sont productrices de BLSE. Les phénotypes de résistance les plus couramment observés sont BLSE type CTX-M au niveau des cabinets de pédiatrie (14/52) et BLSE autres que CTX-M (15/66) au niveau des hôpitaux. Des CMI élevées de ces souches ont été notées vis-à-vis de la céftazidime (CAZ).

Le test de Hodge modifié a révélé la production de céphalosporinases plasmidiques chez 19 souches.

Des résistances associées pour les autres familles d'antibiotiques ont été enregistrées : l'acide nalidixique, ciprofloxacine, triméthoprime, Tobramycine. Par contre, aucune résistance n'a été enregistrée pour l'amikacine.

Chez les souches résistantes à la ciprofloxacine, la production probable de l'enzyme AAC(6)'Ib-cr est notée chez 3 souches.

La prévalence de porteurs d'EBLSE est de 32,66%. L'analyse statistique des données concernant le portage des EBLSE est faite selon les critères d'âge, sexe, hospitalisation antérieure, antibiothérapie antérieure, âge gestationnel, mode d'accouchement et mode d'allaitement. Le facteur de risque significatif est essentiellement la prise d'antibiotiques préalable.

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

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

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

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

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

La réalisation de cette étude devrait sensibiliser le personnel soignant à la fréquence accrue de l'antibiorésistance souvent secondaire à des traitements antibiotiques inappropriés. La prescription rationnelle et pragmatique des antibiotiques s'avère indispensable et recommandable.

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.

Bibliographie

- ❖ Adjidé C.C., Biendo M., Rousseau F., Hamdad-Daoudi F., Thomas D., Laurans G., Canarelli B., Obin O., Hénicque M., Schmit J.L. et Eb F. (2006). *Escherichia coli* producteurs de bêtalactamases à spectre étendu : de nouvelles menaces nosocomiales ? Pathologie Biologie. 54 : 510-517.
- ❖ Andremont A. (1995). Ecosystème bactérien du tube digestif Rapports avec le traitement des péritonites. Méd Mal Infect. 25, Spécial : 38-41.
- ❖ Andremont A. (2000). Conséquences de l'antibiothérapie sur l'écosystème intestinal. Éditions scientifiques et médicales Elsevier. Ann Fr AnesthRéanim. 19 : 395-402.
- ❖ Andrianarivelo A., Rafaravavy NE., Rafalimanana C., Andriantahiana TN. et Robinson A. (2010). Profil bactériologique des infections néonatales à l'unité de réanimation néonatale de la Maternité de Befelatanana. Revue d'anesthésie -réanimation et de médecine d'urgence. 2(2) ,1-4.
- ❖ Andriatahina T, Randrianirina F, Hariniana ER. (2010). High prevalence of fecal carriage of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* in a pediatric unit in Madagascar. BMC Infect Dis.10: 204.
- ❖ Arpin C, Dubois V, Maugein J, Jullin J, Dutith B, Brochet P-J, Larribet G, Fischer I, and Quentin C. (2005). Clinical and molecular analysis of extended- spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteria* in the community setting. Journal of Clinical Microbiology. 43: 5048-5054.
- ❖ Barguigua A., El Otman F., Talmi M., Bourjilat F., Haouzane F., Zerouali K. and Timinouni M. (2011). Characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia* isolates from the community in Morocco. Med Microbiol. 60:9 1344-1352
- ❖ Birgy, R. Cohen, C. Levy, P. Bidet, C. Courroux, M. Benani, F. Thollot and E. Bingen. (2012). Community faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in french children. *BMC Infectious Diseases*. 12:315
- ❖ Blaschke A.J., Kent Korgenski E., Daly J.A., LaFleur B., Pavia A.T. et Byington C.L. (2009). Extended-spectrum β -lactamase producing pathogens in a children's hospital : A 5-year experience. American Journal of Infection Control. 37: 435-41.
- ❖ Bonnemaïson 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.
- ❖ Boutet-Dubois A, Pantel A, Sotto A, Lavigne J-P. (2012). les entérobactéries productrices de carbapénémases CHU Carêmeau, Nîmes. Lettre d'information du CCLin Sud-Est. n°2.

- ❖ 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).
- ❖ Campeotto F, Garnier F, Kalach N, Soulaines P, Dupont C, Raymond J. (2004). Acquisition nosocomiale de bactéries multirésistantes dans un service de néonatalogie: étude prospective et analyse des facteurs de risques. ArchPediatr. 11:1314-8.
- ❖ Carle S. (2009). La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. Pharmactuel. 42, 6-21.
- ❖ Carrèr A, Nordmann P. (2009). *Klebsiellapneumoniae* CTX-M-15 : vers une modification de l'épidémiologie des β -lactamases à spectre étendu. Pathologie Biologie. Article in Press.
- ❖ Denis F, Ploy MC, Martin C, Bengen et Quenten R. (2007). Bactériologie médicale : techniques usuelles. Edition : Elsevier Masson ; 70p.
- ❖ Doi Y, Adams-Haduch JM, Shivannavar CT, Paterson DL and Gaddad SM. (2009). Faecal carriage of CTX-M-15-producing *Klebsiellapneumoniae* in patients with acute gastroenteritis. Indian J Med Res. 129 (5):599–602.
- ❖ Ducluzeau R. (1993). Installation, équilibre et rôle de la flore microbienne chez le nouveau-né. Ann Pédiatr. 40:13-22.
- ❖ Emile C. (2010). Faut-il avoir peur des *Escherichia coli* BLSE. Epidémiologie. 433, 12-13.
- ❖ Emori TG, Gaynes RP. (1993). An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin Microbiol Rev. 6(4):428-442.
- ❖ Favier, C. Vaughan, W. M. De Vos & A. D. (2002). Akkermans Molecular monitoring of succession of bacterial communities in human neonates. Appl Environ Microbiol. 68, 219-26.
- ❖ 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.
- ❖ 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.
- ❖ Guillet M, Bille E, Lecuyer H, Taieb F, Masse V, Lanternier F, Lage-Ryke N, Talbi A, Degand N, Lortholary O, Nassif X, Zahar J-R. (2010). Épidémiologie des patients porteurs d'entérobactéries sécrétrices de bêtalactamase à spectre élargi (EBLSE), à l'admission Médecine et maladies infectieuses 40 ;632–636.

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

- ❖ Herindrainy P, Randrianirina F, Ratovoson R, RatsimaHariniana E, Buisson Y, et al. (2011). Rectal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in community settings in Madagascar. *PLoS ONE* 6: e22738.

- ❖ Hodge W., Ciakj., et Tramont EC. (1978). Simple method for detection of penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae*. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY.* 7:102-103.

