

EVALUATION DU RISQUE DE CONTAMINATION DES PREPARATIONS LACTEES AU SERVICE DE NEONATOLOGIE DU CHU DE TREICHVILLE ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DE LA FLORE BACTERIENNE

I. COULIBALY^{1*}, K. KOUME¹, F. CONDE¹, F. I. FOBA¹, G. V. C. M'BENGUE², N. GUESSENND², K. B. TIEKOURA², I. KONATE³, D. KONE⁴.

¹Unit and Research in Agroforestry, Laboratory of Microbiology, Bio-Industry and Biotechnology (LMBIB), Department of Biochemistry and Microbiology, University Jean Lorougnon Guédé, PO BOX 150 Daloa, Ivory Coast.

²Laboratory of Microbiology of Food, Institut Pasteur of Ivory Coast, (PO BOX 490 Abidjan 01, Ivory Coast.

³Unit and Research in Agroforestry, Laboratory Interactions Host - microorganism, Environment and Evolution (LIHME), University Jean Lorougnon Guédé, PO BOX. 150 Daloa, Ivory Coast.

⁴Faculty of Biosciences, Plant Physiology Laboratory (PPL), University Felix Houphouët Boigny Cocody, PO BOX. 582 Abidjan 22, Ivory Coast.

RESUME

Les systèmes de préparation du lait ainsi que l'environnement hospitalier du service de néonatalogie ont été évalués. Le risque de contamination lié à la préparation lactée a été évalué à l'aide d'un questionnaire. Sur un total 59 échantillons ; 36 échantillons de préparation lactée regroupés en 6 lots et 23 échantillons provenant des mains, des narines et de l'air ambiant ont été collectés et analysés selon les normes microbiologiques relatives aux denrées alimentaires. L'analyse des lots montre une prédominance de *S. aureus* suivi de *E. coli* et enfin de *P. aeruginosa*. Les isolats présomptifs ont fait l'objet d'une identification par des tests biochimiques et de tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Les résultats des analyses microbiologiques révèlent des charges élevées de *E. coli* ($3,6.10^4$ ufc/ml), *P. aeruginosa* ($7,95.10^3$ ufc/ml) et *S. aureus* ($3,7.10^3$ ufc/ml) dans la préparation lactée. Pas de présence de *E. faecalis*. Les tests de sensibilités mettent en avant un haut niveau de résistance des isolats à la plupart des antibiotiques testés principalement aux β -lactamines. La majorité des *E. coli* ont présenté un phénotype de production de BLSE (35 %). On note 44,4 % de résistance des *S. aureus* aux aminosides donnant un phénotype KTG. D'autres phénotypes de BLSE ont été révélés chez *P. aeruginosa*. En général on rencontre une résistance importante de ces souches aux différents antibiotiques présentant du coup un risque réel pour l'antibiothérapie humaine.

Mots-clés : Préparations lactées, flore bactérienne de contamination, résistance aux antibiotiques, néonatalogie.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE RISK OF CONTAMINATION OF FORMULA IN THE NEONATOLOGY DEPARTMENT OF THE UNIVERSITY HOSPITAL OF TREICHVILLE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF THE BACTERIAL FLORA

The milk preparation systems as well as the hospital environment of the neonatology department were evaluated. The risk of contamination related to the formula was assessed using a questionnaire. Of a total of 59 samples ; 36 milk preparation samples in 6 batches and 23 samples from the hands, nostrils and ambient air were collected and analyzed according to microbiological standards for foodstuffs. The batch analysis shows a predominance of *S. aureus* followed by *E. coli* and finally *P. aeruginosa*. The presumptive isolates were identified by biochemical tests and antibiotic sensitivity tests were performed according to the recommendations of the Antibiogram Committee of the French Microbiology Society. The results of the microbiological analyzes reveal high loads of *E. coli* ($3.6.10^4$ cfu / ml), *P. aeruginosa* ($7.95.10^3$ cfu / ml) and *S. aureus* ($3.7.10^3$ cfu / ml) in the milk preparation. No presence

of *E. faecalis*. Sensitivity tests highlight a high level of resistance of isolates to most antibiotics tested with β -lactams. The majority of *E. coli* exhibited an ESBL production phenotype (35%). 44.4% resistance of *S. aureus* to aminoglycosides giving a KTG phenotype. Other ESBL phenotypes have been revealed in *P. aeruginosa*. In general, there is a significant resistance of these strains to the various antibiotics thus presenting a real risk for the human antibiotherapy.

