



Faculté des Science de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Microbiologie Fondamentale

Réf :

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

MASTER

Thème

**Etude de la résistance aux antibiotiques
de bactéries isolées chez l'enfant**

Présenté par :
BOUKHAMAL Lydia
BOUHALLOUF Zohra

Soutenu le : 16 juillet 2022

Devant le jury composé de :

Mr BLHADI Djelleli	MCA	Président
Mme IDRES Nacera	MCA	Examinatrice
Mme TAFOUKT Rima	MCB	promotrice

Année universitaire : 2020 / 2021

Remerciements

Tout d'abord, nous aimerions remercier Dieu le tout-puissant, de nous avoir donné la force et la patience afin d'accomplir ce modeste travail.

On exprime toute notre gratitude à notre encadrante M^{me} TAFOUKT R pour l'effort fourni, les conseils prodigués, sa patience et son suivi.

Nous adressons nos vifs remerciements aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre Travail, en acceptant de l'examiner.

On adresse également nos vifs remerciements, à DR TIRACH, pour ses orientations avisées, ses conseils éclairés, et surtout pour sa patience et son respect, ainsi à tous le personnel de laboratoire hospitalier d'AKBOU.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de laboratoire de microbiologie en particulier Widad & Iman et les intervenants professionnels responsables de notre formation

Merci

Dédicace



Je dédie ce travail à :

Mes chers parents autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma connaissance, pour leurs sacrifices, leurs soutiens et leurs prières tout au long de mes études, vous étiez toujours à mes côtés pour me consoler. Que dieu le tout puissant vous garde pour nous, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tous maux.

A mes chères sœurs, je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour envers vous, je vous souhaite la réussite dans votre vie et d'être comblé de bonheur.

A mes chères amies wissam, Zina, Lydia.

A toute ma promotion 2021-2022

*A tous mes enseignants de l'université de Targa
ouzemour Bejaïa*

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

Zohra

Dédicaces



Je dédie ce travail

A vous mes chers parents,

A mes sœurs pour qui je souhaite bonheur et réussite.

A toute ma famille, grands comme petits.

A tous mes ami(e)s et tous ceux qui me sont chers.

Lydia

Liste d'abréviations :

- BLSE** : β -lactamases à Spectre Etendu
- EBLSE** : Entérobactéries productrice de BLSE
- EPH** : Etablissement Public Hospitalier
- ECA** : Antigène Commun pour les Entérobactéries
- ATB** : Antibiotique
- MBR** : Bactéries Multi Résistantes
- C2G** : Céphalosporines de 2eme Générations
- C3G** : Céphalosporines de 3eme Générations
- C4G** : Céphalosporines de 4eme Générations
- PLP** : Protéines Liant la Pénicilline
- BGN** : Bactéries à Gramme Négatifs
- LPS** : Lipopolysaccharide
- CPS** : Capsule polysaccharidique
- ECBU** : Examen Cytobactériologique des Urines
- MH** : Mueller Hinton
- CMI** : Concentration minimales inhibitrices
- SB** : Solution d'Antibiotique
- SBD** : Solution d'Antibiotique dilué
- IMP**: Imipénème
- ATM**: Aztrézéonam
- AMC**: Amoxicilline + Acide clavulanique
- CTX** : Céfotaxime
- CAZ**: Céftazidime
- FOX**: Céfoxitine
- ERT**: Ertapénème
- CS**: Celestine
- MEM**: Meropenem
- FEP** : Péfloxacine
- M** : Masculin

F : Féminin

R : Résistant

S : Sensible

IU : Infection Urinaire

EUCAST : Comité Européen sur les Tests de Sensibilité aux Antimicrobiens

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

UFC : Unité formant colonie

EDTA : Ethylenediamine tetra acetic acid.

OMS : organisation mondiale de la santé

VP : Vosges-Proskauer

RM : Rouge de méthyle.

TDA : Tryptophane désaminase

TSI : Triple Sugar Iron.

BMR : Les bactéries multirésistantes

ATCC: American Type Culture Collection.

DD-Test: Double-Disc Test

Liste des tableaux

Tableau 01 : Entérobactéries pathogènes les plus fréquemment rencontrées	04
Tableau 02 : Les grandes familles d'antibiotique	05
Tableau 03 : Mécanisme de résistance à la colistine signalée chez les Enterobacteriaceae en Algérie	14
Tableau 04 : Caractéristiques des souches collectées	17
Tableau 05 : Aspects des colonies sur Chromagar (Chromagar Orientation)	18
Tableau 06 : Tests de la galerie biochimique classique	19
Tableau 07 : Liste des antibiotiques testés et les diamètres d'inhibition édités par le CA-SFM 2013 et CA-SFM EUCAST, 2022.....	21
Tableau 08 : Répartition des souches collectées par laboratoire	26
Tableau 09 : Résultats de l'identification biochimique des souches étudiées	28
Tableau 10 : Résultats d'antibiogramme des souches testées	32
Tableau 11 : Résultats du test CIM modifié	34

Tables des Matières

Liste d'abréviations	
List des figures	
Liste des tableaux	
Introductions	01
Chapitre : Synthèse bibliographique	
I . Généralités sur les entérobactéries	03
I.1. caractères bactériologiques	03
I.2. Caractères cultureux	03
I.3. Pouvoir pathogène	03
II. Antibiotiques et antibiorésistance	04
II.1. Résistance bactérienne aux antibiotiques	06
II .2. Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques	06
II .2.1. Résistance aux β -lactamines	06
II.2.1.1.Résistance non enzymatique	07
II.2.1.2. Résistance enzymatique	07
II .2.2. Résistance à la colistine	10
II.2.2.1.Résistance chromosomique.....	11
II.2.2.2.Résistance plasmidique	12
Chapitre 02 : Matériels et méthodes	
1. Durée et lieu de l'étude	15
2. Prélèvements	15
3. Méthodologie de diagnostic	16
3.1. Milieu hospitalier	16
3.2. Milieu communautaire	17
4. Identification	18
4.1. Milieu chromagar	18
4.2. Galerie biochimique	19
5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	20
6. étude des phénotypes des mécanismes de résistance	22

6.1. Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE)	22
6.2. Recherche de la production de carbapénèmases	22
7. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la colistine (CLSI 2022).....	23
Chapitre 03 : Résultats et discussions	
1. Milieu hospitalier (EPH d'akbou)	25
2. Milieu communautaire	26
2.1. Répartition des souches par espèces	27
• Répartition des souches selon le sexe	29
• Répartitions des souches selon l'âge	30
2.2. Sensibilité des souches aux antibiotiques	31
2.3. Phénotypes de résistance	34
2.3.1. Recherche des BLSE	34
2.3.2. Recherche de la production de carbapénémase	34
2.4. Résultats des CMI à la colistine	35
Conclusion	37
Résumé	
Références	
Annexe	

Ces dernières années, en raison de l'utilisation abusive d'antibiotiques, il y a eu la propagation de la résistance, avec l'apparition de souches multi résistantes(González 2022). Ce problème est en évolution avec des conséquences potentiellement dévastatrices (Doron et Gorbach 2008). Depuis leur découverte, les antibiotiques ont été notre principal moyen de défense; Avec l'émergence du phénomène de résistance, ils risquent de devenir inefficaces et la société pourrait retrouver les conditions qui prévalaient avant (Céline, 2019) .

Les β -Lactamines sont parmi les antibiotiques les plus prescrits en médecine humaine. Toutefois, en raison de leur utilisation massive et souvent inappropriée, la résistance des entérobactéries à ces médicaments a nettement augmentée, notamment car elles ont acquis, par échange de matériel génétique, des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénémases (Céline 2019).

Les entérobactéries productrices de BLSE(EBLSE) peuvent causer aussi bien des infections nosocomiales que des infections communautaires. présentent un risque accru d'échec thérapeutique et sont associées à des hospitalisations prolongées ainsi que des surcoûts liés aux soins (Rodriguez-Villalobos et Struelens 2006).

Une émergence de la résistance aux carbapénèmes est observée ; elle est liée principalement à deux mécanismes(Nordmann, et al, 2012).Le premier associe la production à haut niveau d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou bien d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE) à une diminution de la perméabilité membranaire de la souche bactérienne. Le second mécanisme est directement lié à l'expression de β -lactamases particulières hydrolysant de manière très significative les carbapénèmes, ces enzymes étant de ce fait appelées "carbapénémases"(Poirel et al,2013).Cette résistance aux carbapénèmes par production de carbapénémase représente une étape supplémentaire vers la pan résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries (Poirel, Pitout, et Nordmann 2007) .

Du fait de l'émergence de bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes, la colistine a été réutilisée pour traiter des infections liées à ces germes. Néanmoins, depuis sa réintroduction, la résistance acquise à la colistine chez ces bactéries a émergé et les mécanismes expliquant la résistance à la colistine au sein des entérobactéries sont encore incompris.(Charretier et al. 2018). La réintroduction de la colistine en thérapeutique et son utilisation croissante ont conduit à l'émergence de résistances chez plusieurs espèces d'entérobactéries : *Echrechia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* (Mitra et al. 2020).

Dans le ce contexte, l'objectif de ce travail était d'une part d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées à partir de prélèvements pathologiques d'origine hospitalière et communautaire chez l'enfant, et d'autre part de déterminer les phénotypes de résistance.

Ainsi, nous avons suivi la méthodologie suivante :

- Collecte de souches d'entérobactéries au niveau des laboratoires d'analyse médicale et au niveau de l'hôpital d'Akbou.
- Confirmation de l'identification de ces souches.
- Tests de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme, détermination des CMI de la colistine).
- Etude des phénotypes de résistance aux β -lactamines (DD-test, test CIM)

□. Généralités sur les entérobactéries

Actuellement les entérobactéries sont classées sur la base du séquençage des ARN 5S et 16S dans (Delarras 2014) :

- Domaine : Eubacterie ; -Phylum XII : Proteobacterie ;
- Classe : Cammaproteobacteria ; -Ordre : Enterobacterales ;
- Familles : Enterobacteriaceae.

I.1. caractères bactériologiques :

Les entérobactéries, sauf exceptions ont en commun les caractères suivants (Delarras 2014):

- ✓ Bacilles à Gram négatif ;
- ✓ Mobiles par des cils péritriches ou immobile (*Klebseilla* ; *Shigella* et *Yersinia* à 37C°) ;
- ✓ Oxydase négatif ;
- ✓ Fermente le glucose avec ou sans production de gaz ;
- ✓ Réduit le nitrate en nitrite sauf exception ;
- ✓ Possèdent un antigène commun très spécifique appelé antigène de Kunitz ou ECA (enterobacterial common antigen).

I.2. Caractères cultureux

Les entérobactéries poussent facilement sur les milieux ordinaires en 24 heures à 37°C en aérobie et en anaérobie. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène «type S: smooth ». Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse « type R: rough ». Les Klebsiellles forment des colonies souvent très muqueuses « type M », larges et luisantes. Les Proteus ont tendance à envahir la gélose et à y former un tapis uniforme (Achmour 2012).

I.3. Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des entérobactéries chez l'homme notamment chez les enfants est considérable. Les infections sont soit bien définies et peuvent concerner tous les sujets soit non spécifiques touchant les sujets immunodéprimés (les nourrissons) en particulier ceux qui sont hospitalisés. Dans la majorité des cas, l'origine de l'infection est soit endogène

à partir des flores bactériennes, soit exogène provenant de milieu extérieur. Les entérobactéries sont responsables de nombreuses infections (Avril,2000):

***Les infections communautaires:** il s'agit principalement des infections urinaires majoritairement provoquées par *E. coli*, les intoxications alimentaires provoquées par les *Salmonelles*, et les infections pulmonaires provoquées par *Klebsiella pneumoniae*.

*** Les infections nosocomiales:** sont fréquentes à type d'infections urinaires, des plaies opératoires, d'infections pulmonaires, de septicémies, ainsi que d'autres localisations. En plus des bactéries déjà citées dans les infections communautaires avec un profil de multi résistance on cite: *Enterobacter sp*, *Serratia sp*.

Les infections aux entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (**EBLSE**) constituent un risque infectieux croissant en santé publique et peuvent conduire à des impasses thérapeutiques. Les infections urinaires à (**EBLSE**) sont de plus en plus fréquentes en pédiatrie, en milieu hospitalier comme en milieu communautaire. *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne la plus représentée actuellement dans ces infections (Madhi et Cohen 2016)

Le tableau ci-dessous résume les principales entérobactéries pathogènes

Tableau 1: Entérobactéries pathogènes les plus fréquemment rencontrées(Adjakar,2015) .