- ❖ Ho PL, Poon WW, Loke SL, Leung MS, Chow KH, Wong RC, Yip KS, Lai EL, Tsang KW. (2007). Community emergence of CTX-M type extended-spectrum beta-lactamases among urinary *Escherichia coli* from women. *J Antimicrob Chemother.* 60(1):140-144.

- ❖ Ho PL, Shek RHL, Chow KH, Duan RS, Mak CG, Lai EL, Yam WC, Tsang KW et Lai W M. (2005). Detection and characterization of extended-spectrum β -lactamases among bloodstream isolates of *Enterobacter spp.* in Hong Kong, 2000–2002. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 55, 326–332.

- ❖ Iabadene H, Messai Y, Ammari H, Ramdani-Bougoussa N, Lounes S, Bakour R, et al. (2008). Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J Antimicrob Chemother.* 62:133–6.

- ❖ Iabadene H., Messaia Y., Ammarib H., Alouachea S., Verdet C., Bakoura R. and Arlet G. (2009). Prevalence of plasmid-mediated AmpC β -lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. *International Journal of Antimicrobial Agents* 34 : 340–342.

- ❖ Janvier F., Mérens A., Delaune D., Soler C. and Cavallo J.D. (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., M. H. Nicolas, G. Fournier, and A. Philippon. (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.

- ❖ Jeong S.H., Bae I.K., Park K.O., An Y.J., Sohn S.G., Jang S.J., Sung K.H., Yang K.S., Lee K., Young D. et Lee S.H. (2006). Outbreaks of Imipenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Producing Carbapenemases in Korea. *The Journal of Microbiology.* 44 (4):423- 431.

- ❖ Kader, A. A., Kumar, A. & Kamath, K. A. (2007). Fecal carriage of extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. *Infect Control HospEpidemiol* 28, 1114–1116.
- ❖ Kiremitçi Abdurrahman, EnerÇağrıDinleyici, ZeynelAbidinYargıç, Gül Durmaz1, NeslihanTekin, AşkınDerya Aybey1, Mehmet ArifAkşit. (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 (Suppl 2):53-63.
- ❖ Kurt-Azap O, Arslan H, Karaman SO, Togan T. (2007). Risk factors for fecal carriage of extended spectrum beta lactamase producing *Escherischia coli* and *Klebsiella spp.* in community. *Turk J Med Sci.* 37: 31-8.
- ❖ Lo,W.-U., Ho, P.-L., Chow, K.-H., Lai, E. L., Yeung, F. & Chiu, S. S. (2010). Fecal carriage of CTXM type extended-spectrum b-lactamase-producing organisms by children and their household contacts. *J Infect.* 60, 286–292.
- ❖ Lucet JC, Birgand G. (2011). les bacilles à Gram négatif multirésistants : où va-t-on ? *journal des Anti-infectieux.* 13, 122-132.
- ❖ Mansour W., Bouellegue O., Dahmen S., Boujaafar N. (2008). Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux β -lactamines chez des souches d'*Acinetobacterbaumanni* isolées à l'hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie(2005). *Pathologie Biologie.* 56: 116-120.
- ❖ 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.
- ❖ Meradi L., Djahoudi A., Abdi A., Bouchakour M., Perrier Gros Claude J.-D., Timinouni M. (2009). Résistance aux quinolones de types *qnr*, *aac (6')-Ib-cr* chez les entérobactéries. *Pathologie Biologie*; Article in Press.
- ❖ Mesaros N, Van Bambeke F, Glupczynski Y, Vanhoof R, Tulkens PM. (2005). L'efflux des antibiotiques : un mécanisme ubiquitaire conduisant à la résistance. Etat de la question et implications microbiologique et cliniques. *Louvain Médical.* 124, 308-320.
- ❖ Messai Y., Iabadene H., Benhassine T., Alouache S., Tazir M., Gautier V., Arlet G. et Bakour R. (2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum b-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie.* 56 : 319–325.
- ❖ Moissenet D, Salauze B, Clermont O, Bingen E, Arlet G, Denamur E, Merens A, Mitanchez D, Vu-Thien H. (2010). Meningitis caused by *Escherichia coli* producing TEM-52 extended-spectrum beta-lactamase within an extensive outbreak in a neonatal ward: epidemiological investigation and characterization of the strain. *J Clin Microbiol.* 48(7):2459-2463.

- ❖ 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-biologie. 56(7-8):417-23.
- ❖ Nordmann P, Carrer A. (2010). Les carbapénèmases des entérobactéries. Archives de Pédiatrie. 17:S154-S16.

- ❖ Nowrouzian F, Hesselmar B, Saalman R, Strannegard IL, Aberg N, Wold AE, et al. (2003). *Escherichia coli* in infants' intestinal microflora: colonization rate, strain turnover, and virulence genecarriage. *PediatrRes*; 54:8-14.

- ❖ Pallecchi L, Malossi M, Mantella A, Gotuzzo E, Trigoso C, Bartoloni A, Paradisi F, Kronvall G, Rossolini GM. (2004). Detection of CTX-M-type beta-lactamase genes in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy children in Bolivia and Peru.*Antimicrob Agents Chemother*. 48(12):4556-4561.

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

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

- ❖ Philippon A, Arlet G. (2006). Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork, *Ann BiolClin (Paris)*. Jan-Feb;64(1):37-51.

- ❖ Pournaras S., Markogiannakis A., Ikonomidis A., Kondyli L., Bethimouti K., Maniatis A. N., Legakis N. J. and Tsakris A. (2006). Outbreak of multiple clones of imipenem-resistant *Acinetobacterbaumannii* isolates expressing OXA-58 carbapenemase in an intensive care unit. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 57: 557-561.

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

- ❖ Quinn J., DiVincenzo C, and Foster J. (1987). Emergence of resistance to ceftazidime during therapy for *Enterobacter cloacae* infections. *J Infect Dis* 155:942-947.

- ❖ Ramdani-Bouguessa N., Mendonc N., Leita J., Ferreira E., Tazir M. and 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.