Keywords: Milky preparations, bacterial contamination flora, antibiotic resistance, neonatology.

INTRODUCTION

L'allaitement maternel est, et a toujours été, le mode d'alimentation normal pour le nourrisson, il lui permet d'atteindre un niveau optimal de santé, de croissance et de développement (AMS, 2001). Pour la mère, il permet une perte de poids et une diminution des graisses plus rapide en post-partum, une diminution de l'incidence du cancer du sein, du cancer de l'ovaire et des dépressions du post-partum et enfin, une baisse du risque de pathologies métaboliques ou cardiovasculaires (Thirion, 1999). C'est pourquoi, depuis 2002, les recommandations nationales et internationales préconisent son initiation et sa poursuite pendant les 6 premiers mois du post-partum exclusivement (OMS, 2004). Néanmoins, depuis toujours, des alternatives à l'allaitement maternel sont recherchées. C'est alors que des propositions d'aliments de substitution sont faites, basées sur des préparations lactées (Lokombe & Mullie., 2005). Les préparations lactées pour nourrissons, bien que souvent présentées comme étant une alternative au lait maternel, peuvent présenter des risques de contamination auxquels sont exposés les nouveau-nés. Ces risques de contamination sont le plus souvent liés à un défaut d'hygiène qui se situe à plusieurs niveaux, tant au niveau du matériel de préparation qu'au niveau du personnel, mais aussi au niveau de l'environnement hospitalier. Parmi les souches bactériennes circulant en milieu hospitalier, les *Escherichia coli* (*E. coli*), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) constituent les agents majeurs des infections nosocomiales et communautaires (Kirat, 2007). En effet, la plupart des bactéries citées sont responsables des toxi-infections alimentaires qui prolifèrent dans l'organisme en produisant des troubles tels que les diarrhées, les nausées, les crampes abdominales, les douleurs musculaires, des migraines et fièvres. Ces bactéries ont également des effets délétères sur l'organisme humain entraînant des maladies comme les méningites, les infections de l'appareil urinaire,

de la peau et bien d'autres (Abhijit, 2013). Pour pallier ce problème, la médecine fait recours aux antibiotiques, qui permettent souvent de contrôler les épidémies causées par ces bactéries (Ashish & Rajesh, 2017). L'utilisation courante et abusive des antibiotiques entraîne non seulement la résistance des bactéries, mais aussi est coûteux pour la société. Il est donc impératif d'étudier le phénomène afin de mieux comprendre l'origine, le fonctionnement et les mécanismes de la résistance aux antibiotiques (Tremblay, 2007). Dans cette perspective s'inscrit notre travail qui a pour objectif d'assurer la sécurité sanitaire des préparations lactées destinées à la nutrition des nouveau-nés au service de néonatalogie du CHU de Treichville.

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL BIOLOGIQUE

Cette étude expérimentale à consister à rechercher quatre (4) bactéries dans les préparations lactées, les mains, les narines et l'environnement ambiant durant une période allant de Novembre 2017 à Mai 2018. Ces bactéries sont *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *E. faecalis*.

Echantillonnage

Le prélèvement des échantillons a été effectué au CHU de Treichville les matins aux heures de la préparation (8h-10h), de Mars 2018 à Avril 2018. Afin d'apprécier la qualité bactériologique du lait récolté au service de néonatalogie, des échantillons de préparations lactées ont été prélevés, ainsi que des échantillons issus des mains, des narines du personnel de cuisine et de l'air ambiant. Les échantillons de lait ont été prélevés dans des tubes à centrifugation coniques stériles de 30 mL de façon aseptique. Chaque tube à centrifugation conique constituait un lot. Ainsi six (6) lots de lait ont été collectés et à partir des six lots, des sous-lots de 5 ml ont été réalisés. Chaque lot était composé de 6 tubes à centrifugation coniques de 5 ml

contenant du lait et un tube à centrifugation conique de 5 mL constituait un sous-lot. Ensuite, des prélèvements au niveau des mains et des narines du personnel de cuisine ont été réalisés par écouvillonnage et enfin de l'air ambiant par exposition de boîtes contenant la gélose ordinaire au contact de l'air. Pour cela, des boîtes de Pétri ouvertes, préalablement remplies de gélose ordinaire ont été déposées dans la cuisine de préparation près de la zone de préparation pendant 30 minutes à 1 heure. Au total 59 échantillons ont été collectés. Immédiatement, tous les échantillons collectés ont été conservés à basse température (4°C), dans une glacière contenant des accumulateurs de froid et transportés à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire pour effectuer les analyses bactériologiques.