Genre	Espèces
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae, K. oxytoca, K. ozaenae,</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae, E. aerogenes, ...</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii, C. koseri, ...</i>
<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis, P. vulgaris, P. penneri, ..</i>
<i>Providencia</i>	<i>P. rettgerii, P. stuartii, P. alcalifaciens, ...</i>
<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i>
<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i>
<i>Salmonella</i>	<i>S. enterica (6 sous types)</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Y. pestis, Y. enterocolitica, Y. pseudotuberculosis</i>

II. Antibiotiques et antibiorésistance

Comme tout être vivant, les bactéries évoluent pour s'adapter aux contraintes environnementales. Parmi ces contraintes, la pression de sélection exercée par les antibiotiques provoque l'émergence de bactéries résistantes, à l'origine d'une situation préoccupante lorsqu'il s'agit de bactéries pathogènes (Dufour et Debarbieux 2017). La résistance aux antibiotiques (**ATB**) chez les bactéries est un problème inquiétant parce que cela signifie que certaines maladies deviennent plus difficiles à traiter. Cela pourrait donc entraîner des complications chez les enfants qui en sont atteints. Les traitements peuvent aussi devenir plus compliqués. (Ahmed et al. 2015)

La résistance aux **ATB** constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. (OMS, 2020)

- **Définition des antibiotiques**

Les antibiotiques sont des médicaments qui agissent soit en empêchant le développement des bactéries (**ATB** bactériostatiques), soit en les tuant (**ATB** bactéricides). Chaque famille d'antibiotiques n'est active que contre une bactérie ou une famille de bactéries spécifiques. Aucun **ATB** n'est efficace contre toutes les bactéries, Ce sont des composés naturels, produits par des microorganismes, semi-synthétiques ou bien chimiques (Overturf 2010).

Le tableau ci-dessous résume les principales familles d'antibiotiques.

Tableau 02: les grandes familles d'antibiotiques

Famille	Antibiotiques
β –Lactamines	Pénicilline : amoxiciline, oxacilline..... Céphalosporines : céfotaxime, céftazidine, céfalexine ; céfépime, céfoxitine....
Aminosides	Amikacine, Gentamicine, Nétilmicine, Streptomycine, Tobramycine
Macrolides	Erythromycine, Spiramycine, Aithromycine
Cyclines	Doxycycline, Minocycline, Métacycline ...
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine, Ofloxacine, Péfloxacine, Lévofloxacine, Norfloxacine
Glycopeptides	Vancomycine, Nelcoplanine,
Nitro-5-imidasolés	Métronidazole
Carbapénème	Imipenème
Polymexine E	Colistine

II.1. Résistance bactérienne aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques des bactéries rencontrées en milieu communautaire ou en milieu hospitalier peut être naturelle ou acquise.

- **Résistance naturelle**

La résistance naturelle est une caractéristique d'une espèce bactérienne, de support habituellement chromosomique qui délimite le spectre d'antibiotique et peut aider à l'identification. La transmission de cette résistance est verticale, de la bactérie vers sa descendance (Brahimi 2013). La résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif se manifeste souvent par des céphalosporinases chromosomiques qui s'expriment soit d'une manière constitutive ou inductible (Pierrot, 2015).

- **Résistance acquise**

On oppose à la résistance naturelle, propriété d'espèce ou de genre, à la résistance acquise qui est une propriété de souche. Cette dernière correspond à la capacité de supporter une concentration d'antibiotique beaucoup plus élevée que celle supportée par les autres souches de la même espèce (Guinoiseau 2010). Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (Pr_A_Lozniewski, 2017).

□.2. Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

Plusieurs classes d'antibiotiques, telles que les β -lactamines, les aminosides et les quinolones, sont utilisées dans le traitement des infections causées par des entérobactéries.

Les entérobactéries ont su développer différents mécanismes de résistance limitant l'activité des antibiotiques. Ces résistances sont liées à une imperméabilité et/ou un efflux de l'antibiotique, à la production d'enzymes inactivatrices (telles que les β -lactamases et les acétyl transférases), à la modification de la cible (telles que les mutations retrouvées dans la région QRDR du gène *gyrA*) ou à la protection de la cible (telle que la protéine Qnr) (Rupée et al, 2015).

□.2.1. Résistance aux β -lactamines:

Les β -lactamines sont les antibiotiques les plus couramment utilisés dans le monde pour traiter les infections bactériennes à cause de leur large spectre d'activité et leur faible toxicité. Ces antibiotiques sont actifs sur des bactéries en phase de croissance et agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse du peptidoglycane) par inactivation des principales enzymes impliquées dans cette synthèse, les PLP (Zenati et al. 2019).

Les β -lactamines ont en commun une structure appelée l'"anneau β -lactame", qui est formé de quatre molécules: trois atomes de carbone et un atome d'azote. Cet anneau

constitue la portion responsable de l'activité de ces molécules (Ayad, 2017).

II.2.1.1. Résistance non enzymatique

***Diminution de la perméabilité**

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux molécules hydrophobes et de masse moléculaire élevée (pénicillines). Des résistances acquises dues à une diminution de perméabilité de la paroi ont été rapportées chez *E.coli*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Enterobacter* suite à une altération quantitative ou qualitative des porines (Ramoul 2013).

*** Hyperproduction de système d'efflux**

L'exportation active est un mécanisme de résistance de certaines bactéries aux antibiotiques grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Chez les bactéries à Gram négatif, les systèmes d'efflux sont souvent des complexes protéiques ternaires avec une pompe transmembranaire, une protéine périplasmique de jonction et une porine de la membrane externe (Yassine, 2011).

***Modification des protéines liant la pénicilline (PLP)**

Les PLP sont des cibles physiologiques des β -lactamines. Chez les entérobactéries, des souches de *Proteus mirabilis* résistantes à l'imipénème ont été observées suite à une perte d'affinité de la PLP 2 et une diminution de la quantité de la PLP. Ce mécanisme de résistance est très rare chez les entérobactéries (Faure 2009).

II.2.1.2. Résistance enzymatique

*** β -lactamases à spectre étendu (BLSE)**

Classiquement, les BLSE sont définies comme des enzymes, appartenant à la classe A ou D de la classification d'Ambler, le support génétique est plasmidique ou chromosomique (Rodriguez-Villalobos et Struelens 2006), capables d'hydrolyser et causer une résistance aux oxymino-céphalosporines (C3G et C4G) et les monobactames, mais pas aux céphamycines (C2G) et aux carbapénèmes. Ces enzymes sont inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam (Peirano et Pitout 2010). Les 4 familles majeures sont représentées par les enzymes de type TEM, SHV, OXA et CTX-M (Gniadkowski 2001; Illiaquer 2010).

*** Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique de classe C:** (céphalosporinase de haut niveau)

Le phénotype de résistance céphalosporinase de haut niveau se traduit par une résistance à l'ensemble des β -lactamines excepté les carbapénèmes (Eyquem, Alouf, et Montagnier 2000). Il peut subsister une activité des céphalosporines à large spectre (céfépime, cefpirome). Il s'agit d'un phénotype retrouvé principalement chez les bactéries possédant naturellement une céphalosporinase *ampC* qui peut être alors sur exprimée (*Enterobacter*

cloacae, *Escherichia coli* et autres entérobactéries du même groupe)(Gueudet et al. 2010).

***carbapénémases**

Les carbapénèmes sont aujourd'hui parmi les traitements de choix des infections sévères dues aux entérobactéries productrices β -actamases à spectre étendu de (BLSE). Mais leur utilisation pourrait être compromise par l'émergence de souches de bactéries résistantes également aux carbapénèmes(Gülmez et al. 2008). Chez les entérobactéries, cette résistance est principalement due à ce mécanismes (Livermore et Woodford 2006)

Les métallo- β -lactamases (VIM, IMP) appartiennent à la classe B d'Ambler, hydrolysent toutes les β -lactamines à l'exception de l'ATM (Overturf, 2010). L'activité de ces enzymes est inhibée par l'addition de chélateur d'ions bivalents. Ce sont des métalloprotéines, chromosomiques ou plasmidiques (Sefraoui ,2015) .

Les oxacillinases constituent un groupe hétérogène. Elles sont caractérisées par une hydrolyse plus rapide de l'oxacilline et de la cloxacilline que de la benzylpénicilline. Les oxacillinases classiques sont inhibées *in vitro* par le chlorure de sodium (Mesli,2014).

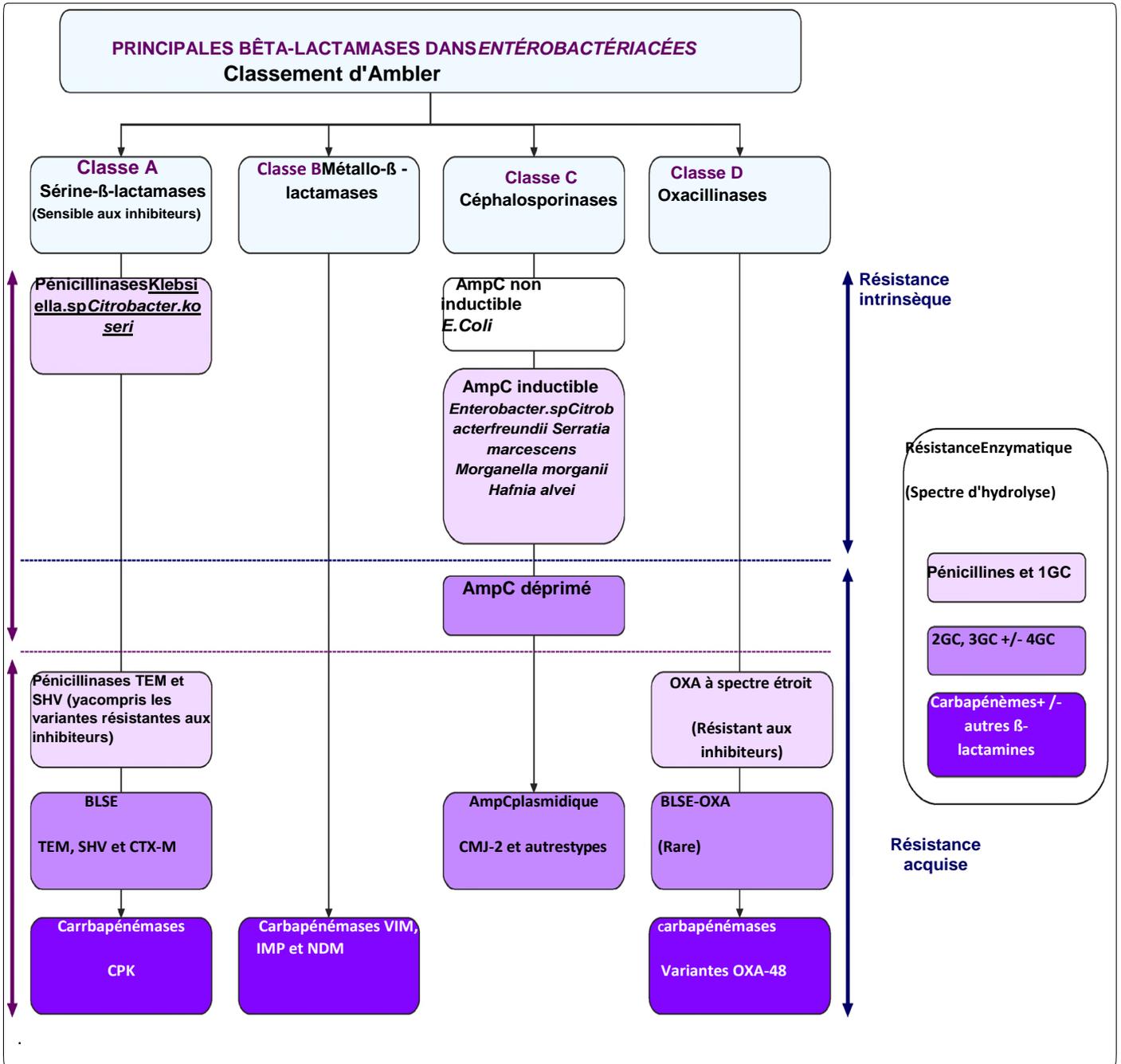


Figure 01 : Bêta-lactamases intrinsèques et acquises chez *Entérobactéries*

□.2.2. Résistance à la colistine

La colistine est un ancien antibiotique découvert en 1940, il a été utilisé pour la première fois en 1950 sous forme de formulation intraveineuse. En 1959, la FDA américaine a approuvé la colistine, comme agent antimicrobien, pour le traitement de divers types d'infections, en raison de son activité bactéricide contre les bactéries à Gram négatif (BGN)(El-Sayed Ahmed et al. 2020). Cependant, l'utilisation clinique de la colistine a été abandonnée dans les années 1970, principalement, en raison des effets néphrotoxiques et neurotoxiques sur l'homme (Grégoire et al. 2017) dus à l'utilisation de doses élevées (Mitra et al. 2020).

La colistine, également appelée polymyxine E, appartient au groupe des antibiotiques polymyxines (Ordooei javan et al, 215). Les polymyxines sont des antibiotiques naturellement produits par différentes espèces de *Paenibacillus polymyxa*. Cinq classes chimiques (A, B, C, D et E) sont décrites, mais seuls deux composés sont utilisés en thérapeutique : la polymyxine B et la polymyxine E(Dortet et al. 2016). *Paenibacillus polymyxa* (anciennement connu sous le nom de *Bacillus polymyxa*) est une rhizobactérie qui favorise la croissance des plantes (PGPR). C'est une bactérie à Gram positif, aérobie, en forme de bâtonnets et formant des endospores(Kim et al, 2016).

La colistine est actuellement considérés comme une défense de dernière ligne contre les "super-bactéries" à Gram négatif problématiques, notamment les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Tran et al. 2016). Bien que la colistine soit un médicament de réserve pour les infections à GNB, elle est désormais de plus en plus utilisée comme antibiotique autonome pour le traitement des infections MDR-GNB résistantes aux antibiotiques de première ligne, à la fois dans les infections systémiques et oculaires (Mitra et al. 2020).