- ❖ Reddy P, Malczynski M, Obias A, Reiner S, Jin N, Huang J, Noskin GA, Zembower T. (2007). Screening for extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* among high-risk patients and rates of subsequent bacteremia. *Clin Infect Dis.* 45(7):846-852.
- ❖ Rodriguez-Bano J., Navarro M.D., Romero L., Muniain M.A., Perea E.J., Perez-Cano R., Hernandez J.R. 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. *Clinical Infectious Diseases.* 42: 37-45.
- ❖ 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.
- ❖ 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;20(3):323-34.
- ❖ Stoll BJ et al (2002). Changes in pathogens causing early-onset sepsis in very-low-birth-weight infants. *N Engl J Med.* 347:240-7.
- ❖ Tandé D, Jallot N, Bougoudogo F, Montagnon T, Gouriou S and Sizun J. (2009). Extended spectrum betalactamase- producing *Enterobacteriaceae* in a Malian orphanage. *Emerging Infect Dis.* 15(3):472-474.
- ❖ Tannock GW, Fuller R, Smith SL, Hall MA. (1990). Plasmid profiling of members of the family *Enterobacteriaceae*, *lactobacilli*, and *bifidobacteriata* to study the transmission of bacteria from mother to infant. *J Clin Microbiol.* 28:1225-8.
- ❖ 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.
- ❖ Uri Select™4 (2007), Direct Identification Visibly Reliable, Bio-Rad Laboratories, Clinical Microbiology – Bacteriology, 16364 Rev A 10.
- ❖ Valverde A, Coque TM, Sanchez-Moreno MP, Rollan A, Baquero F, Canton R. (2004). Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol.* 42(10):4769-4775.
- ❖ Valverde A, Grill F, Coque TM, Pintado V, Baquero F, Canton R, Cobo J: High rate of intestinal colonization with extended-spectrum-beta-lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. *J Clin Microbiol.* 46(8):2796-2799.
- ❖ Vinoth J., Shamsadh Begum E., Satish Kumar R and Ramesh S. (2012). Factors Influencing the Composition of the Intestinal Microbiota in Early Infancy *Asian J Pharm Clin Res,* Vol 5, Suppl 4,180-182.

- ❖ Vodovar D, et al. (2012). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. Rev Med Interne.
- ❖ Wachino J, Yamane K, et al. (2011). Practical disk-based method for detection of *Escherichia coli* clinical isolates producing the fluoroquinolone-modifying enzyme AAC(6)-Ib-cr. J. Clin. Microbiol. 49 (6): 2378-9.
- ❖ Woerther PL, Angebault C, Jacquier H, Hugede HC, Janssens AC, Sayadi S, El Mniai A, Armand-Lefevre L, Ruppe E, Barbier F, et al. (2011). Massive increase, spread, and exchange of extended spectrum beta-lactamase-encoding genes among intestinal *Enterobacteriaceae* in hospitalized children with severe acute malnutrition in Niger. Clin Infect Dis, 53(7):677-685.
- ❖ Yong D, Lee K, Yum J H, Shin H B, Rossolini G M, and Chong Y. (2002). Imipenem-EDTA Disk Method for Differentiation of Metallo β -Lactamase-Producing Clinical Isolates of *Pseudomonas spp.* and *Acinetobacter spp.* J ClinMicrobiol.40 (10): 3798–3801.

ANNEXE I

Questionnaire : Cabinets

Code :	Pédiatre :	Motif de consultation :	Date de prélèvement:
Age :		Sexe :	
Poids :	Maladie sous-jacente :	Antécédents chirurgicaux :	Date :
Hospitalisation antérieure : Oui/Non		Date :	Hôpital :
Antibiothérapie en cours: Oui/Non		Date :	ATB administrés :
Antibiothérapie dans les 3 à 12 mois précédents : Oui/Non		Date :	ATB administrés :
*Grossesse à terme: oui/non	*Prématuré : oui/non	Nbre de semaines :	Malformation oui/non
*Type d'accouchement : Voie basse Césarienne	*Allaitement maternel : oui / non	*Poids à la naissance:	

ANNEXE II

Questionnaire : Hôpital

Code :	Hôpital :	Service :	Salle :
Date d'amission :		Motif d'admission :	
Age :	Sexe :	Cathéter : Oui/Non	
Grossesse à terme: oui/non		Prématuré : oui/non	
Nbre de semaines :		Nbre de semaines :	
Type d'accouchement :		Allaitement maternel : oui / non	Poids à la naissance:
Voie basse			
Césarienne			
Jumeaux : oui/non		Malformation oui/non	
Prélèvement admission 1 :		Date de prélèvement 1 :	
Prélèvement 2 une semaine après :		Date de prélèvement 2 :	
Prélèvement 3 Sortie :		Date de prélèvement 3 :	

ANNEXE III

Composition des milieux de culture (pour 1l d'eau distillée, en g/L) (Guiraud, 2003)

Bouillon nutritif :

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

pH : 7,2

Gélose Hektoen :

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

pH : 7.5

GéloseEMB :

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

pH : 7.1

Gélose Mac Conkey :

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

pH : 7,4

Gélose Mueller Hinton :

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

pH :7,4

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 peptonée :

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 -naphthol.....6g

Alcool à 90°100 ml

VPII:

NaOH 4N

Rouge de méthyle (RM) :

Rouge de méthyle0,5 g

Alcool éthylique à 60%100 ml

ANNEXE IV

Tableau I : Diamètres des zones d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2012

Antibiotiques	Abréviation	Charge (μg)	Ø critique (mm)		Concentration critique $\mu\text{g/ml}$	
			S	R	S	R
Amoxicilline/Acide clavulanique	AMC	20/10	≥ 21	< 16	$\leq 4/2$	$> 8/2$
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	≤ 4	> 8
Aztréonam	AT	30	≥ 24	< 21	≤ 4	> 8
Imipénème	IMP	10	≥ 24	< 17	≤ 2	> 8
Ertapénème	ETP	10	≥ 28	< 26	$\leq 0,5$	> 1
Acide nalidixique	NA	30	≥ 20	< 15	≤ 8	> 16
Ciprofloxacine	CIP	5	≥ 25	< 22	$\leq 0,5$	> 1
Amikacine	AMK	30	≥ 17	< 15	≤ 8	> 16
Tobramycine	TOB	10	≥ 18	< 16	≤ 2	≤ 4
Triméthoprime	TR	5	≥ 20	< 16	≤ 4	> 8

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

« Cabinets »

CODE	NIT	LAC	H2S	CIT	VP	URE	IND	MAN	MOB	Espèce
CH01	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CH04	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CH05	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH07(CAZ)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CH08	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH13(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CH13 (CAZ)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH14 (CAZ)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH17 (CTX)	+	+	+	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter freundii</i>
CH17 (CAZ)	+	+	+	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter freundii</i>
CH18(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CH19 (CTX)	+	+	+	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter freundii</i>
CH21 (CTX)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH21 (ZR)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH26 (CTX)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH26 (CAZ)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH28(CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
CH30(CTX)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CH30(CAZ)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CB01	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
CB03 (CAZ)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CB05 (CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CB08 (CAZ)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CB09 (CAZ)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CB10 (CTX)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CB12(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CB13 (CTX)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CS01 (1)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CS01 (2)	+	+	-	+	+	-	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
CS02	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
CS03 (CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CS04 (CTX)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CS05 (CTX)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>