Recherche et dénombrement des germes de contamination

Différentes dilutions avec une solution de tryptone sel (TSE) ont été utilisées selon la nature de l'échantillon ; elles variaient entre 10^{-1} et 10^{-3} . Pour chaque échantillon, quatre bactéries ont été recherchés : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis*.

La recherche et le dénombrement de *Escherichia coli* a été faite sur gélose Tryptone bile X-glucuronide (TBX) après incubation à 44 °C pendant 24 h. Les germes de *E. coli* sont caractérisés par des colonies bleues (Marchal *et al.*, 1982).

Les *Staphylococcus aureus* ont été recherchés et dénombrés sur gélose de Baird Parker additionnée de jaune d'œuf et de tellurite de potassium et incubée à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les colonies apparaissent, noires, brillantes, convexes et entourées d'un halo clair d'environ 2 à 5 mm de diamètre. La confirmation a été effectuée par coloration de Gram (+) et recherche de la catalase (+) et d'ADNase (+) (AFNOR, 2004).

Les *Pseudomonas aeruginosa* ont été recherchés et dénombrés sur gélose cétrimide incubée à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les colonies ont un diamètre de 1,5 à 2 mm, un contour circulaire, une surface lisse et brillante, un aspect muqueux et sont parfois accompagnées d'une production de pigment bleu-vert (Marchal *et al.*, 1982).

Les *Enterococcus faecalis* ont été dénombrés

sur le milieu BEA (Bile, Esculine et Azide de sodium) à 37 °C pendant 24 à 48 h. Les colonies de *E. faecalis* se présentent sous forme de petites colonies translucides entourées d'un halo noir dérivant de l'action de l'esculine (Marchal *et al.*, 1982).

Les colonies présomptives ont été purifiées sur gélose ordinaire, suivi de la coloration de gram et du portoir réduit de Leminor pour *E. coli* ainsi que d'autres tests biochimiques (tests de catalase, d'oxydase, mobilité et d'ADNase) pour les autres bactéries (Delarras C, 2007). Les résultats obtenus du dénombrement des différentes bactéries ont été interprétés selon un plan à deux classes. Ces résultats ont été exprimés comme suit :

Pour les préparations lactées ;

Satisfaisante : c'est-à-dire conforme aux normes imposées par la législation

Non Satisfaisante : c'est-à-dire pour lesquels le seuil d'acceptabilité est dépassé.

L'interprétation des analyses bactériologiques a permis de juger l'état hygiénique et la qualité sanitaire de la préparation lactée.

Pour les mains, les narines et l'air ambiant ;

Présence : lorsque les germes recherchés ont été retrouvés

Absence : lorsque les germes recherchés n'ont pas été retrouvés

Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode par diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie (EUCAST /CASFM, 2017). En bref, les microorganismes ont été cultivés sur gélose nutritive pendant 24 heures. Ces cultures ont été utilisées pour préparer des suspensions bactériennes dans l'eau saline (NaCl 0,85 %) équivalentes à la turbidité du Mac Farland 0,5. Les suspensions ont été ensuite utilisées pour ensemer des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre par écouvillonnage. Les disques d'ATB ont été ensuite directement déposés sur les cultures et les boîtes ont été incubées à 37 °C. La lecture a été effectuée après 24 heures. Les activités antimicrobiennes ont été évaluées en mesurant les diamètres d'inhibition autour des

disques et l'interprétation a été faite en utilisant les valeurs critiques définies par le Comité de Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Analyse des données

Les différentes données recueillies après la réalisation de l'antibiogramme ont été traitées à l'aide d'un système automatisé ADAGIO. Le résultat obtenu est catégorisé en sensible (S) si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu au tour du disque est supérieur au diamètre critique ou Résistante (R) si le diamètre de la zone d'inhibition obtenu au tour du disque est supérieur au diamètre critique.