C'est un antibiotique bactéricide (Mass 2018). Les lipopolysaccharide (LPS) situés au niveau de la membrane externe des bactéries à Gram négatif constituent la cible principale de la colistine (Newton-Foot et al. 2017). La plupart des recherches sur les mécanismes d'action des polymyxines ont été réalisées avec la polymyxine B, mais les similitudes entre les structures chimiques de la polymyxine B et de la colistine laissent penser que leurs mécanismes d'action sont identiques(Grégoire et al. 2017). Cependant, les mécanismes d'action des polymyxines ne sont pas totalement clairs, la plupart des recherches évoquent trois mécanismes, qui se terminent tous par la mort de la bactérie(sabins et al ,2020):

*Lyse des membranes bactériennes (voie principale).

*Contact vésicule-vésicule.

*Formation de radicaux libres.

L'activité de la colistine est observée chez la majorité des espèces d'entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*, *Salmonella spp*, *Shigella spp* et *Yersinia pseudotuberculosis*) (Jayol, 2018), et la plupart des BGN aérobies (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*). Il est connu pour sa propriété bactéricide concentration dépendante (Mass, 2018). Certaines espèces comme *Hafnia spp*, *Proteus spp*, *Providencia spp.*, *Morganella spp.* et *Serratia spp* sont naturellement résistantes à la colistine (Jayol 2018).

La résistance naturelle de *Proteus mirabilis* et de *Serratia marcescens* est due à l'ajout de groupes cationiques (groupes phosphoéthanolamine et/ou 4— amino -4 — désoxy-L- arabinose) sur le lipide A, ce qui augmente la charge positive du LPS bactérien, en diminuant ainsi, l'affinité des polymyxines, qui sont elles-mêmes cationiques. Cette addition de groupes est liée à l'activation constitutive de l'opéron *pmrHFIJKLM* et du gène *eptB* (Jayol 2018).

Il y a plusieurs études concernant le mode de résistance naturel chez la souche de *E.cloacae* qui est réparti en 13 clusters (I à XIII). Les sous-populations (I, II, IV, VII, IX, X, XI et XII) présentent un phénotype d'hétérorésistance à la colistine (Guérin et al. 2016). Une étude a montré que cette sous-population résistante est génétiquement identique à la sous-population sensible, avec toutefois, des différences dans l'expression des gènes et la modification du lipide A. En outre, la présence de cette sous-population résistante est dépendante de l'histidine kinase *PhoQ*, on parle donc, de l'expression de l'opéron *pmrHFIJKLM* qui est sous régulation du système à deux composantes *PhoP/PhoQ* (*PhoPQ*) (Band et al, 2016).

II.2.2.1. Résistance chromosomique

Les entérobactéries peuvent acquérir de la résistance à la colistine par le biais de plusieurs mécanismes :

- **Modifications du LPS**

La résistance aux polymyxines chez les BGN est principalement due à une modification Post-traditionnelle du LPS. Cette modification tend à empêcher les polymyxines de se lier à la surface de la bactérie et à pénétrer à l'intérieur de la cellule pour exercer leur activité bactéricide. L'expression de la plupart des gènes de la voie de modification des LPS est contrôlée par divers systèmes (jeannot, 2017).

- **Modifications de la capsule polysaccharidique (CPS)**

la CPS agit comme une barrière protectrice (Jayol 2018), ainsi, la bactérie augmente l'expression pour produire plus de CPS en réponse à des agents nocifs tels que les antibiotiques. Les CPS joueraient un rôle direct dans la résistance aux agents antibactériens, en modifiant l'architecture de la membrane externe en limitant ainsi leur interaction avec les antibiotiques (Campos et al. 2004).

- **Implication des porines**

Le changement d'assortiment de protéines dans la membrane externe peut contribuer à la stabilité et à l'intégrité de la paroi cellulaire, et ainsi développer et maintenir la résistance à la colistine (Kádár et al. 2017).

- **Implication des pompes d'efflux**

Ce mécanisme de résistance aux polymyxines a été caractérisé chez *Yersinia*. Il dépend d'un système de pompe d'efflux/anti porteur de potassium formé par les protéines RosA et RosB. Le système RosA/RosB est activé par un changement de température 37 °C, mais il est également induit par la présence des peptides cationiques antimicrobiens, tels que la PxB (Bengoechea et Skurnik 2000).

II.2.2.2. Résistance plasmidique

L'émergence et la dissémination rapide des dix gènes de résistance à la colistine mobile à médiation plasmidique (*mcr-1* à *mcr-10*) ont fait craindre des infections résistantes à la colistine dans le monde entier (Ngbede et al. 2020). La résistance acquise aux polymyxines est de plus en plus signalée, en Algérie, chez les *Enterobacteriaceae* (Nabti et al. 2019). Les gènes *mcr-1*, *mcr-3* et *mcr-8* sont les seuls gènes à médiation plasmidique qui ont été décrits jusqu'à présent en Algérie.

- **Le gène *mcr-1***

Ce gène a déjà été décrit à l'Ouest de l'Algérie chez deux souches cliniques d'*E. coli*, une à Sidi Bel Abbès (Berrazeg et al. 2016) et l'autre à Oran (Yanat et al. 2016). Il a été détecté aussi dans des échantillons provenant d'animaux (Bachiri et al. 2018); (Chabou et al., 2019), de l'eau de mer (Drali et al. 2018) et du fumier (Touati et al., 2019) (**Tableau 03 et Figure 02**).

Très récemment, des analyses moléculaires réalisées sur 215 souches d'*E. coli* ont révélé qu'une seule souche (*E. coli* 115) hébergeait le gène *mcr-1* conférant ainsi la résistance à la

colistine. Cette souche a été isolée à partir d'un échantillon d'urine d'un homme âgé de 69 ans et porteur d'une sonde urinaire (Nabti et al. 2020).

- **Le gène *mcr-3***

Touati et al. (2020) ont décrit pour la première fois, en Algérie, la présence du gène de résistance à la colistine *mcr-3* chez des souches d'*E. Coli* isolées à partir du fumier des animaux dans les fermes situées dans la région d'Oran et comme hypothèse, cette équipe de recherche a conclu que le transfert du fumier des animaux vers le sol et l'eau d'irrigation pourrait disséminer un mélange de résistances multiples, constituant une menace inquiétante pour la santé humaine. (**Tableau 3**) (Touati et Mairi 2020).

- **Le gène *mcr-8***

En 2018, un nouveau type d'enzyme phosphoéthanolamine (PEtN) transférase, appelé MCR-8, conférant une résistance à la colistine, a été identifié chez une souche de *K.pneumoniae* isolée en Chine, à partir de la matière fécale de porc (Wang et al. 2018). En Algérie, Nabti et al. (2020) ont développé un test qPCR (PCR en temps réel) ciblant ce nouveau gène. Appliquée sur une collection de BGN isolées au CHU de Sétif, la nouvelle qPCR a permis de décrire la première souche clinique de *K. pneumoniae* portant le gène *mcr-8* (Nabti et al. 2020)

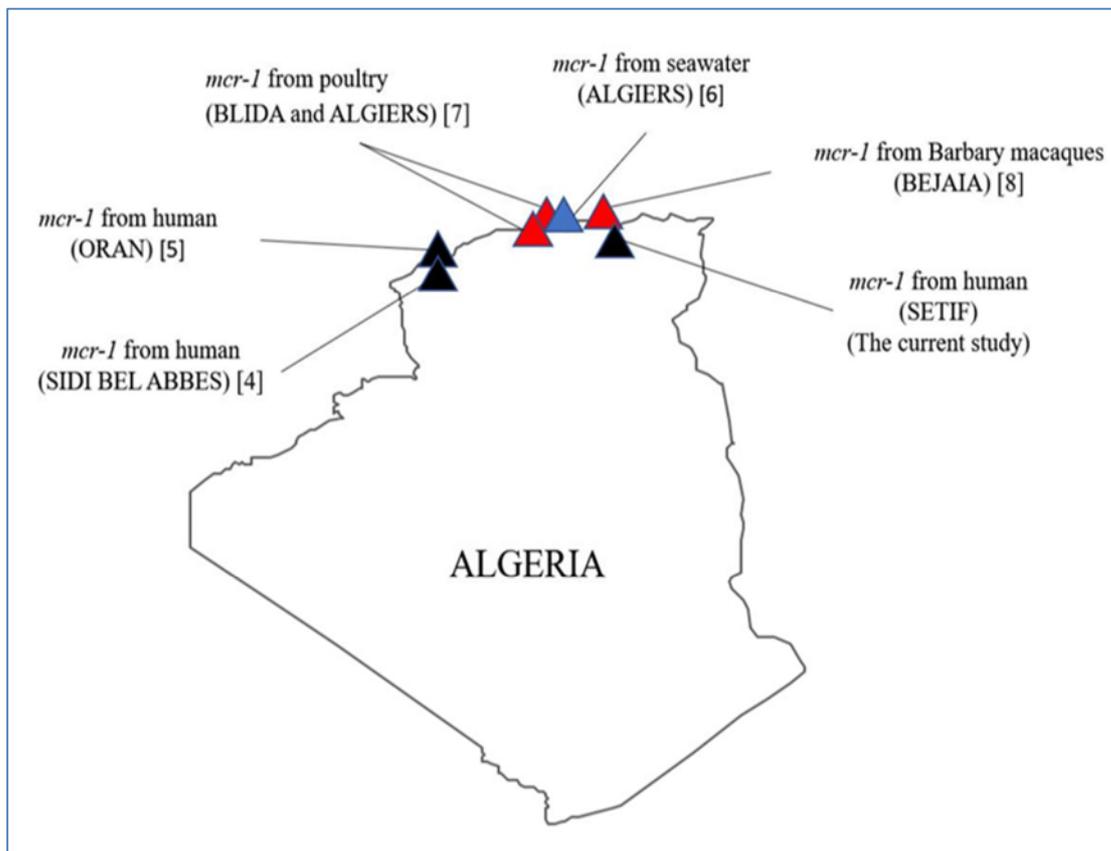


Figure 2: Distribution géographique du gène de résistance à la colistine à médiation plasmidique *mcr-1* isolé chez l'homme, l'animal et dans l'environnement en Algérie Nabti et al., 2020).

Tableau 03: Mécanismes de résistance à la colistine signalés chez les Enterobacteriaceae en Algérie

Souches/échantillons	Année d'isolement	Ville d'isolement	Hôte	Mécanisme de Résistance	Référence
<i>K. pneumoniae</i>	2016	Annaba	Humain	<i>S903B et pmrA et pmrB ; pmrA et pmrB ; PmrB</i>	(Yousfi et al., 2019)
<i>K. pneumoniae</i>	2017	Annaba	Humain	<i>IS10R, pmrB et MgrB</i>	(Belbel et al., 2018)
<i>E. coli</i>	2011	Oran	Humain	<i>mcr-1</i>	(Yanat et al., 2016)
<i>E. coli</i>	2011	Sidi Belabess	Humain	<i>mcr-1</i>	(Berrazeg et al., 2016)
<i>E. coli</i>	2016	Béjaia	Animal (macaques de Barbarie)	<i>mcr-1</i>	(Bachiri et al., 2018)
<i>E. coli</i>	2016	Alger, Blida	Animal (excréments de poulet)	<i>mcr-1</i>	(Chabou et al., 2019)
<i>E. coli</i>	2016	Alger	Environnement (eau de mer)	<i>mcr-1</i>	(Drali et al., 2018)
<i>E. coli</i>	2016 jusqu'à 2018	Oran	Animaux	<i>mcr-3</i>	(Touati et al., 2020)
<i>K. pneumoniae</i>	2020	Sétif	Humain	<i>mcr-8</i>	(Wang et al. 2018)(L. Z. Nabti et al., 2020)

1. Durée et lieu de l'étude

Cette étude a été réalisée durant une période de plus de trois mois allant du 13 Mars au 21 Juin 2022. Elle a pour objectif la caractérisation phénotypique de la résistance aux antibiotiques des souches de bactéries isolées chez l'enfant.

Notre étude a été réalisée en milieu hospitalier, au niveau de l'hôpital «**aklloul Ali**» d'Akbou et en milieu extra-hospitalier (communautaire), au niveau des laboratoires d'analyses médicales privés situés dans la ville de Béjaia. Une partie pratique de ce présent travail a été effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie 2 de l'université A/ MIRA de Béjaia.

2. Prélèvements

Les bactéries ont été isolées à partir de différents prélèvements pathologiques à savoir : l'urine, le pus et la gorge. Au total, 88 échantillons ont été analysés :

- 57 échantillons en milieu hospitalier
- 31 échantillons en milieu communautaire

Les différents échantillons ont été prélevés à partir des enfants de l'âge de 1jour jusqu' à 17ans et de sexe différent.

❖ Les prélèvements reçus des laboratoires sont accompagnés d'une fiche de renseignements qui comporte :

- Nom et prénom.
- Age et sexe.

❖ Les prélèvements effectués au sein de service pédiatrique de l'EPH d'Akbou sont accompagnés d'une demande d'analyse comprenant les renseignements suivants:

- Nom et prénom du patient.
- Antibiothérapie en cours
- Age et sexe.
- Type de prélèvement.

3. Méthodologie de diagnostic

3.1.milieu hospitalier

- **Examens des urines**

- **Examen macroscopique :**

Les urines sont normalement jaune claires et doivent être limpides. L'émission d'urines troubles suggère une infection urinaire.