CS08 (CTX)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
CS09 (CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
CS10 (CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Serratia marcescens</i>
CS10(CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
CS11 (ZCN)	+	-	+	+	-	-	-	+/-	+	<i>Proteus sp</i>
CS14 (CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CA01	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
CA04	+	+	-	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
CA05	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CA06(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CA08(ZV)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CA08 (ZO)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
CC02	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

« Hôpital »

CODE	NIT	LAC	H2S	CIT	VP	URE	IND	MAN	MOB	Espèce
P02	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P03	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P04	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
P05	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P07	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
P08	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
P12	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
P14(CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P14(Z1)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
P14(Z2)	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
P15(CTX)	+	+	+	-	-	-	+	-	+	<i>Proteus vulgaris</i>
P15(CAZ)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E.coli</i>
P16(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P19(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P20(CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P21(CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P21(CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P25(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas</i>
P26(CTX)	+	-	+	+	-	+	-	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
P26(CAZ)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>A.baumannii(44°C)</i>
P27(CTX)	+	+	-	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter sp</i>

P28(CTX)	+	+	-	+	-		-	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P28(CAZ)	+	-	+	-	-		-	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
P29(CTX)	+	+	-	+	-		-	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P29(CAZ)	+	+	-	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
P30(CAZ)	+	-	+	-	-		-	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
P32(CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P32(CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P33(CTX)	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
P33(CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P34(CAZ)	+	+	+	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter freundii</i>
P35(CAZ)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P36(CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
P37(CTX)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
P37(CAZ)	+	+	-	+	+		-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
P38(CTX)	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
PK01	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
PK02	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PK03	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
PK06	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
PK07 (X)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
PK08 (X)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
PK09	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
PK12 (Z1)	+	-	+	+	-	-	-	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
PK12 (Z2)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
PK13	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
PK18	+	+	-	+	-	-	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
PK22 (X)	+	+	-	+	+	-	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
PK23 (Z)	+	+	-	+	+	-	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
PK24	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
PK25 (X)	+	+	-	+	-	-	+	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
PK25 (Z)	+	+	-	+	+	+	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>
PK26	-	-	-	+	-	-	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
PK28	+	+	-	+	+	+	-	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
PK29(X)	+	+	-	-	-	-	+	+	+	<i>E. coli</i>
PK30(X)	+	-	+	+	-	-	-	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>
PK30(Z)	+	+	-	+	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella sp</i>
PK31(Z)	+	+	-	+	-	-	-	+	+	<i>Citrobacter sp</i>
PK32	+	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter sp</i>

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

« Cabinets »

Code	Espèce	CTX	CAZ	AMC	synergie	FOX	FEP	IMP	ATM	AN	CIP	TR	AK	TOB
CH01	<i>E. coli</i>	28/S	25/I	15/R	NON	21/I	32/S	24/S	30/S	18/I	30/S	21/S	23/S	26/S
CH04	<i>E. coli</i>	33/S	21/I	16/R	NON	6/R	38/S	24/S	30/S	S	36/S	24/S	28/S	30/S
CH05	<i>Klebsiella sp</i>	32/S	24/I	21/S	OUI	25/S	32/S	26/S	28/S	26/S	29/S	17/I	23/S	26/S
CH07(CAZ)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28/S	24/I	12/R	NON	6/R	32/S	27/S	32/S	9/R	40/S	6/R	34/S	36/S
CH08	<i>Klebsiella sp</i>	34/S	24/I	23/S	OUI	25/S	21/S	29/S	29/S	19/I	30/S	21/S	26/S	28/S
CH13(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24/I	22/I	8/R	NON	6/R	32/S	26/S	30/S	R	38/S	6/R	32/S	34/S
CH13(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	18/R	12/R	20/I	NON	21/I	19/R	24/S	16/R	S	28/S	6/R	24/S	18/S
CH14(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	6/R	6/R	19/I	OUI	25/S	15/R	30/S	16/R	27/S	36/S	23/S	24/S	18/I
CH17(CTX)	<i>Citrobacter freundii</i>	15/R	6/R	14/R	OUI	6/R	32/S	26/S	15/R	24/S	38/S	23/S	26/S	28/S
CH17(CAZ)	<i>Citrobacter freundii</i>	18/R	6/R	21/S	OUI	6/R	31/S	29/S	11/R	30/S	40/S	25/S	23/S	26/S
CH18(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26/S	24/I	6/R	NON	6/R	38/S	26/S	30/S	12/R	38/S	6/R	30/S	32/S
CH19(CTX)	<i>Citrobacter freundii</i>	15/R	6/R	18/I	NON	6/R	38/S	26/S	11/R	23/S	30/S	18/S	25/S	29/S
CH21(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	8/R	6/R	22/S	OUI	21/I	18/R	26/S	17/R	19/I	31/S	6/R	23/S	19/S
CH21(ZR)	<i>Klebsiella sp</i>	9/R	12/R	13/R	OUI	27/S	17/R	31/S	16/R	21/S	25/S	6/R	24/S	20/S
CH26(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	6/R	6/R	13/R	OUI	25/S	15/R	31/S	16/R	21/S	31/S	6/R	26/S	21/S
CH26(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	8/R	6/R	25/S	OUI	25/S	15/R	30/S	16/R	19/I	31/S	6/R	26/S	21/S
CH28(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	10/R	6/R	15/R	OUI	6/R	30/S	27/S	11/R	26/S	26/S	17/S	24/S	30/S
CH30(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	8/R	11/R	13/R	OUI	25/S	18/R	31/S	18/R	23/S	27/S	6/R	23/S	21/S