RESULTATS

DESCRIPTION DES PRATIQUES DE PREPARATION DU LAIT

Les résultats de l'enquête réalisée sur le système de préparation du lait et l'hygiène des préparateurs révèle que seulement 83 % des femmes lavent les mains avec de l'eau savonneuse avant l'alimentation du nourrisson

contre 17 % qui ne le font avec de l'eau simple. En général les femmes rincent les gobelets à l'eau simple avant et après l'alimentation du nourrisson. Elles lavent le matériel de préparation avec de l'eau simple également. Quant aux zones de préparations, elles ne sont désinfectées que juste avant et après la préparation du lait. Les personnels de préparation et de l'alimentation des nourrissons portent des charlottes, mais ne portent pas de gants et de cache nez. Un seul lieu de conservation des préparations lactées.

REPARTITION DES ECHANTILLONS EN FONCTION DES TYPES DE PRELEVEMENT

La répartition des prélèvements obtenus au service de néonatalogie du CHU de Treichville est répertoriée dans le Tableau 1. Une répartition non homogène des échantillons a été relevée entre les différents types de prélèvement. Le nombre d'échantillons pour les bébés prématurés est plus élevée (24) que celui des autres paramètres. Le nombre d'échantillons des bébés à termes est similaire à celui des échantillons des mains. Le plus faible nombre d'échantillon a été recensé au niveau de l'air ambiant avec 4 échantillons.

Tableau 1 : Répartition des prélèvements obtenus au service de néonatalogie du CHU de Treichville.

Distribution of samples obtained in the neonatology department of Treichville's Center University Hospital (CUH).

	Bébés prématurés	Bébés à termes	Mains	Narines	Air ambiant
Nombre de prélèvements	24	12	12	7	4
Taux de prélèvement	40,68 %	20,34 %	20,34 %	10,17 %	8,47 %

PREVALENCE DES MICROORGANISMES ISOLES DES ECHANTILLONS PRELEVES

La Figure 1 montre la prévalence des microorganismes isolés des différents

échantillons prélevés. Sur 59 échantillons collectés 8 souches de *E. coli* ont été isolées avec une prévalence de 13,56 %, 3 souches de *P. aeruginosa* avec une prévalence de 5,08 % et 16 souches de *S. aureus* soit 27,11 %.

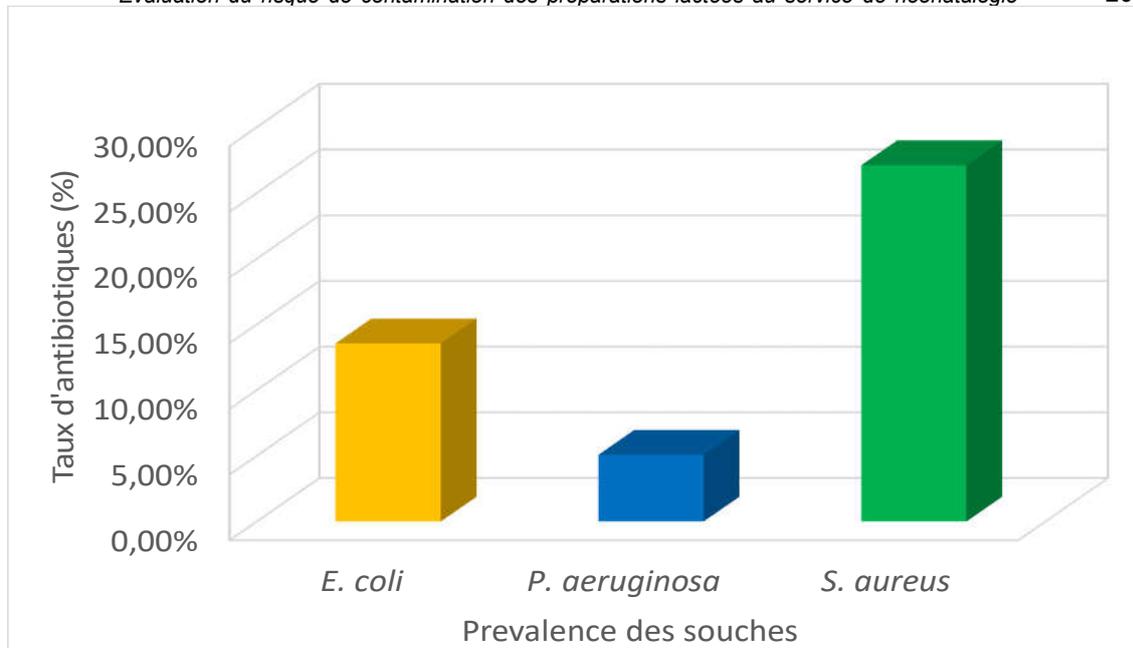


Figure 1 : Prévalence des microorganismes isolés des échantillons prélevés.