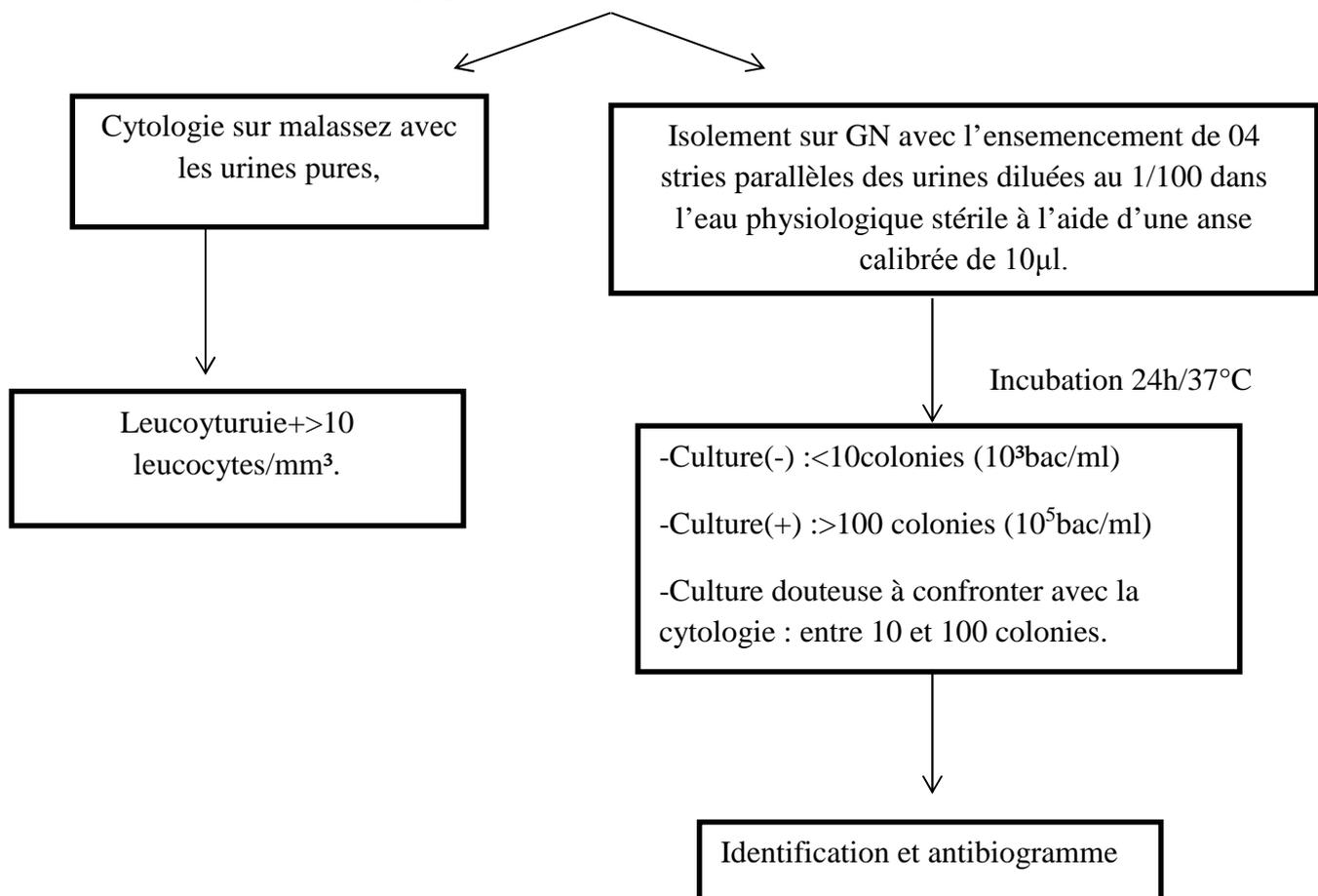
- **Examen de la bandelette urinaire**

C'est un examen de dépistage et d'orientation, qui permet la détection immédiate dans les urines d'une leucocyturie et de nitrite (témoins de l'infection) (figure 03)



Figure 03 : Bandelettes réactives urinaires

- **Examen bactériologique (ECBU)**



- **Examens de gorge**

Il comprend un examen cytologique, un examen microscopique après coloration et un examen bactériologique sur culture (recherche de bactéries et de champignons).

L'examen cytologique consiste à étudier, à l'aide du microscope, les cellules (globules blancs et globules rouge) présents au sein de la gorge.

L'examen bactériologique consiste à ensemencer des milieux de culture avec les écouvillons qui ont servi au prélèvement. Ces milieux seront incubés à 37°C pendant 24 heures.

3.2. Milieu communautaire

Les souches ont été collectées de six laboratoires privés, les dates de prélèvement sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 04: Caractéristiques des souches collectées

laboratoires	Régions	souches	Dates
Dr AFROUNE	EL-kseur	A1	05/04/2022
		A2	13/04/2022
		A3	10/04/2022
		A9 & A10	24/04/2022
		A16 & A17	17/05/2022
		A22	05/06/2022
		A23	26/05/2022
		A27	05/06/2022
		A28	22/05/2022
Dr BEGHTACH	Amizour	B15	05/06/2022
Dr DJAMA	Bejaia	D5	19/04/2022
		D6	21/04/2022
		D12	10/05/2022
Dr KADI	Saidi Aiche	K4	11/04/2022
Dr LALAOUI	Bejaia	L7	22/04/2022
		L8	05/06/2022
		L11	25/04/2022
		L18 & L19	18/05/2022
Dr MOUALEK	Bejaia	M13, M14, M29	16/05/2022
		M20 & M 21	22/05/2022
		M24, M25	31/05/2022
		M26, M30	

4. Identification

L'identification des souches a été confirmée au laboratoire en se basant sur les méthodes conventionnelles à savoir : les caractères cultureux des souches sur les milieux Mac conkey et chromagar mais aussi sur les tests biochimiques classiques.

4.1. Milieu chromagar

C'est un milieu non sélectif servant à l'isolement, à l'identification directe, à la différenciation et à l'énumération des agents pathogènes. Il permet de différencier et d'identifier *Escherichia coli* et *Enterococcus* sans avoir à effectuer de test de confirmation.

Le CHROMagar Orientation Medium, contient des peptones spécialement sélectionnées apportent les substances nutritives nécessaires. Le mélange chromogène se compose de substrats artificiels (chromogènes), qui libèrent des composés de diverses couleurs lors de la dégradation causée par des enzymes microbiennes spécifiques, ce qui permet de différencier directement certaines espèces et de détecter certains groupes de microorganismes avec un nombre limité de tests de confirmation.

Tableau 05 : Aspects des colonies sur Chromagar (Chromagar Orientation) .

Microorganisme	Couleurs de colonies
<i>E-coli</i>	Rose à pourpre
KES-C (<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter</i>)	bleu vert à bleu avec ou sans Violette
<i>P.mirabilis, Morganella, Providencia</i>	beige, cernées d'une auréole ambre à marron
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaques
<i>Enterococcus sp</i>	Petites colonies bleues turquoise

4.2. Galerie biochimique

Le tableau 06 résume les différents tests biochimiques utilisés pour l'identification des souches (La composition des différents milieux utilisés est donnée en annexe (I)

Tableau 06 : Tests de la galerie biochimique classique

Tests	principe	Lecture
Fermentation des sucres, production de gaz et H₂S sur milieu TSI.	Fermentation des sucres, production de gaz et de H ₂ S sur milieu TSI Ensemencement à partir d'une suspension bactérienne de la pente par stries sérées puis le culot par piqure centrale. Incubation à 37 °C/24h.	<ul style="list-style-type: none"> • Virage au jaune du fond de tube : Fermentation de glucose (+) • Virage au jaune de la pente : Fermentation de lactose (+). • Apparition de bulles d'air : Production de gaz. • Noircissement de milieu : Production d'H₂S.
Utilisation de citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate de Simmons.	Ensemencement par stries sérées de la pente. Incubation à 37 °C/24h à 7 jours.	<ul style="list-style-type: none"> • Un virage au bleu indique un test positif.
Utilisation de mannitol comme seul source de carbone sur milieu mannitol mobilité.	Ensemencement par piqure centrale. Incubation à 37 °C/24h.	<ul style="list-style-type: none"> • Virage du culot au jaune : Fermentation de mannitol (+)Apparition de bulles d'air : Production de gaz.
Réduction des nitrates sur bouillon nitraté.	Ensemencement du bouillon à partir de la suspension. Incubation à 37 °C/24h.	<ul style="list-style-type: none"> • Après l'ajoute des réactifs NRI et NRII Coloration rouge : nitrate réductase(+). • Nitrate réductase (-), ajouter poudre de zinc Coloration rouge (-), absence de coloration (+).
Production d'indole sur milieu eaux peptonée exempte d'indole.	Ensemencement du milieu. Incubation à 37 °C et 44 °C /24h.	Addition du réactif de Kovacs, l'apparition d'un anneau rouge (+).

Etude du type fermentaire.	Ensemencement du milieu Clark et Lubs avec quelques gouttes de la suspension bactérienne. Incubation à 37°/24h.	On divise le contenu du tube en deux <ul style="list-style-type: none"> • Ajout des réactifs VPI puis VP II dans le premier tube Virage au rouge : VP(+) • Ajout de rouge de méthyle (RM) Coloration rouge : RM (+).
Recherche d'uréase et TDA.	Ensemencement du milieu liquide urée-indole avec quelques gouttes de la suspension bactérienne. Incubation à 37°/24h.	<ul style="list-style-type: none"> • Changement de couleur au rose indique un test positif [uréase (+)]. • Addition du réactif de TDA, (+) Virage au marron : TDA (+).

5. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Les souches purifiées et identifiées ont été testées vis-à-vis d'un ensemble d'antibiotiques. La sensibilité des souches aux antibiotiques est évaluée par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du EUCAST 2022 « European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing »

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

Un écouvillon stérile est imbibé dans la suspension bactérienne, puis essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de décharger le maximum. Ensuite, l'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. L'opération est répétée trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même et passant sur la périphérie de la gélose et les disques d'antibiotiques ont été déposés de manière stérile. Les boîtes sont incubées pendant 24h à 37°C. La liste des d'antibiotiques testés est donnée dans le tableau 07

La souche bactérienne est définie comme sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R), en comparant les différents diamètres d'inhibition à ceux qui sont mentionnés dans L'EUCAST 2022 à l'exception de la céftazidime (30µg) et la céfotaxime (30 µg) dont les charges sont différentes de celles indiquées dans le CASFM-EUCAST, 2022. La lecture a été effectuée selon les recommandations du CA-SFM, 2013.

Tableau 07: Liste des antibiotiques testés et les diamètres d'inhibition édités par le CA-SFM 2013 et CA-SFM EUCAST, 2022.

Antibiotique	Abréviation	Charge de disque (µg)	Marque	Diamètre Critique mm		Famille
				S _≥	R<	
Amoxicilline-Acideclavunamique	AMC	30	Liofilchem S.R.L Roseto Italy	19	19	β-lactamines
Aztréonam	ATM	30	Liofilchem S.R.L Rosto Italy	26	21	
Céfotaxime	CTX	30	Liofilchem S.R.L Roseto Italy	27	23	
Céftazidime	CAZ	30	Bioxam industrie	26	21	
Céfoxitine	FOX	30	Liofilchem S.R.L Rosto Italy	18	18	
Ertapénème	ERT	10	Liofilchem S.R.L Rosto Italy	25	25	
Colistine	CS	30	Bioxam industrie	15	15	

6. étude des phénotypes des mécanismes de résistance

6.1. Recherche de la β -lactamase à spectre étendu (BLSE)

La production d'une BLSE est recherchée par le test de synergie (DD-Test) qui consiste à placer des disques de (CAZ), (CTX), (ATM) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque (AMC) (figure.04). La présence des BLSE s'exprime par l'apparition d'une image de synergie « bouchon de champagne » entre un disque de CTX, CAZ un disque contenant l'acide clavulanique(AMC) (Jarlier et al, 1988).

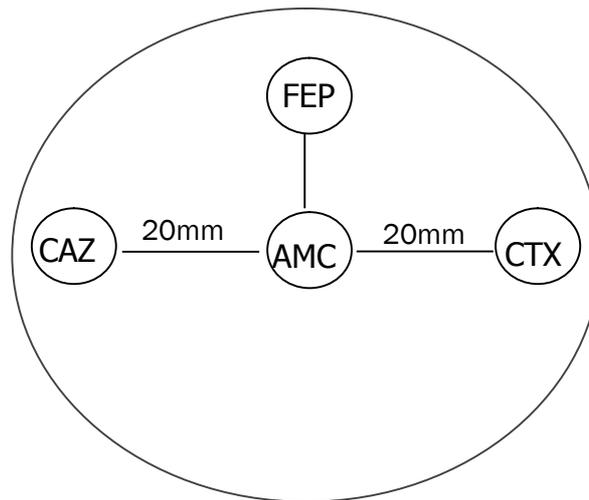


Figure 04 : Disposition des disques d'antibiotiques dans le DD-Test

6.2. Recherche de la production de carbapénémases

La production d'une **carbapénémases** est recherchée par le Test CIM modifié (Carbapenem Inactivation Method). Ce test permet de détecter la production de carbapénémase même à faible activité (exemple OXA-48), on a testé 7 souches résistantes à ERT.