CH30(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	6/R	8/R	9/R	OUI	24/S	14/R	26/S	14/R	19/I	23/I	6/R	19/S	16/R
CB01	<i>Enterobacter sp</i>	24/I	22/I	6/R	NON	7/R	32/S	25/S	30/S	18/I	32/S	17/S	25/S	30/S
CB03(CAZ)	<i>E. coli</i>	11/R	13/R	14/R	OUI	22/S	15/R	40/S	9/R	6/R	6/R	6/R	22/S	17/I
CB05(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	11/R	8/R	13/R	OUI	21/I	18/R	25/S	19/R	13/R	16/R	6/R	23/S	S
CB08(CAZ)	<i>E. coli</i>	21/R	25/I	10/I	NON	29/S	S	40/S	S	32/S	S	6/R	S	S
CB09(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	11/R	7/R	10/R	OUI	25/S	25/S	28/S	21/R	16/I	18/R	6/R	22/S	8/R
CB10(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	8/R	6/R	16/R	OUI	22/S	18/R	28/S	15/R	22/S	35/S	6/R	24/S	24/R
CB12(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	627/S	21/I	8/R	NON	6/R	36/S	24/S	30/S	7/R	39/S	6/R	26/S	32/S
CB13(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	6/R	6/R	11/R	OUI	21/I	19/R	31/S	6/R	20/S	31/S	6/R	34/S	
CS01(1)	<i>E. coli</i>	24/I	23/I	20/I	NON	28/S	32/S	33/S	28/S		32/S	17/S	25/S	26/S
CS01(2)	<i>Klebsiella sp</i>	I	25/I	S	NON	20/I	32/S	32/S	28/S	S	30/S	18/S	25/S	26/S
CS02	<i>Enterobacter sp</i>	28/S	20/I	15/R	NON	18/I	34/S	24/S	28/S	7/R	34/S	18/S	26/S	26/S
CS03(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	28/S	25/I	13/R	NON	6/R	30/S	28/S	32/S	R	40/S	6/R	32/S	32/S
CS04(CTX)	<i>E. coli</i>	16/R	20/I	19/I	OUI	24/S	23/S	30/S	24/S	24/S	20/R	6/R	24/S	28/S
CS05(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	14/R	12/R	10/R	OUI	23/S	20/I	25/S	19/R	18/I	23/I	6/R	20/S	15/R
CS08(CTX)	<i>E.coli</i>	19/R	18/R	7/R	OUI	20/I	22/S	29/S	27/S	19/I	34/S	6/R	24/S	26/S
CS09(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	23/R	7/R	13/R	NON	7/R	36/S	28/S	26/S	S	43/S	22/S	27/S	30/S
CS10(CTX)	<i>Serratia marcescens</i>	6/R	6/R	18/I	OUI	25/S	16/R	32/S	15/R	20/S	25/S	6/R	22/S	18/S
CS10(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	8/R	7/R	12/R	NON	7/R	23/S	26/S	11/R	S	36/S	20/S	27/S	21/S
CS11(ZCN)	<i>Proteus sp</i>	15/R	6/R	11/R	NON	6/R	32/S	28/S	15/R	26/S	38/S	20/S	23/S	26/S
CS14(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31/S	21/I	17/R	NON	6/R	32/S	31/S	34/S	R	40/S	6/R	30/S	38/S
CA01	<i>Enterobacter sp</i>	34/S	16/R	6/R	NON	6/R	34/S	21/S	29/S	19/I	40/S	20/S	26/S	32/S
CA04	<i>Citrobacter sp</i>	11/R	12/R	6/R	OUI	23/S	22/S	28/S	22/I	25/S	34/S	15/I	20/S	13/R

CA05	<i>E. coli</i>	33/S	25/I	11/R	NON	24/S	30/S	30/S	30/S	S	36/S	6/R	30/S	32/S
CA06(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25/I	24/I	14/R	NON	6/R	32/S	32/S	30/S	R	42/S	6/R	31/S	30/S
CA08(ZO)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10/R	8/R	8/R	OUI	21/I	21/S	35/S	22/I	6/R	10/R	23/S	19/S	20/S
CA08(ZV)	<i>E. coli</i>	19/R	17/R	6/R	NON	6/R	30/S	25/S	30/S	6/R	40/S	6/R	26/S	32/S
CC02	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18/R	19/R	6/R	NON	6/R	30/S	24/S	23/S	6/R	34/S	6/R	30/S	32/S

« Hôpital »

Code	Synergie	CTX	CAZ	AMC	synergie	FOX	FEP	IMP	ATM	AN	CIP	TR	AMK	TOB
P02	<i>Enterobacter sp</i>	30/S	24/I	9/R	NON	6/R	36/S	32/S	32/S	28/S	28/S	19/R	28/S	30/S
P03	<i>Enterobacter sp</i>	6/R	6/R	13/R	NON	19/I	11/R	30/S	12/R	23/S	32/S	11/R	27/S	20/S
P04	<i>E. coli</i>	18/R	24/I	19/I	OUI	26/S	27/S	33/S	31/S	26/S	36/S	21/S	29/S	26/S
P05	<i>Enterobacter sp</i>	33/S	19/R	6/R	NON	6/R	34/S	24/S	30/S		36/S	17/S	25/S	28/S
P07	<i>Klebsiella sp</i>	13/R	11/R	15/R	OUI	24/S	23/S	30/S	18/R	25/S	29/S	6/R	26/S	26/S
P08	<i>Klebsiella sp</i>	31/S	20/I	9/R	NON	23/S	25/S	32/S	24/S	24/S	28/S	10/R	23/S	22/S
P12	<i>E. coli</i>	32/S	25/I	10/R	NON	24/S	36/S	36/S	31/S	24/S	36/S	6/R	30/S	32/S
P14(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	8/R	6/R	15/R	OUI	21/I	18/R	31/S	13/R	24/S	35/S	6/R	25/S	26/S
P14(Z1)	<i>E. coli</i>	R	R	R	OUI	I	R	S	R	R	R	R	S	S
P14(Z2)	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	OUI	I	S	S	R	S	S	R	S	S
P15(CTX)	<i>Proteus vulgaris</i>	23/R	12/R	18/I	+/-	I	38/S	27/S	20/R	6/R	32/S	6/R	26/S	32/S
P15(CAZ)	<i>E. coli</i>	8/R	11/R	17/I	NON	17/I	16/R	34/S	17/R	6/R	6/R	6/R	23/S	28/S
P16(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20/R	19/R	7/R	NON	6/R	32/S	25/S	30/S	6/R	40/S	6/R	22/S	32/S
P19(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	19/R	33/S	12/R	NON	6/R	38/S	32/S	30/S	11/R	40/S	6/R	36/S	28/S
P20(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	33/S	25/I	7/R	NON	6/R	34/S	31/S	29/S	26/S	40/S	22/S	25/S	25/S