Prevalence of three microorganisms isolated from prepared-milk samples.

DISTRIBUTION DES MICROORGANISMES EN FONCTION DES DIFFERENTS LOTS DE LAIT ANALYSES

L'analyse microbiologique des prélèvements des préparations lactées a permis de mettre en évidence la présence des souches de *E. coli*, de *P. aeruginosa* et de *S. aureus* avec des charges élevées. Une répartition non homogène des germes a été relevée entre les différents

lots de lait. Le nombre de *E. coli* isolé des préparations lactées est plus élevé que celui de *S. aureus* et de *P. aeruginosa*. Les souches de *P. aeruginosa* était seulement présent dans les lots 2 et 4. Cependant *S. aureus* est présent dans les lots 4, 5 et 6 et absent dans les lots 1, 2 et 3. La distribution des charge (ufc/mL) des micro-organismes isolés dans les échantillons de préparations lactées est résumée dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Distribution des charges (ufc/mL) des microorganismes isolés des préparations lactées.

Survival rate (cfu / mL) of microorganisms isolated from milk products.

	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Lot 1	70	< 1	< 1
Lot 2	< 1	1,04.10 ⁴	< 1
Lot 3	2,59.10 ⁴	< 1	< 1
Lot 4	2,925.10 ⁴	5,5.10 ³	5818
Lot 5	9.10 ⁴	< 1	7,5.10 ²
Lot 6	< 1	< 1	9,8.10 ²
Normes en ufc/mL	10 ³	10 ³	< 10

INTERPRETATION DES RESULTATS DES ANALYSES DES DIFFERENTS LOTS DE LAIT

Les résultats du Tableau 3 révèlent que Le lot 1, lot 3, lot 4 et lot 5 sont caractérisés par la présence de *E. coli* avec des charges respectives de 70 ; 2,59.10⁴ ; 2,95.10⁴ et 9.10⁴ UFC/mL. Quant aux lots 1 et 3, on note une absence de *S. aureus* et de *P. aeruginosa* contrairement au lot 4 caractérisé par la présence

de *S. aureus* et de *P. aeruginosa* avec des charges successives de 5818 et 5,5.10³ UFC/mL et le lot 5 avec la présence de *S. aureus* avec une charge de 7,5.10² UFC/mL et par une absence de *P. aeruginosa*. Le lot 2 révèle la présence de *P. aeruginosa* avec une charge de 1,04.10⁴ UFC/mL, et une absence de *E. coli* et de *S. aureus*. Dans le lot 6 on note la présence de *S. aureus* avec une charge de 9,8.10² UFC/mL, et une absence de *E. coli* et de *P. aeruginosa*.

Tableau 3 : Interprétation des résultats de l'analyse bactériologique.
Interpretation of the results of bacteriological analysis.

Nombre de lots	Bactéries isolées	Charges bactériennes (bactéries/ ml de lait ou UFC.cm ⁻³)	Interprétation
Lot 1	<i>E. coli</i>	7*10 ¹	Satisfaisante
	<i>S. aureus</i>	< 1	
	<i>P. aeruginosa</i>	< 1	
Lot 2	<i>E. coli</i>	< 1	Non satisfaisante
	<i>S. aureus</i>	< 1	
	<i>P. aeruginosa</i>	1,04*10 ⁴	
Lot 3	<i>E. coli</i>	2,59*10 ⁴	Non satisfaisante
	<i>S. aureus</i>	< 1	
	<i>P. aeruginosa</i>	< 1	
Lot 4	<i>E. coli</i>	2,925*10 ⁴	Non satisfaisante
	<i>S. aureus</i>	5 818	
	<i>P. aeruginosa</i>	5,5*10 ³	
Lot 5	<i>E. coli</i>	9*10 ⁴	Non satisfaisante
	<i>S. aureus</i>	7,5*10 ²	
	<i>P. aeruginosa</i>	< 1	
Lot 6	<i>E. coli</i>	< 1	Non satisfaisante
	<i>S. aureus</i>	9,8*10 ²	
	<i>P. aeruginosa</i>	< 1	