Cette méthode consiste à suspendre une anse de culture bactérienne (*E. coli* ATCC 25922) sensible à tous les antibiotiques utilisée comme témoin négatif, une souche productrice d'une carbapénémase utilisée comme témoin positif et une souche à tester dans des Eppendorfs stériles contenant 500 μ l d'eau physiologique stérile. Par la suite, un disque de méropénème de 10 μ g a été introduit dans la suspension. Les tubes ont été incubés à 37C° pendant 3 h. Après incubation, les disques ont été retirés à l'aide d'une anse de platine et déposés sur une boîte de gélose MH (Muller Hinton) préalablementensemencée par une souche d'*E.coli* (ATCC 25922) (ensemencement par écouvillonnage). L'incubation a été effectuée à 37C° pendant 24 h (figure 05)(van der Zwaluw et al. 2015) .

La lecture se fait par comparaison des zones d'inhibition des souches testées et des témoins utilisés. L'absence d'une zone d'inhibition autour du disque de méropénème du témoin positif (ou présence d'une zone avec un diamètre < 20 mm) indique la présence probable d'une carbapénémase et la présence d'une zone d'inhibition avec un diamètre ≥ 20 mm indique l'absence d'une carbapénémase (van der Zwaluw et al. 2015).

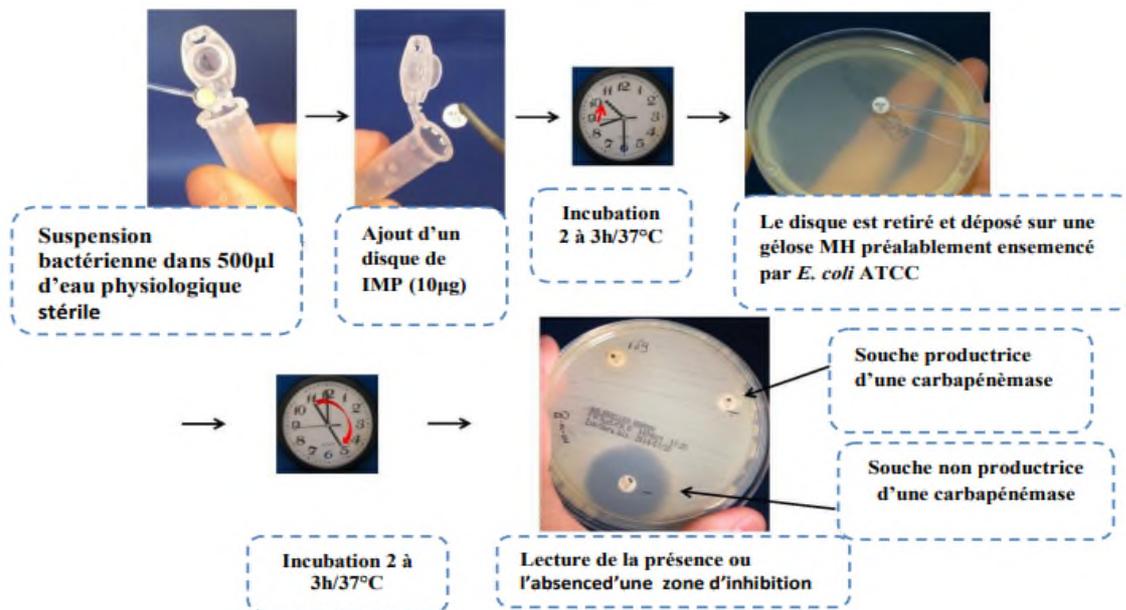


Figure 05 : Test CIM

7. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la colistine (CLSI 2022)

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La CMI de la colistine (Koolmete® 1 million UI) a été effectuée par la méthode de microdilution en milieu liquide.

La méthode de dilutions en milieu liquide est actuellement la seule méthode recommandée par les comités américain (Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI)) et européen (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (www.eucast.org)) pour tester la sensibilité à la colistine.

D'après ces recommandations, la méthode de dilutions en milieu liquide doit être réalisée dans du bouillon Mueller Hinton. La concentration finale bactérienne est de 5.10^5 UFC/mL dans chaque puits

Pour déterminer la CMI d'un antibiotique (colistine), on teste des concentrations croissantes d'antibiotique vis à vis d'un germe.

- **Préparation de la microplaque**

50 μ l du bouillon de Mueller-Hinton (MHB) ont été distribués dans les 96 micro-cupules que contient la microplaque.

- **Dilution**

On a dilué la solution CS de [0,5 mg/ml] à [0,05 mg / ml]. Par la suite, on a rempli les cupules de la microplaque, Une rangée de cupules ne contenant pas d'antibiotique est utilisée comme témoin (T) pour vérifier l'inoculum bactérien, et une rangée ensemencée avec un témoin (*E.coli* ATCC) (sensible à la colistine). Ces dilutions permettent d'obtenir des concentrations décroissantes d'antibiotiques.

- **Ensemencement de la microplaque :**

[2] : 4 μ L (CS) + 46 μ L(BMH) + 50 μ L(SBD)

[4] : 8 μ l(CS) + 42 μ L(BMH) + 50 μ l(SBD)

[8] : 16 μ l (CS) + 34 μ l(BMH) + 50 μ L(SBD)

[16] : 32 μ L(CS) + 18 μ l(BMH) + 50 μ L(SBD)

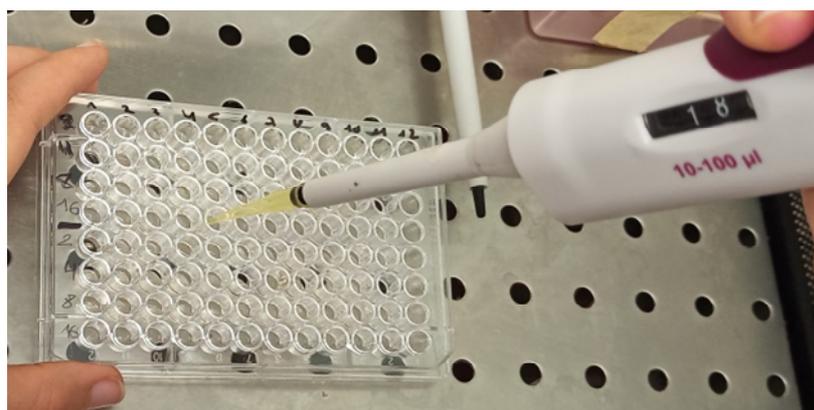
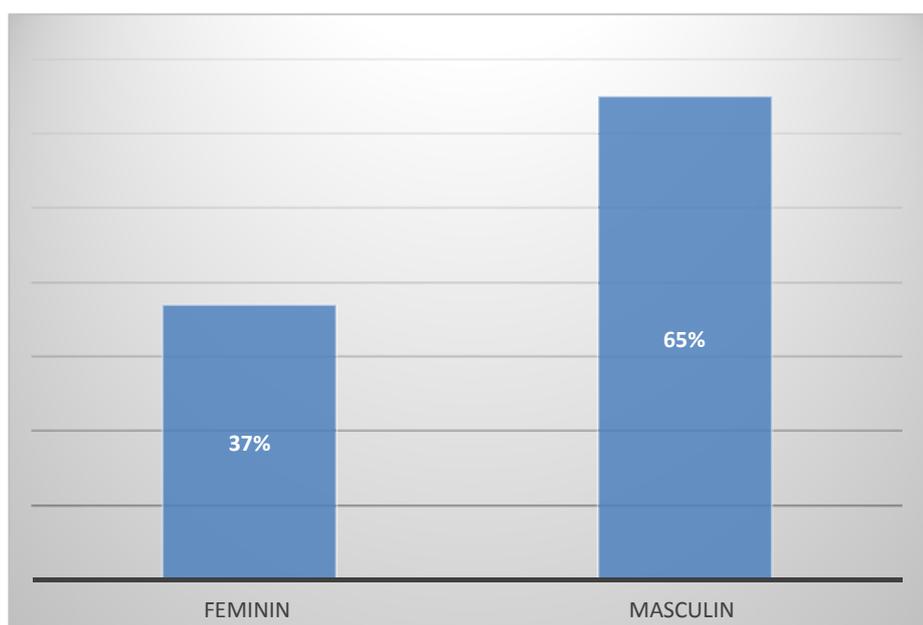


Figure 06 : Ensemencement de la microplaque

Durant la période de notre étude allant du **13/03/2022** au **21/06/2022** nous avons pu étudier 57 cas suspects à l'hôpital d'AKBOU, et collecter 30 souches dans 6 laboratoires privés de la wilaya de Bejaia, impliquées dans des pathologies chez l'enfant.

1. Milieu hospitalier (EPH d'akbou)

- **57** prélèvements analysés de service pédiatrie, dont **56** prélèvements d'urines, et **1** prélèvement de gorge.
- Parmi ces prélèvements, **20** provenaient d'enfants de sexe féminin et **37** de sexe masculin. L'âge des sujets varie de 1 mois à 14 ans. Figure(07)



Figure(07) : Répartition des échantillons selon le sexe.

D'après les résultats obtenus comme indiqué dans la figure(07), les analyses qui ont été effectués sur des prélèvements issus de sujets de sexe masculin sont plus élevées avec un pourcentage de 65%, par rapport à ceux effectués chez les sujets de sexe féminin 35%.

Dans notre étude, aucune souche n'a été isolée de ces prélèvements, alors que plusieurs études (Zahir et al. 2019; Marzouk et al. 2015) réalisées dans des hôpitaux ont rapporté la présence d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques de prélèvements pathologiques d'enfants admis à l'hôpital.

2. Milieu communautaire

Au total nous avons collecté 30 souches des différents laboratoires, comme l'indique le tableau ci-dessous, parmi les 30 souches, on a 28 souches issues de prélèvements urinaires, un de gorge et un de prélèvement de pus.

Tableau (08): Répartition des souches collectées par laboratoire

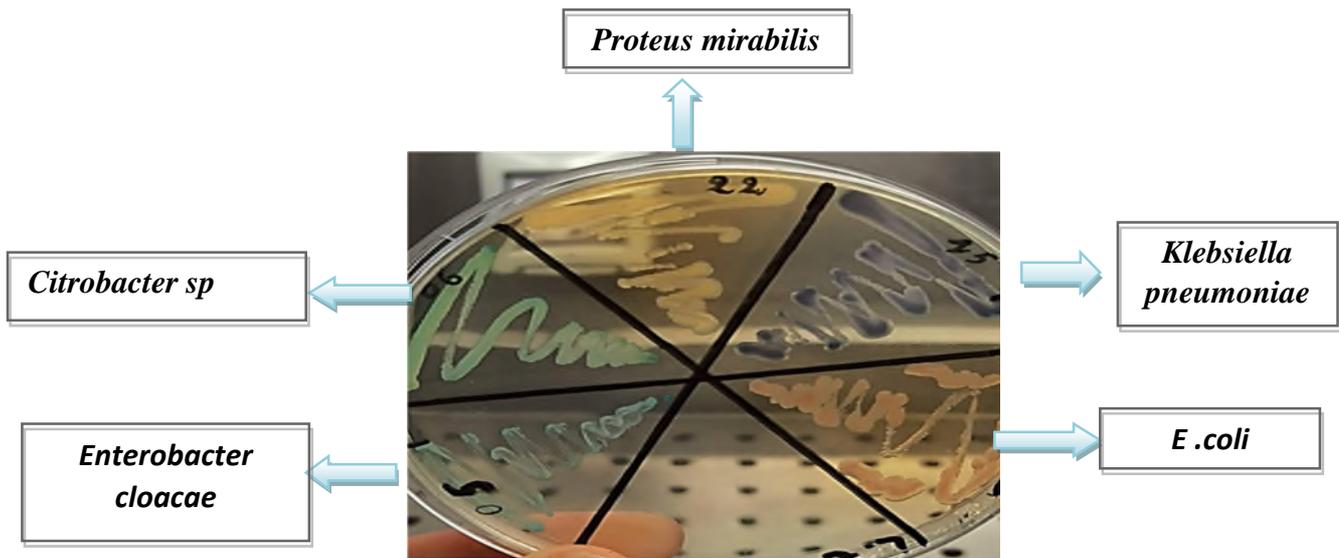
Code de la souche	Laboratoire	Date de récupérations	Type de prélèvements	âge	Sexe
A 1	Dr AFROUNE	05/04/2022	Urinaire	6 j	M
A 2	Dr AFROUNE	13/04/2022	Urinaire	4 ans	F
A 3	Dr AFROUNE	10/04/2022	Urinaire	5 ans	F
K 4	Dr KADI	11/04/2022	Urinaire	11 mois	F
D 5	Dr DJAMA	19/04/2022	Urinaire	20 j	M
D 6	Dr DJAMA	21/04/2022	Urinaire	22 j	M
L 7	Dr LALAOUI	22/04/2022	Urinaire	3 ans	F
L 8	Dr LALAOUI	05/06/2022	Urinaire	11 ans	F
A 9	Dr AFROUNE	24/04/2022	Urinaire	17 mois	F
A 10	Dr AFROUNE	24/04/2022	Urinaire	E	M
L11	Dr LALAOUI	25/04/2022	Urinaire	5 ans	F
D12	Dr DJAMA	10/05/2022	Urinaire	4 ans	F
M13	Dr MOUALEK	16/05/2022	Urinaire	E	M
M14	Dr MOUALEK	16/05/2022	Urinaire	E	F
B15	Dr BEGTACH	05/06/2022	Urinaire	21 j	M
A16	Dr AFROUNE	17/05/2022	Urinaire	5 ans	F
A17	Dr AFROUNE	17/05/2022	Urinaire	7 ans	F
L18	Dr LALAOUI	18/05/2022	Urinaire	3 ans	F
L19	Dr LALAOUI	18/05/2022	Urinaire	5 ans	F
M20	Dr MOUALEK	22/05/2022	Urinaire	15 ans	F
M21	Dr MOUALEK	22/05/2022	Urinaire	8 ans	M

A22	Dr AFROUNE	05/06/2022	Urinaire	10 ans	M
A23	Dr AFROUNE	26/05/2022	Urinaire	3 ans	F
M24	Dr MOUALEK	31/05/2022	Urinaire	2 ans	F
M25	Dr MOUALEK	31/05/2022	Urinaire	10 ans	F
M26	Dr MOUALEK	31/05/2022	Urinaire	E	F
A27	Dr AFROUNE	06/05/2022	Urinaire	4 ans	F
A28	Dr AFROUNE	22/05/2022	Urinaire	10 ans	M
M29	Dr MOUALEK	16/05/2022	gorge	E	M
M30	Dr MOUALEK	31/05/2022	Pus	11 ans	F

2.1. Répartition des souches par espèces

Selon l'identification des laboratoires, les souches sont réparties comme suit : 20 *E. coli*, 3 *Klebsiella*, 2 *Entérobacter*, 1 *Proteus*, 1 *Citrobacter*, 1 *Staphylocoque* et 1 *Streptocoque* et une souche non identifiée. Parmi ces 30 souches collectées, 27 sont des entérobactéries, soit 90 % des souches. Les souches d'entérobactéries sont les plus fréquemment isolées dans les laboratoires de bactériologie. *E. coli* et *Klebsiella spp* étant les espèces qu'on retrouve le plus souvent (Rangaiahagari et al. 2013).