P21(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	30/S	21/I	15/R	OUI	6/R	38/S	26/S	28/S	26/S	40/S	19/S	26/S	28/S
P21(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	6/R	6/R	6/R	NON	6/R	30/S	26/S	11/R	26/S	40/S	24/S	27/S	30/S
P25(CTX)	<i>Pseudomonas</i>	22/R	21/I	12/R	NON	6/R	38/S	22/I	36/S	6/R	40/S	6/R	26/S	36/S
P26(CTX)	<i>Proteus mirabilis</i>	24/I	26/R	18/I	OUI	18/R	30/S	30/S	24/S	28/S	40/S	19/S	23/S	30/S
P26(CAZ)	<i>A.baumannii</i>	6/R	6/R	6/R	NON	6/R	17/R	12/R	7/R	6/R	12/R	6/R	25/S	30/S
P27(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	19/R	23/I	6/R	NON	6/R	38/S	26/S	18/R	27/S	40/S	24/S	30/S	30/S
P28(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	14/R	10/R	6/R	NON	6/R	38/S	24/S	20/R		40/S	21/S	25/S	26/S
P28(CAZ)	<i>Proteus mirabilis</i>	16/R	6/R	14/R	OUI	12/R	24/S	24/S	9/R		40/S	19/S	22/S	27/S
P29(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	15/R	11/R	6/R	NON	6/R	38/S	25/S	15/R	26/S	40/S	26/S	24/S	27/S
P29(CAZ)	<i>Citrobacter sp</i>	6/R	6/R	6/R	NON	6/R	28/S	26/S	7/R	25/S	38/S	20/S	22/S	26/S
P30(CAZ)	<i>Proteus mirabilis</i>	7/R	6/R	6/R	NON	6/R	24/S	26/S	17/R	26/S	40/S	21/S	22/S	30/S
P32(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	26/S	20/I	18/I	NON	8/R	28/R	31/S	25/S	19/I	32/S	6/R	23/S	31/S
P32(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	11/R	7/R	7/R	NON	6/R	30/S	29/S	14/R	25/S	40/S	20/S	25/S	30/S
P33(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26/R	22/I	12/R	NON	6/R	32/S	26/S	30/S	7/R	40/S	6/R	25/S	32/S
P33(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	7/R	6/R	15/R	NON	6/R	25/S	30/S	6/R	28/S	40/S	17/S	25/S	30/S
P34(CAZ)	<i>Citrobacter freundii</i>	24/I	12/R	14/R	OUI	6/R	31/S	28/S	19/R	25/S	40/S	24/S	22/S	28/S
P35(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	14/R	6/R	6/R	NON	6/R	38/S	28/S	11/R	26/S	40/S	20/S	22/S	26/S
P36(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	7/R	8/R	6/R	NON	6/R	28/S	26/S	7/R	26/S	40/S	18/S	25/S	29/S
P37(CTX)	<i>E. coli</i>	17/R	19/R	20/I	OUI	25/S	23/S	31/S	22/I	6/R	9/R	6/R	21/S	27/S
P37(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	9/R	6/R	22/S	OUI	6/R	28/S	30/S	6/R	29/S	40/S	23/S	27/S	30/S
P38(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	12/R	6/R	13/R	NON	6/R	32/S	28/S	18/S	28/S	40/S	24/S	24/S	25/S
PK01	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	OUI	R	S	S	R	S	S	I	S	S

PK02	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	I	S	R	NON	R	S	S	S	S	S	R	S	S
PK03	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	OUI	S	S	S	R	S	S	R	S	S
PK06	<i>Enterobacter sp</i>	R	I	R	OUI	R	I	S	R	I	S	R	S	S
PK07(CTX)	<i>E. coli</i>	R	R	R	NON	R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK08(CTX)	<i>E. coli</i>	S	R	S	OUI	S	I	S	R	S	S	R	S	S
PK09(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	NON	R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK12(Z1)	<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	R	NON	R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK12(Z2)	<i>E. coli</i>	R	R	R	OUI	R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK13(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>					R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK18	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	NON	R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK22(CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	NON	R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK23(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R		S	I	S	I	S	S	R	S	S
PK24	<i>E. coli</i>	R	R	R	OUI	S	I	S	R	S	S	R	S	S
PK25(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R	OUI	S	I	S	R	S	S	S	S	S
PK25(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R	OUI	R	I	S	R	S	S	S	S	S
PK26	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S	I	R		R	S	S	S	R	S	R	S	S
PK28(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R		S	R	S	R	I	I (-)	R	S	I
PK29(CTX)	<i>E. coli</i>	S	R	R		R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK30(CTX)	<i>Proteus mirabilis</i>	R	R	R	OUI	S	R	S	R	R	S	R	S	S
PK30(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	R	R	R	OUI	R	S	S	R	S	S	I	S	S
PK31(CAZ)	<i>Citrobacter sp</i>	R	R	R		R	S	S	R	S	S	S	S	S
PK32(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	R	R	R		R	S	S	R	S	S	S	S	S

Tableau IV : Diamètres des zones d'inhibition des souches résistantes aux C3G sur gélose Mueller-Hinton avec et sans cloxacilline

Code	Souche		AMC	CTX	CAZ	FOX	IMP	Synergie
CH01	<i>E. coli</i>	MH	R	S	I	I	S	Absence
		MH+C	S	S	S	S	/	
CH04	<i>E. coli</i>	MH	R (16)	S (33)	I (21)	R (6)	S (22)	Absence
		MH+C	S	S (38)	S (39)	S (32)	/	
CH07(CAZ)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MH	R(12)	S(28)	I(24)	R(6)	S(27)	Absence
		MH+C	R(15)	S(30)	S(37)	R(6)	/	
CH13(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MH	I (22)	R(8)	I(24)	R(6)	26(S)	Absence
		MH+C	R(9)	S(27)	S(30)	R(6)	/	
CH13(CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	MH	I (20)	R(18)	R(12)	I(21)	S(24)	Présence
		MH+C	R(9)	R(16)	R(16)	S(27)	/	
CH18(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MH	R(6)	S(26)	I(24)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	R(6)	I(25)	I(22)	R(6)	/	
CH19(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	MH	I (18)	R(15)	R(6)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	R(17)	S(34)	S(31)	S(26)	/	
CH28(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R (15)	R(10)	R(6)	R(6)	S(27)	Absence
		MH+C	R(14)	S(35)	S(26)	I(21)	/	
CS01(2)	<i>Klebsiella sp</i>	MH	S	I	I (25)	I(20)	S(32)	Absence
		MH+C	S(26)	S(45)	S(40)	S(35)		
CS02	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(15)	S (28)	I (20)	I(18)	S(21)	Absence
		MH+C	R(19)	S(36)	S(31)	S(29)	/	
CS03(CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MH	R(13)	S (28)	I(25)	R(6)	S(28)	Absence
		MH+C	R(10)	I(25)	S(34)	R(6)	/	
CS09(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R (13)	R(23)	R(7)	R(7)	S(28)	Absence
		MH+C	R(10)	S(33)	S(33)	I(20)	/	
CS10(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R (12)	R(8)	R(7)	R(7)	S(26)	Absence
		MH+C	I(18)	S(32)	S(35)	S(30)	/	
CS11(ZCN)	<i>Proteus sp</i>	MH	R(11)	R(15)	R(6)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	R(16)	S(33)	S(30)	S(23)	/	
CS14 (CTX)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MH	R(17)	S(31)	I(21)	R(6)	S(31)	Absence
		MH+C	R(11)	S(27)	S(35)	R(6)	/	
CA01	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(6)	S (34)	R(16)	R(6)	S(24)	Absence
		MH+C	I(18)	S(32)	S(29)	R(9)	/	