DETERMINATION DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES

Sensibilité de *E. coli* aux antibiotiques

A l'issue des tests de sensibilité aux ATB, les plus forts taux de résistance ont été enregistrés avec les molécules d'antibiotiques appartenant à la famille des bêta-lactamines notamment aux C₃G (Cefotaxime, Ceftazidime, Céfixime et Céfépime) avec un taux de résistance de 87,5

%, à la Cefuroxime avec un taux de résistance de 100 % et aux pénicillines (Ticarcilline, Ticarcilline + acide clavulanique, ampicilline, Aztreonam et Piperacilline) où un taux de résistance de 100 % a été noté. Un taux de résistance de 87,5 % pour triméthoprine, triméthoprine/sulfaméthoxazole et la gentamycine a été observé. Toute une sensibilité à l'imipénème, meropenème, norfloxacine, furantoine, Tigécycline et chloramphénicol.

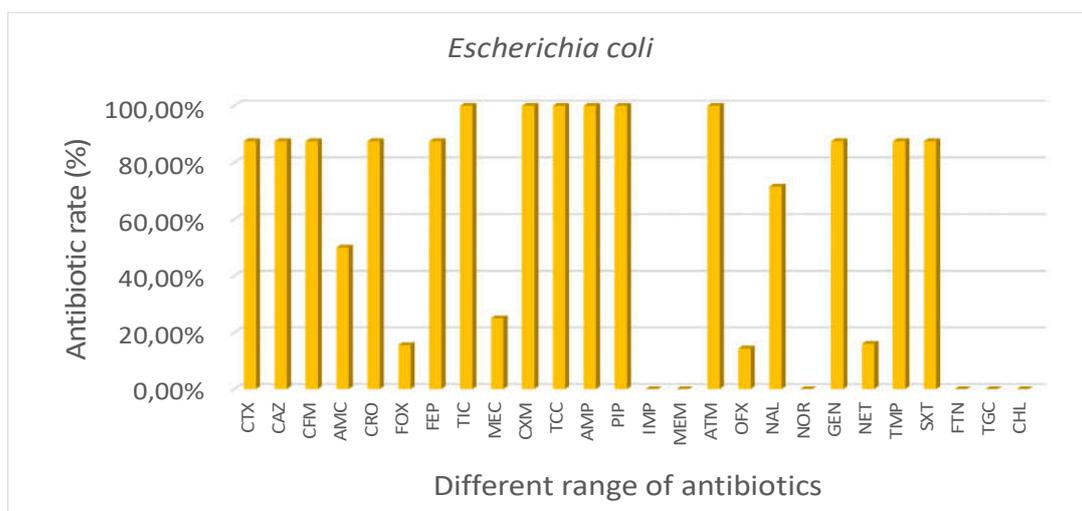


Figure 2 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *E. coli* isolé des préparations lactées.
Antibiotic resistance rate of Escherichia coli strains isolated from milk products.

Sensibilité de *P. aeruginosa* aux antibiotiques

La Figure 3 montre le profil de résistance de *P. aeruginosa* aux antibiotiques. Cette résistance traduit l'apparition du phénotype BLSE. L'étude de la sensibilité de *P. aeruginosa*, isolé du lait

révèle un taux de résistance de 100 % pour la Tigécycline et un taux de résistance de 66 % pour la Céfépime, la Ticarciline, la Ticarciline + Acide clavulanique et la Piperacilline. Un taux moindre de 33,3 % pour la Ceftazidime, la gentamycine et la colistine et de 100 % de sensibilité pour le Tazobactam + Piperacillin et l'imipénème.