Pour la suite du travail, nous avons confirmé l'identification des souches d'enterobactéries (27) sur chromagare (figure08) et par galerie biochimique.



Figure(08) :image d'un isolement sur Chromagare

Résultats et discussion

Les résultats de l'identification de ces souches selon les caractéristiques biochimiques sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau(9) : Résultats de l'identification biochimique des souches étudiées

code	Tests												Identification		
	CS	MM		EP (indole)		Urée		CI		KIA			BNitraté		
		Manni tol	Mob ilité	à37°	à44°	Urias e	TD A	VP	RM	Glu	Lac	Gaz	NR	Z in c	
A 1	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>klebseilla pneumoniae</i>
A 2	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E.coli</i>
A 3	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
K 4	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>Enterobacter aerogenes</i>
D 5	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>Enterobacter cloacae</i>
D 6	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>Citrobacter sp</i>
L 7	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
L 8	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
A9	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
A 10	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
L11	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
D12	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>E. coli</i>
M13	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(++)	(+)	/	<i>E. coli</i>
M14	(-)	(+)	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
B 15	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>klebseilla pneumonie</i>
A 16	(-)	(+)	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
A 17	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>klebseilla sp</i>
L 18	(-)	(+)	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
L 19	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
M20	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>

M21	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>E. coli</i>
A 22	(-)	(-)	(-)	(++)	(-)	(++)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>Proteus mirabilis</i>
A 23	(-)	(+)	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	/	<i>E. coli</i>
M24	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(++)	(+)	/	<i>E. coli</i>
M25	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
M26	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	/	<i>E. coli</i>
A 27	(-)	(-)	(+/-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	/	<i>E. coli</i>

Les résultats de l'identification sur le chromagar et de la galerie biochimique nous ont orientés vers la répartition suivante :

E.coli est l'espèce la plus retrouvée avec 20 souches, suivie par *Klebsiella* dont 2 *K. pneumoniae* et 1 *K. sp.*, et une souche pour chacune des espèces, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter sp.*, et *Proteus mirabilis*. Ces résultats sont similaires avec ceux rapportés par (Zahir et al, 2019 ;Messai et al, 2007;Nadmi et al, 2010). *Proteus mirabilis* et *Enterobacter sp* sont faiblement isolées. Les mêmes résultats ont été rapportés par (Nijssen et al, 2004).

La prédominance des souches de *E. coli* peut s'expliquer par le fait qu'il existe une forte colonisation de périnée par les entérobactéries d'origine digestive, et en particulier *E. coli*. A cela, s'ajoutent des facteurs spécifiques d'uropathogénicité. Ainsi, *E. coli* possède des adhésines capables de lier la bactérie à l'épithélium urinaire et d'empêcher son élimination par les vidanges vésicales. Les souches de *Klebsiella sp* et de *Proteus sp* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le PH naturellement acide empêche la prolifération des germes (Larabi et al., 2003; Sekhsokh et al., 2008).

- **Répartition des souches selon le sexe**

Les 27 souches incluses dans l'étude, ont été isolées de prélèvements chez des enfants de sexe différents. 19 souches (70%) d'enfants de sexe féminin et 9 (30%) de sexe masculin.

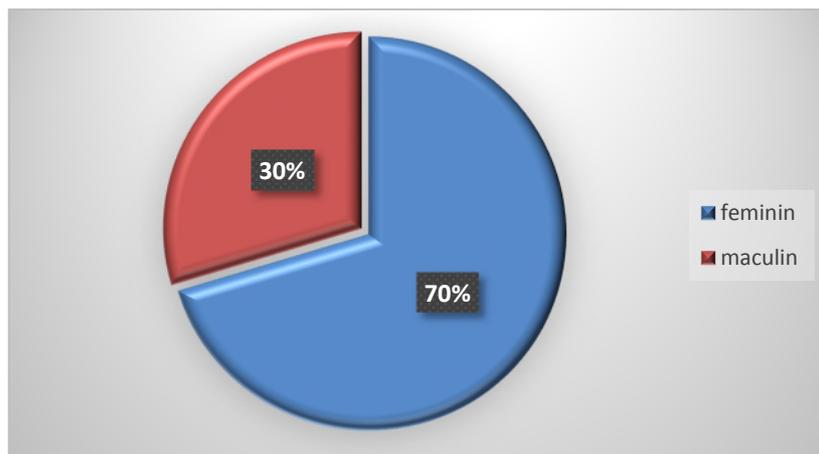


Figure (09) : Répartition des souches selon le sexe

Ces résultats sont concordants avec ceux d'une autre (Zahir et al. 2019), qui rapporte que pour les infections urinaires chez les enfants, les filles sont plus touchées que les garçons et cela est en relation avec des particularités anatomiques.

- **Répartitions des souches selon l'âge :**

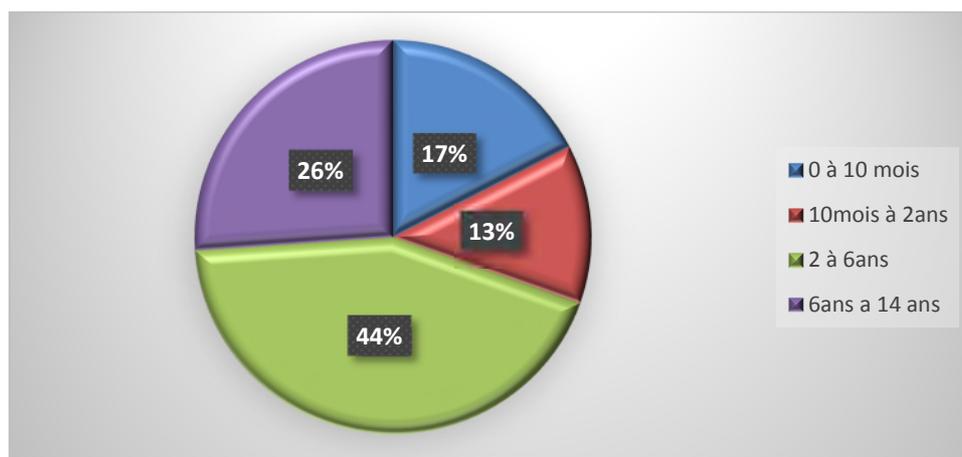


figure (10) : Répartition des souches selon l'âge

Les résultats des prélèvements ont montré que la majorité des patients ont un âge compris entre 2 à 6 ans avec 44%. Alors que la fréquence des enfants âgés de 0 à 10 mois est de 17%, 13% pour la catégorie 10 mois à 2 ans et 26% pour la catégorie 6 à 14 ans.

D'après l'étude de (Zahir et al. 2019) l'infection urinaire à toucher principalement les nourrissons (43%), contrairement à notre étude qui démontre le taux le plus faible chez les nourrissons (13%) et la catégorie d'âge la plus touchée est celle des enfants entre 2 à 6 ans (44%).

2.2. Sensibilité des souches aux antibiotiques

Parmi les 27 souches d'entérobactéries, 3 souches ne présentent aucune résistance aux antibiotiques testés. Les 24 autres souches ont une résistance modérée aux différents antibiotiques testés (Tableau10).

Après l'élimination de souches ayant une résistance naturelle, *Enterobacter cloacae* (R naturelle à la CS et à la FOX) & *Proteus mirabilis* (R naturelle à la CS), les résultats sont illustrés dans la figure suivante.

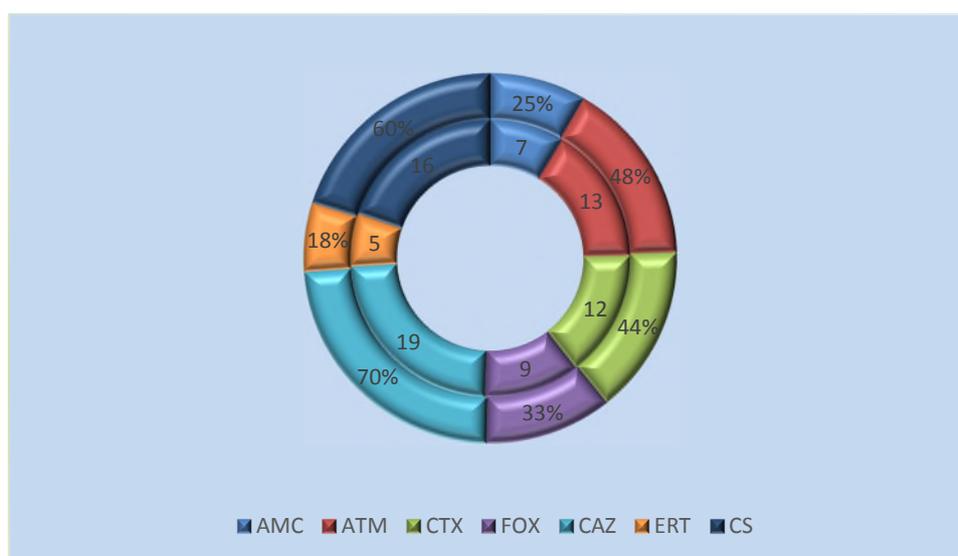


Figure (11) : Profil de résistance des souches aux antibiotiques

La résistance aux C3G des entérobactéries a été observée chez 70 % des isolats pour la CAZ, 44% pour le CTX, et 33% des souches résistent à la FOX (C2G). 60% des entérobactéries testées sont résistantes à la colistine, 48% R à l'ATM, 25% R à l'AMC, et 18% R à l'ERT.

On note d'après ces résultats qu'il y'a une résistance importante aux C3G. Ces résultats sont concordants avec ceux de Zahir et ses collaborateurs ainsi que ceux de Marzouk et al. (Zahir et al. 2019; Marzouk et al. 2015), qui rapportent une évolution inquiétante de la résistance aux C3G chez l'enfant. Les résultats de la résistance à l'association amoxicilline-acide clavulanique est dans 25%, ils sont similaires à ceux de Khazriet al, 2020. L'ertapénème est l'ATB qui s'avère le plus actifs, contrairement à la colistine. L'étude de Marzouk et al, 2015 montres que l'imipénème, la fosfomycine, la colistine et les nitrofuranes sont les antibiotiques qui s'avèrent les plus actifs sur les souches.