CA06(CTX)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R (14)	I (25)	I(24)	R(6)	S(32)	Absence
		MH+C	R(12)	I(24)	S(36)	R(6)	/	
CA08(ZV)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R (6)	R (19)	(17) R	R(6)	S(25)	Absence
		MH+C	R(7)	R(22)	S(28)	R(6)	/	
CB01	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(6)	S(24)	I(22)	R(7)	S(25)	Absence
		MH+C	S(24)	S(40)	S(36)	S(34)	/	
CB12(CTX)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R(8)	S(27)	I(21)	R(6)	S(24)	Absence
		MH+C	R(16)	S(30)	S(36)	R(7)	/	
CC02	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R(6)	R(18)	R(19)	R(6)	S (24)	Absence
		MH+C	R(9)	I(24)	S(35)	R(6)	/	
P02	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(9)	S (30)	I (24)	R(6)	S(32)	Absence
		MH+C	I(18)	S(38)	S(32)	R(11)	/	
P03	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(13)	R(6)	R(6)	I(19)	S(30)	Absence
		MH+C	R(6)	R(7)	R(8)	I(19)	/	
P05	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(6)	S (33)	R(19)	R(6)	S(24)	Absence
		MH+C	R(12)	S(44)	S(45)	R(10)	/	
P15(CAZ)	<i>E.coli</i>	MH	I(17)	R (8)	R(11)	I(17)	S(34)	Présence
		MH+C	I(17)	R(13)	R(19)	I(21)	/	
P16(CTX)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R(7)	R(20)	R(19)	R(6)	S(25)	Absence
		MH+C	R(15)	S(26)	S(36)	R(6)	/	
P19(CTX)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R(12)	R(19)	S(33)	R(6)	S(32)	Absence
		MH+C	R(11)	R(18)	S(27)	R(6)	/	
P20(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(7)	S (33)	I(25)	R(6)	S(31)	Absence
		MH+C	S(22)	S(35)	S(30)	S(23)	/	
P21(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	R(12)	S(27)	I(22)	S(26)	/	
P25(CTX)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R(12)	R(22)	I (21)	R(6)	I(22)	Absence
		MH+C	R(11)	I(25)	S(35)	R(6)	/	
P26(CAZ)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MH	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	R(12)	Absence
		MH+C	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	/	
P27(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	MH	R(6)	R (19)	I (23)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	R(6)	S(30)	S(31)	R(6)	/	
P28(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	MH	R(14)	R(10)	R(6)	R(6)	S(24)	Absence

		MH+C	R(7)	S(29)	S(28)	R(6)	/	
P29(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	MH	R(6)	R (15)	R (11)	R(6)	S(25)	Absence
		MH+C	R(7)	S(30)	S(27)	R(6)	/	
P29(CAZ)	<i>Citrobacter sp</i>	MH	R(6)	R(6)	R(6)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	R(8)	R(22)	I(23)	R(6)	/	
P30(CAZ)	<i>Proteus sp</i>	MH	R(6)	R(7)	R(6)	R(6)	S(24)	Absence
		MH+C	S(22)	S(35)	S(38)	I(21)	/	
P32(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	I (18)	S(26)	I(20)	R(8)	S(31)	Absence
		MH+C	R(10)	S(29)	S(27)	I(16)	/	
P32(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R (7)	R (11)	R(7)	R(6)	S(29)	Absence
		MH+C	S(28)	S(40)	S(38)	S(38)	/	
P33(CTX)	<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	MH	R(12)	R(23)	I(22)	R(6)	S26	Absence
		MH+C	R(11)	S(30)	S(30)	R(6)	/	
P33(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(15)	R(7)	R(6)	R(6)	S(30)	Absence
		MH+C	R(12)	S(30)	S(28)	I(20)	/	
P35(CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(6)	14/R	R(6)	R(6)	S(28)	Absence
		MH+C	R(6)	R(17)	R(9)	R(9)	/	
P36(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R(6)	R(7)	R(8)	R(6)	S(26)	Absence
		MH+C	I(18)	S(35)	S(36)	S(30)	/	
P38(CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R (13)	12/R	R(6)	R(6)	S(28)	Absence
		MH+C	S	S(33)	S	S	/	
P40(CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	MH	I	S	S	R	S	Absence
		MH+C	S(40)	S	S(35)	S(28)	/	
PK06	<i>Enterobacter sp</i>	MH	R	I	R	R	S	Absence
		MH+C	R(7)	R(12)	R(15)	R(7)	/	
PK07(CTX)	<i>E.coli</i>	MH	R	R	R	R	S	Présence
		MH+C	S(30)	S(40)	S(35)	S(34)	/	

MH : **M**ueller-**H**inton.

MH+C : **M**ueller-**H**inton additionnée de Cloxacilline.

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

Code	Espèce	BLSE	CMI
CH13 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	16µg/ml
CH14 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	32µg/ml
CH21 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	+	32µg/ml
CH21 (CAZR)	<i>Klebsiella sp</i>	+	32µg/ml
CH26 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	+	32µg/ml
CH26 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	≥ 64µg/ml
CH30 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	+	32µg/ml
CH30 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	≥ 64µg/ml
CB03 (CAZ)	<i>E. coli</i>	+	> 64µg/ml
CB05 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	32µg/ml
CB09 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	≥ 64µg/ml
CB10 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	+	≤ 8µg/ml
CS05 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	+	> 64µg/ml
CS10 (CTX)	<i>Serratia marcescens</i>	+	≤ 8µg/ml
P03	<i>Enterobacter sp</i>	-	≥ 64µg/ml
P14 (CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	+	> 64µg/ml
P14 (CAZ1)	<i>E. coli</i>	+	≤ 32µg/ml
P15 (CAZ)	<i>E. coli</i>	+	16µg/ml
P27 (CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	-	≥ 64µg/ml
PK01	<i>Enterobacter sp</i>	+	> 64 µg/ml
PK03	<i>Klebsiella sp</i>	+	< 64 µg/ml
PK07 (CTX)	<i>E. coli</i>	-	> 64 µg/ml
PK08 (CTX)	<i>E. coli</i>	+	64 µg/ml
PK09 (CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	-	> 64 µg/ml
PK12 (CAZ1)	<i>Proteus mirabilis</i>	+	> 64µg/ml
PK12 (CAZ2)	<i>E. coli</i>	+	> 64 µg/ml
PK13 (CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	-	> 64 µ g/ml
PK18	<i>Citrobacter sp</i>	-	> 64 µ g/ml
PK22 (CTX)	<i>Klebsiella sp</i>	-	> 64 µ g/ml
PK23 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	> 64 µ g/ml
PK24	<i>E. coli</i>	+	> 64µg/ml
PK25 (CTX)	<i>Citrobacter sp</i>	+	> 64 µ g/ml
PK25 (CAZ)	<i>Enterobacter sp</i>	+	> 64 µ g/ml
PK26	<i>Pseudomonas</i>	-	> 64 µ g/ml
PK28 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	> 64 µ g/ml
PK29 (CTX)	<i>E. coli</i>	+	> 64 µ g/ml
PK30 (CTX)	<i>Proteus mirabilis</i>	+	> 64 µ g/ml
PK30 (CAZ)	<i>Klebsiella sp</i>	+	> 64µg/ml
PK31 (CAZ)	<i>Citrobacter sp</i>	-	> 64 µ g/ml
PK32 (CTX)	<i>Enterobacter sp</i>	-	> 64 µ g/ml

ANNEXE V

Analyses statistiques des données

➤ Antibiothérapie antérieure

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

Antibiothérapie	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
OUI	11	25	36	22,45%
NON	38	26	64	77,55%
Total	49	51	100	

Nous posons H0 l'hypothèse que la répartition des EBLSE selon l'antibiothérapie est la même que celle de la population totale.