Tableau10 : Résultats d'antibiogramme des souches testées

Code	Espèce identifiée		AMC	ATM	CTX	FOX	CAZ	ERT	CS	Image de synergie
A 1	<i>klebsella pneumoniae</i>	diamètres	19	27	27	6	26	26	NT	+
		résultats	I	S	S	R	S	S	/	
A 2	<i>E. coli</i>	diamètres	25	21	15	25	21	NT	15	+
		résultats	S	I	R	S	I	/	R	
A 3	<i>E. coli</i>	diamètres	30	28	30	22	22	30	13	+
		résultats	S	S	S	S	I	S	R	
K 4	<i>Enterobacter aérogènes</i>	diamètres	18	24	22	12	22	25	14	+
		résultats	I	I	I	R	I	I	R	
D 5	<i>Enterobacter cloacae</i>	diamètres	32	6	6	6	6	12	6	-
		résultats	S	R	R	R	R	R	R	
D 6	<i>Citrobacter sp</i>	diamètres	31	16	11	6	28	15	19	+
		résultats	S	R	R	R	S	R	S	
L 7	<i>E. coli</i>	diamètres	/	26	22	23	22	25	13	+
		résultats	/	I	R	S	I	S	R	
L 8	<i>E. coli</i>	diamètres	30	28	28	24	25	29	14	+
		résultats	S	S	S	S	I	S	R	
A 9	<i>E. coli</i>	diamètres	20	25	23	24	20	26	14	+
		résultats	I	I	S	S	R	S	R	
A 10	<i>E. coli</i>	diamètres	20	16	13	21	20	26	23	+
		résultats	I	R	R	I	R	S	S	
A 11	<i>E. coli</i>	diamètres	/	35	33	28	28	34	16	-
		résultats	/	S	S	S	S	S	S	
D 12	<i>E. coli</i>	diamètres	/	30	24	25	25	30	14	+
		résultats	/	S	I	S	I	S	R	
M 13	<i>E. coli</i>	diamètres	20	23	25	20	20	25	14	+
		résultats	I	I	I	I	R	I	R	
M 14	<i>E. coli</i>	diamètres	30	13	6	26	18	28	15	+
		résultats	S	R	R	S	R	S	S	

Résultats et discussion

B 15	<i>klebseilla pneumoniae</i>	diamètres	24	25	20	20	20	22	13	+
		résultats	S	I	R	I	R	R	R	
A 16	<i>E. coli</i>	diamètres	30	20	15	26	20	28	14	+
		résultats	S	I	R	S	R	S	R	
A 17	<i>klebseilla sp</i>	diamètres	20	23	25	20	28	NT	14	+
		résultats	I	I	I	I	S	/	R	
L 18	<i>E. coli</i>	diamètres	44	30	30	26	30	36	17	-
		résultats	S	S	S	S	S	S	S	
L 19	<i>E. coli</i>	diamètres	20	26	23	10	20	29	15	+
		résultats	I	I	I	R	R	S	S	
M 20	<i>E. coli</i>	diamètres	26	28	30	NT	24	28	14	+
		résultats	S	S	S	/	I	S	R	
M 21	<i>E. coli</i>	diamètres	30	34	33	22	25	30	6	-
		résultats	S	S	S	S	I	S	R	
A 22	<i>Proteus mirabilis</i>	diamètres	/	37	37	22	30	33	6	-
		résultats	/	S	S	S	S	S	R	
A 23	<i>E. coli</i>	diamètres	38	28	30	28	25	30	6	-
		Résultats	S	S	S	S	I	S	R	
M 24	<i>E. coli</i>	diamètres	40	28	27	26	26	30	6	-
		résultats	S	S	S	S	I	S	R	
M 25	<i>E. coli</i>	diamètres	40	33	30	26	14	32	15	+
		résultats	S	S	S	S	R	S	S	
M 26	<i>E. coli</i>	diamètres	40	30	28	26	NT	34	15	-
		résultats	S	S	S	S	/	S	S	
A 27	<i>E. coli</i>	diamètres	24	30	30	20	27	28	6	-
		résultats	S	S	S	I	S	S	R	

2.3. Phénotypes de résistance

2.3.1. Recherche des BLSE

Sur les 27 souches d'entérobactéries, 18 présentent une image de synergie soit une prévalence de 66%, indiquant ainsi la production d'une BLSE tableau (10) et figure (12)



Figure (12) : Résultat de test de synergie

Nos résultats sont légèrement plus faibles comparés aux résultats de Khazri et al, qui rapportent que 84% des souches sont productrices de BLSE.

Cette résistance des entérobactéries aux β -lactamine est liée à l'émergence et la diffusion de certains mécanismes de résistance dont le plus important est la production enzymatique de β -lactamases à spectre étendu (BLSE).

2.3.2. Recherche de la production de carbapénémase

le test CIM modifié a été effectué sur 7 souches résistantes à l'imipénème, seule la souche d'*Enterobacter cloacae*(D 5) a présenté un résultat intermédiaire avec un diamètre de 20mm, elle est donc probablement productrice d'une carbapénémase. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure et (tableau 11) ci-dessous



Figure (13) : Résultat du test CIM

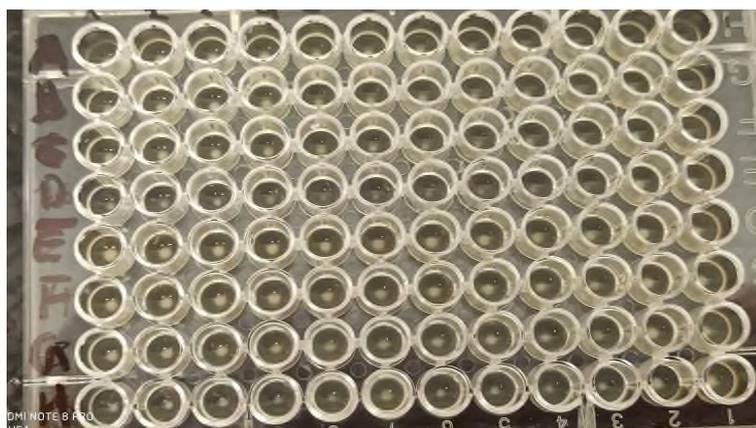
Tableau (11) : Résultats du test CIM modifié

Code de la souche	Résultat
K 4	Négatif
D 5	Intermédiaire
D 6	Négatif
M 13	Négatif
B 15	Négatif
A 17	Négatif
M 26	Négatif

La présente étude a rapporté que 96% des entérobactéries testées ne produisent pas de carbapénèmase contrairement aux études de (Tidrarine,2019; Zahir et al. 2019) qui déclarent que le problème de la résistance bactérienne chez l'enfant se pose principalement chez les entérobactéries avec l'émergence des souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmese.

2.4. Résultats des CMI à la colistine

Les résultats de la détermination des CMI à la colistine ont montrés que les 21 souches testés montrent une résistance à la colistine avec une CMI \geq 32 μ g/ml.



Figure(14) : Résultat de la CMI à la Colistine

Les mécanismes de résistance à la colistine peuvent correspondre soit à des mutations chromosomiques des gènes impliqués dans la modification de la charge du LPS (choi et al.,

2015) soit à un mécanisme d'origine plasmidique par production d'une phosphoéthanolamine transférase codée par le gène *mcr-I*.

Deux études ont rapporté la présence de ce gène chez des souches cliniques d'*E. coli* isolées en 2011 à partir de prélèvements de urinaire et de sperme à Sidi Belabess et à Oran respectivement (Berrazeg et al., 2016; Yanat et al., 2016). Le gène *mcr-I* était porté sur un plasmide conjugatif et chez une souche appartenant au groupe clonal ST405 (Yanat et al., 2016). Récemment, des analyses moléculaires réalisées sur 215 souches d'*E. coli* ont révélé qu'une seule souche (*E. coli* 115) hébergeait le gène *mcr-I* conférant ainsi la résistance à la colistine. Cette souche a été isolée à partir d'un échantillon d'urine d'un homme âgé de 69 ans et porteur d'une sonde urinaire (Nabti et al. 2020).

Notre travail est mené dans deux milieux distincts, hospitalier au laboratoire à l'EPH d'AKBOU « AKLOUL Ali », et communautaire dans différents laboratoires privés de la Wilaya de Bejaia. Dont l'objectif était de déterminer les principaux germes responsables d'infections chez l'enfant, et leurs profils de résistance aux ATB, dans notre région.

Les germes pathogènes impliqués dans la plus part des infections étaient ceux qui appartenait à la famille des entérobactéries, issus des prélèvements urinaire majoritairement. Les résultats de l'antibiogramme et de l'analyse phénotypique des mécanismes de résistances aux ATB des souches testées, ont révélé une résistance remarquable chez l'enfant, essentiellement aux C3G et à la colistine.

Ainsi et afin de prévenir la propagation de la résistance aux antibiotiques au sein de la population et notamment chez les personnes fragiles comme les enfants, Il faudrait encourager le dépistage de la résistance chez les souches d'entérobactéries d'origine humaine et animale mais aussi de l'environnement afin de connaître l'ampleur réelle d'un problème qui pourrait s'aggraver en raison de l'échange constant de gènes de résistance entre microbiote.

Enfin, une attention particulière dans la prise en charge de l'hygiène hospitalière et la prévention de la dissémination de ces germes pathogènes doit être sur le premier plan dans les structures de soin en général. Les praticiens doivent veiller au respect des doses et des durées de l'antibiothérapie, étant donné que l'utilisation excessive d'antibiotiques favorise l'émergence de la résistance des bactéries aux divers agents antimicrobiens traitant les infections, l'utilisation rationnelle des ATB reste la solution la plus importante à appliquer.

Ces résultats restent préliminaires et nécessitent leur élargissement sur une population et une période plus vaste. Cette étude mérite d'être plus approfondie, en la projetant sur plusieurs années afin d'avoir un échantillon plus significatif pour l'étude statistique et complétée par la biologie moléculaire pour la caractérisation des gènes de résistance.

1. González LV. Human Pathogenic Enterobacterales. In: Rezaei N, ed. *Encyclopedia of Infection and Immunity*. Elsevier; 2022:628-636. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818731-9.00160-9>
2. Doron S, Gorbach SL. Bacterial Infections: Overview. Published online 2008:11.
3. Céline P. Antibiotiques et résistance bactérienne : une menace mondiale, des conséquences individuelles. Published online 2019:24.
4. Rodriguez-Villalobos H, Struelens MJ. Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation*. 2006;15(3):205-213. doi:10.1016/j.reaurg.2006.03.006
5. P N, L D, L P. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med*. 2012;18(5). doi:10.1016/j.molmed.2012.03.003
6. Jamal W, Rotimi VO, Albert MJ, Khodakhast F, Nordmann P, Poirel L 2013. High prevalence of VIM-4 and NDM-1 metallo- β -lactamase among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *J Med Microbiol*. 62(8):1239-1244. doi:10.1099/jmm.0.059915-0
7. Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol*. 2007;2(5):501-512. doi:10.2217/17460913.2.5.501
8. Charretier Y, Diene SM, Baud D, et al. Colistin Heteroresistance and Involvement of the PmrAB Regulatory System in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(9):e00788-18. doi:10.1128/AAC.00788-18
9. Mitra S, Basu S, Rath S, Sahu SK. Colistin resistance in Gram-negative ocular infections: prevalence, clinical outcome and antibiotic susceptibility patterns. *Int Ophthalmol*. 2020;40(5):1307-1317. doi:10.1007/s10792-020-01298-4
10. Delarras C. *Pratique En Microbiologie de Laboratoire: Recherche de Bactéries et de Levures-Moisissures*. Lavoisier-Tec & Doc; 2014.
https://books.google.dz/books?id=cmH_oAEACAAJ
11. Achkour Z. *Emergence de La Résistance Aux Carbapénèmes Chez Les Bacilles à Gram Négatif*. PhD Thesis. 2012.
12. Bactériologie clinique - 3e édition entièrement refondue et mise à jour - broché - Dabernat H, J.-L. Avril, Faustine Denis - Achat Livre | fnac. Accessed July 5, 2022.
<https://livre.fnac.com/a884199/Dabernat-H-Bacteriologie-clinique-3e-edition-entierement-refondue-et-mise-a-jour>

13. Madhi F, Cohen R. Infections urinaires à entérobactéries BLSE en pédiatrie : épidémiologie, facteurs de risque et options thérapeutiques. Published online 2016:4.
14. Dufour N, Debarbieux L. La phagothérapie: Une arme crédible face à l'antibiorésistance. *médecine/sciences*. 2017;33(4):410-416. doi:10.1051/medsci/20173304011
15. Ahmed M, Moremi N, Mirambo MM, et al. Multi-resistant gram negative enteric bacteria causing urinary tract infection among malnourished underfives admitted at a tertiary hospital, northwestern, Tanzania. *Ital J Pediatr*. 2015;41(1):44. doi:10.1186/s13052-015-0151-5
16. Résistance aux antibiotiques. Accessed July 13, 2022. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>
17. Overturf GD. Carbapenemases: a brief review for pediatric infectious disease specialists. *Pediatr Infect Dis J*. 2010;29(1):68-70.
18. Pierrot S. Portage de bactéries multirésistantes en structures d'accueil pour personnes âgées: évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque..
19. Guinoiseau E. Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action. Published online 2010:149.
20. Zenati F, Barguigua A, Nayme K, et al. Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13(04):291-302. doi:10.3855/jidc.10702 .
21. Ramoul A. Sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire des bactéries responsables d'infections respiratoires basses [thèse Microbiol]. *Annaba Univ Badji Mokhtar–Annaba*. Published online 2013.
22. Faure S. Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique. Published online 2009:191.
23. Rodriguez-Villalobos H, Struelens MJ. Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. *Réanimation*. 2006;15(3):205-213. doi:10.1016/j.reaurg.2006.03.006.
24. Peirano G, Pitout JDD. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;35(4):316-321. doi:10.1016/j.ijantimicag.2009.11.003
25. Gniadkowski M. Evolution and epidemiology of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7(11):597-608. doi:10.1046/j.1198-743x.2001.00330.x

26. Marina I. *Épidémiologie et caractérisation moléculaire de souches cliniques de Klebsiella pneumoniae résistantes aux céphalosporines de 3ème génération, hors BLSE, isolées entre 2007 et 2009, au C.H.U. de Nantes.* [s.n.]; 2010.
27. Eyquem A, Alouf J, Montagnier L. *Traité de microbiologie clinique: deuxièmes mises à jour et compléments.* PICCIN; 2000.
28. Gueudet T, Richter S, Szulc M, Jehl F. Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de Klebsiella pneumoniae produisant une céphalosporinase plasmidique. *Médecine Mal Infect.* 2010;40(3):177-179.
doi:10.1016/j.medmal.2009.08.004
29. Gülmez D, Woodford N, Palepou MFI, et al. Carbapenem-resistant Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents.* 2008;31(6):523-526.
doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.01.017
30. Livermore DM, Woodford N. The β -lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. *Trends Microbiol.* 2006;14(9):413-420.
doi:10.1016/j.tim.2006.07.008
31. Overturf GD. Carbapenemases: A Brief Review for Pediatric Infectious Disease Specialists. *Pediatr Infect Dis J.* 2010;29(1):68-70.
doi:10.1097/INF.0b013e3181c9c118
32. SEFRAOUI I. *Etude de La Résistance Aux Antibiotiques de Pseudomonas Aeruginosa Au Niveau de Différents Hôpitaux de l'ouest Algérien.* Université de Tlemcen-Abou Bekr Belkaid; 2015.
33. Portail national de signalement des thèses. Accessed July 7, 2022.
<https://www.pnst.cerist.dz/detail.php?id=71400>
34. El-Sayed Ahmed MAEG, Zhong LL, Shen C, Yang Y, Doi Y, Tian GB. Colistin and its role in the Era of antibiotic resistance: an extended review (2000–2019). *Emerg Microbes Infect.* 2020;9(1):868-885. doi:10.1080/22221751.2020.1754133
35. Grégoire N, Aranzana-Climent V, Magréault S, Marchand S, Couet W. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clin Pharmacokinet.* 2017;56(12):1441-1460. doi:10.1007/s40262-017-0561-1
36. Mitra S, Basu S, Rath S, Sahu SK. Colistin resistance in Gram-negative ocular infections: prevalence, clinical outcome and antibiotic susceptibility patterns. *Int Ophthalmol.* 2020;40(5):1307-1317. doi:10.1007/s10792-020-01298-4
37. Dortet L, Bonnin R, Jousset A, Gauthier L, Naas T. Émergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! *J Anti-Infect.* 2016;18(4):139-159. doi:10.1016/j.antinf.2016.09.003

38. Tran TB, Velkov T, Nation RL, et al. Pharmacokinetics/pharmacodynamics of colistin and polymyxin B: are we there yet? *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(6):592-597. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.09.010
39. Newton-Foot M, Snyman Y, Maloba MRB, Whitelaw AC. Plasmid-mediated mcr-1 colistin resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates from the Western Cape region of South Africa. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017;6(1):78. doi:10.1186/s13756-017-0234-8
40. Jayol A. *Résistance à La Colistine Chez Les Bacilles Gram Négatif*. 2018.
41. Guérin F, Isnard C, Sinel C, et al. Cluster-dependent colistin hetero-resistance in *Enterobacter cloacae* complex. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(11):3058-3061. doi:10.1093/jac/dkw260
42. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompарт CM, Albertí S, Bengoechea JA. Capsule Polysaccharide Mediates Bacterial Resistance to Antimicrobial Peptides. *Infect Immun*. 2004;72(12):7107-7114. doi:10.1128/IAI.72.12.7107-7114.2004
43. Kádár B, Kocsis B, Tóth Á, et al. Colistin resistance associated with outer membrane protein change in *Klebsiella pneumoniae* and *Enterobacter asburiae*. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2017;64(2):217-227. doi:10.1556/030.64.2017.017
44. Bengoechea JA, Skurnik M. Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. *Mol Microbiol*. 2000;37(1):67-80. doi:10.1046/j.1365-2958.2000.01956.x
45. Ngbede EO, Poudel A, Kalalah A, et al. Identification of mobile colistin resistance genes (mcr-1.1, mcr-5 and mcr-8.1) in Enterobacteriaceae and *Alcaligenes faecalis* of human and animal origin, Nigeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(3):106108. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.106108
46. Nabti LZ, Sahli F, Hadjadj L, et al. Autochthonous case of mobile colistin resistance gene mcr-1 from a uropathogenic *Escherichia coli* isolate in Sétif Hospital, Algeria. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;19:356-357. doi:10.1016/j.jgar.2019.10.006
47. Berrazeg M, Hadjadj L, Ayad A, Drissi M, Rolain JM. First Detected Human Case in Algeria of *mcr-1* Plasmid-Mediated Colistin Resistance in a 2011 *Escherichia coli* Isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(11):6996-6997. doi:10.1128/AAC.01117-16
48. Yanat B, Machuca J, Yahia RD, Touati A, Pascual Á, Rodríguez-Martínez JM. First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-1 in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(6):760-761. doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.09.003

49. BachiriTaous, LalaouiRym, BakourSofiane, et al. First Report of the Plasmid-Mediated Colistin Resistance Gene *mcr-1* in *Escherichia coli* ST405 Isolated from Wildlife in Bejaia, Algeria. *Microb Drug Resist.* Published online September 1, 2018. doi:10.1089/mdr.2017.0026
50. Chabou S. Emergence of *mcr-1*-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* isolates from poultry in Algeria..
51. Drali R, Berrazeg M, Zidouni LL, et al. Emergence of *mcr-1* plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from seawater. *Sci Total Environ.* 2018;642:90-94. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.05.387
52. Touati A, Mairi A. Carbapenemase-Producing Enterobacterales in Algeria: A Systematic Review. *Microb Drug Resist.* 2020;26(5):475-482. doi:10.1089/mdr.2019.0320
53. Wang X, Wang Y, Zhou Y, et al. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr-8*, in NDM-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg Microbes Infect.* 2018;7(1):1-9. doi:10.1038/s41426-018-0124-z
54. CHROMagar™ KPC – Chromagar. Accessed June 22, 2022. <https://www.chromagar.com/product/chromagar-kpc/>
55. EUCAST: EUCAST. Accessed July 13, 2022. <https://www.eucast.org/>
56. S. Wilberger M, E. Anthony K, Rose S, McClain M, E. Bermudez L. Beta-Lactam Antibiotic Resistance among *Enterobacter* spp. Isolated from Infection in Animals. *AiM.* 2012;02(02):129-137. doi:10.4236/aim.2012.22018
57. van der Zwaluw K, de Haan A, Pluister GN, Bootsma HJ, de Neeling AJ, Schouls LM. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. *PLoS One.* 2015;10(3):e0123690. doi:10.1371/journal.pone.0123690.
58. Zahir H, Draiss G, Rada N, et al. Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc. *Rev Francoph Lab.* 2019;2019(511):65-70. doi:10.1016/S1773-035X(19)30229-1
59. Marzouk M, Ferjani A, Haj Ali M, Boukadida J. Profil et sensibilité aux antibiotiques de 1879 bactéries urinaires pathogènes isolées chez l'enfant (2012–2013). *Arch Pédiatrie.* 2015;22(5):505-509. doi:10.1016/j.arcped.2015.02.015
60. Rangaiahagari A, Uwizeyimana JP, Nyirabanzi J, Ngoga E, Wane J. ANTIBIOTIC SENSITIVITY PATTERNS OF ENTEROBACTERIACEAE ISOLATED AT KING FAISAL HOSPITAL, KIGALI - A THREE YEARS STUDY. Published online 2013:4.

61. Choi. Résistance aux antibiotiques : de nouveaux éléments concernant la colistine. Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. Published 2015. Accessed July 14, 2022.
<https://www.anses.fr/fr/content/r%C3%A9sistance-aux-antibiotiques-de-nouveaux-%C3%A9l%C3%A9ments-concernant-la-colistine>
62. Berrazeg M, Hadjadj L, Ayad A, Drissi M, Rolain JM. First Detected Human Case in Algeria of *mcr-1* Plasmid-Mediated Colistin Resistance in a 2011 *Escherichia coli* Isolate. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(11):6996-6997.
doi:10.1128/AAC.01117-16
63. Yanat B, Machuca J, Yahia RD, Touati A, Pascual Á, Rodríguez-Martínez JM. First report of the plasmid-mediated colistin resistance gene *mcr-1* in a clinical *Escherichia coli* isolate in Algeria. *Int J Antimicrob Agents*. 2016;48(6):760-761.
doi:10.1016/j.ijantimicag.2016.09.003
64. Nabti LZ, Sahli F, Hadjadj L, et al. Autochthonous case of mobile colistin resistance gene *mcr-1* from a uropathogenic *Escherichia coli* isolate in Sétif Hospital, Algeria. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;19:356-357. doi:10.1016/j.jgar.2019.10.006

Annexe N°I

Composition des différents milieux de cultures utilisés (pour 1 litre d'eau distillée)

Bouillon Clark et Lubs

Peptone trypsique de viande.....5g.

Phosphate bipotassique.....5g.

Glycose.....5g.

pH final : $7 \pm 0,2$

Bouillon Eau Peptonée Exempte d'Indole

Peptone.....10g.

Tryptone.....10g.

Chlorure de Sodium.....5g.

pH final : $7,2 \pm 0,2$

Bouillon nitraté

Infusion cerveau-cœur.....25g.

Nitrate de potassium.....10g.

pH final : $7,2 \pm 0,2$

Bouillon nutritif

Extrait de viande.....5g.

NaCl.....5g.

pH final : $7,2 \pm 0,2$

Eau physiologique

NaCl.....9g.

pH final : 7

Muller-Hinton

Déshydraté.....	3g.
Hydrolysate de caséine.....	17,5g.
Amidon.....	1,5g.
Agar.....	10g.

pH final : 7,4 ±0,2

TSI (Triple sugar Iron)

Peptone.....	20g.
Extrait de viande.....	2,5g.
Extrait de levure.....	3g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Citrate ferrique.....	0,5g.
Thiosulfate de sodium.....	0,5g.
Lactose.....	10g.
Saccharose.....	10g.
Glucose.....	1g.
Rouge de phénol.....	0,024g.
Agar.....	11g.

pH final : 7,4±0,2

Urée-Indole

L-Tryptophane.....	3g.
Phosphate dipotassique.....	1g.
Phosphate monopotassique.....	1g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Urée.....	20g.
Rouge de phénol.....	2,5g.

pH final : 7,4±0,2

Milieu de Citrate de Simmons :

Phosphate d'ammonium	1g.
Phosphate bipotassique	1g.
Chlorure de sodium	5g.
Citrate de sodium.....	5g.
Sulfate de magnésium	0,20g.
Bleu de Bromothymol	0,08g.
Agar.....	1g.

pH finale : $\pm 6,9$ **Gélose Mannitol mobilité :**

Extrait de viande.....	3g.
Peptone	15g.
Mannitol.....	10g.
Nitrate de potassium(KNO ₃)	10g.
Rouge de phénol	0,05g.
Agar.....	4g.

pH : $\pm 7,8$ **Annexe N°II Composition des réactifs****Réactif de Voges-Proskauer (VP I)**

α -naphtol.....	6g.
Alcool à 90(qsp).....	100ml.

Réactif de Voges-Proskauer (VP II)

NaOH4N. α -Naphthylamine.....6g.
Acide acétique 5N.....1L.

Réactif de Kovacs

Alcool amylique.....5g.
Paradiméthylamino-benzaldéhyde.....75g.
HCl pur.....25ml.

Réactif de Nitrate réductase Réactif de Griess I (NR I)

Acide sulfanilique.....0,5g.
Acide acétique.....50ml.

Réactif de Griess II (NR II)

α -naphthylamine.....0,2g.
Acide acétique.....50ml.

PH final : 7,2

Réactif de Tryptophane désaminase (TDA)

Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$10ml.
Eau distillée.....20ml.

Rouge de Méthyle(RM)

Eau bidistillée.....50cc.
Ethanol absolu.....50cc.
Rouge de méthyle.....0, 1.

Résumé :

Le but de cette étude était de déterminer et caractériser les phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches de bactéries isolées chez l'enfant.

Une collecte de souches a été réalisée en deux milieux hospitalier au niveau de l'EPH « aklloul Ali » d'Akbou, et communautaire au niveau des laboratoires d'analyse médicales privés a Bejaia, suivi par une parties pratique au laboratoire de microbiologie de la faculté

30 souches ont été collectées, 27 étions des entérobactéries, l'espèce retrouvé majoritairement est *E. coli* (70%).

Les germes pathogènes impliqués dans la plus part des infections étaient ceux qui appartenait à la famille des entérobactéries, issus des prélèvements urinaire majoritairement. Les résultats de l'antibiogramme et de l'analyse phénotypique des mécanismes de résistances aux ATB des souches testées, ont révélé une résistance remarquable chez l'enfant, essentiellement aux C3G et à la colistine

Mots clé :

bactéries ; résistance ; antibiotique ; enfant ; entérobactérie ; infection

Summary :

The aim of this study was to determine and characterize the antibiotic resistance phenotypes of bacterial strains isolated from children.

A collection of strains was carried out in two hospital environments at the level of the EPH "aklloul Ali" of Akbou, and community at the level of the private medical analysis laboratories in Bejaia, followed by a practical part in the microbiology laboratory of the faculty

30 strains were collected, 27 were enterobacteria, and the species found mainly is *E. coli* (70%).

The pathogenic germs involved in most of the infections were those which belonged to the Enterobacteriaceae family, mainly from urine samples. The results of the antibiogram and the phenotypic analysis of the mechanisms of resistance to the ATBs of the strains tested, revealed a remarkable resistance in children, mainly to C3Gs and colistin

Keywords:

bacteria; resistance ; antibiotic; child ; enterobacteriaceae; infection