Khi ² (Valeur observée)	7,658
Khi ² (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,006
alpha	0,05

La valeur de X² observée sur la table pour ddl=1 est 7.65 qui correspondent à 5% (0,05).

X² critique < X²obs, donc H0 est refusée.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H0 alors qu'elle est vraie est inférieur à 0,05%.

Alors, dans notre étude l'antibiothérapie antérieure est considérée 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	22	28	50	44.90%
Féminin	27	23	50	55.10%
Total	49	51	100	

Nous notons par H_0 l'hypothèse que la répartition des EBLSE selon le sexe est la même que celle de la population totale.

Khi ² (Valeur observée)	1,000
Khi ² (Valeur critique)	3,841
DDL	1
p-value	0,317
alpha	0,05

La valeur de X_2 observée sur la table pour $ddl=1$ est 3,84 qui correspond à 5% (0,05).
 $X_{2obs} < X_2$ critique, donc H_0 est acceptée.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H_0 alors qu'elle est vraie est de 31,72%.

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'âge.

	Souches résistantes	Souches sensibles	Total	Taux de résistance
Nouveau-nés	2	3	5	4.08%
Nourrissons	40	41	81	81.63%
Enfants	7	7	14	14.29%

Nous notons par H_0 l'hypothèse que la répartition des EB-BLSE selon l'âge est la même que celle de la population totale.

Khi ² (Valeur observée)	0,172
Khi ² (Valeur critique)	5,991
DDL	2
p-value	0,917
alpha	0,05

La valeur de X_2 observée sur la table pour $ddl=2$ est 0.172 qui correspond à 5% (0,05).

$X_2 \text{ obs} < X_2 \text{ critique}$, donc H_0 est acceptée.

Le risque de rejeter l'hypothèse nulle H_0 alors qu'elle est vraie est de 91,74%.

Test exact de Fisher :

p-value (bilatérale)	0,949
alpha	0,05

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

ANNEXE VI

Etude statistiques des EBLSE selon d'autres facteurs

➤ Hospitalisation antérieure

Hospitalisation antérieure	Souches « R »	Souches « S »	Taux de R	Khi2
OUI	6	2	12,24%	valeur observée =2.35
NON	43	49	87,76%	valeur critique =3.84
				p-value=0.125

La p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$

Le risque du rejet de l'hypothèse nulle H_0 est de 12,51%.

Test exact de Fisher :

p-value (bilatérale)	0,156
Alpha	0,05

➤ Mode d'accouchement

Accouchement	Souches résistantes	Souches sensibles	Taux de résistance	Khi2
Voie basse	36	44	73,47%	valeur observée =2.561
Césarienne	13	7	26,57%	valeur critique =3,841
				p-value=0,110

La p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$

Le risque du rejet de l'hypothèse nulle H_0 est de 10,95%.

➤ Type d'allaitement

	Souches résistances	Souches sensibles	Khi2
Maternel	22	18	valeur observée=4.581
Artificiel	17	10	valeur critique =5,991
			p-value=0,101

La p-value calculée est supérieure au niveau de signification seuil $\alpha=0,05$

Le risque du rejet de l'hypothèse nulle H_0 est 10,12%.

Résumé

But : Le but de cette étude est d'évaluer le portage fécal de bactéries à Gram négatif résistantes aux céphalosporines de troisième génération chez des enfants au niveau de services de pédiatrie de l'hôpital d'Amizour et du CHU de Bejaia et au niveau des cabinets de pédiatrie de Bejaia.

Matériel et méthodes : Des écouvillonnages rectaux sont réalisés chez 150 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, Hodge test modifié et recherche de la production de l'enzyme AAC(6)'Ib-cr). Un modèle logistique est utilisé pour déterminer les associations possibles entre les facteurs de risque et les EBLSE identifiées.

Résultats : Sur 118 souches de bacilles à Gram négatif identifiées, 100 souches d'entérobactéries sont isolées présentant des taux importants de résistance vis-à-vis des C3G avec 49 souches BLSE. L'espèce retrouvée majoritaire est *Klebsiella sp* pour les cabinets et *Enterobacter sp* pour les hôpitaux. Le phénotype le plus probable est BLSE type CTX-M. La résistance associée à d'autres antibiotiques est également enregistrée où aucune résistance n'est observée pour l'amikacine. Le test de l'enzyme AAC(6)'Ib-cr a montré l'association possible sur le même plasmide de deux gènes codant pour les BLSE type CTX-M et la résistance aux quinolones.

Conclusion : La prévalence des porteurs d'EBLSE est de 33%. Le seul facteur de risque d'acquisition d'EBLSE déterminé est l'antibiothérapie préalable.

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

Abstract

Aim: The aim of this study is to evaluate the fecal carriage of Gram-negative bacteria resistant to third generation cephalosporins in children at pediatric wards of the Amizour's hospital and University Hospital Center of Bejaia, and at the Pediatrics offices of Bejaia.

Method: Rectal swabs are conducted with 150 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, modified Hodge test and search the production of AAC(6)'Ib-crenzyme). A logistic model was used to determine possible associations between risk factors and the ESBLE identified.

Results: Of 118 strains of Gram-negative bacilli identified, 100 strains of Enterobacteriaceae are isolated with high rates of resistance were recorded towards C3G with 49 strains (32.67%) producing ESBL. *Klebsiella sp* is the species that is found majority at the Pediatrics offices and *Enterobacter sp* at pediatric wards. 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. The test of the AAC(6)'Ib-cr enzyme showed possible association on the same plasmid in two genes encoding CTX-M ESBL and resistance to quinolones.

Conclusion: The prevalence of carriers of ESBLE is 33%. The only risk factor for acquisition of ESBLE determined is antibiotic therapy.

Key words: fecal carriage, β -lactams, ESBLE, pediatrics, CTX-M.