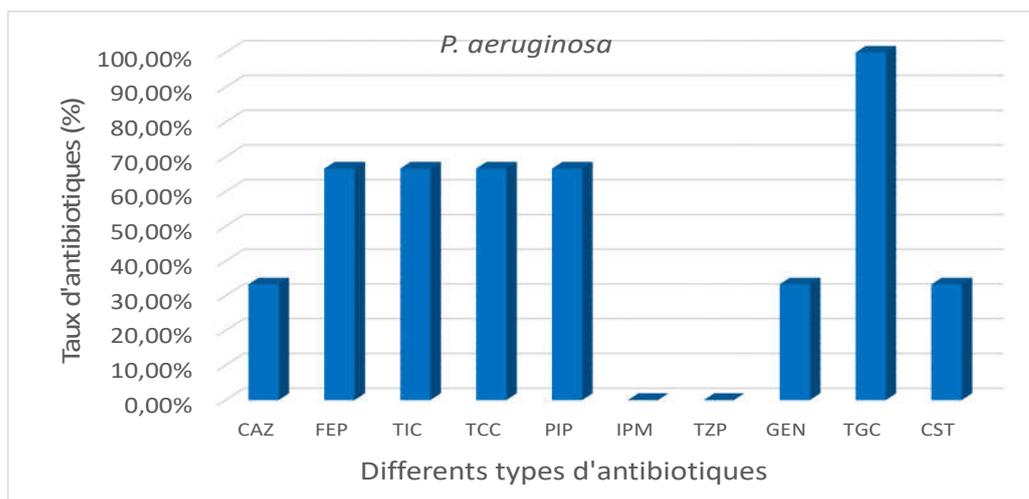


Figure 3 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *P. aeruginosa* isolé des préparations lactées.

Antibiotic resistance rate of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from milk products.

Sensibilité de *S. aureus* aux antibiotiques

L'analyse du profil de résistance de *S. aureus* aux antibiotiques est représentée par la Figure 4. Elle révèle un taux de résistance de 100 % pour la pénicilline, de 77,7 % pour la kanamycine et pour la Norfloxacine. Un taux de 66,6 % pour la Cefoxitine, la gentamycine et l'ofloxacine a

été observé de. La résistance à la Cefoxitine et à la gentamycine traduit respectivement le phénotype Méti R et KTG. Aussi un taux de résistance de 55,5 % pour triméthoprime/sulfaméthoxazole, de 44,4 % pour l'érythromycine et la clindamycine et 11,1 % pour la téicoplanine et l'acide fusidique a été noté. Toutefois, un taux de sensibilité de 100 % pour la vancomycine et le chloramphénicol a été relevé.

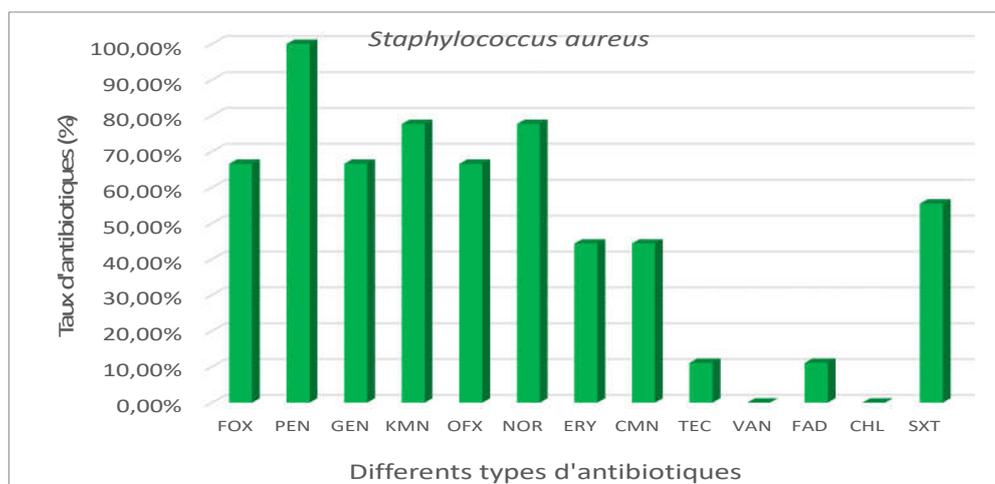


Figure 4 : Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolé des préparations lactée.

Antibiotic resistance rate of Staphylococcus aureus strains isolated from milk products.

DISCUSSION

La préparation lactée, aliment de substitution à l'allaitement maternel est le premier aliment du nourrisson à la naissance et le seul jusqu'à l'âge de quatre à six mois. Mais les conditions de préparation, de manipulation et de conservation peuvent entraîner des contaminations microbiennes et leur multiplication, qui peuvent par la suite être à l'origine d'infections graves, voire de décès des nouveau-nés et des jeunes nourrissons. Au cours de nos travaux nous avons observés une diversité de micro-organismes dans les différents lots de lait analysés ainsi que dans les échantillons issus des mains, des narines et de l'air ambiant. Au regard des résultats il est apparu que *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée du lait suivi de *S. aureus* et enfin de *P. aeruginosa*. La présence de ces bactéries dans le lait est mise par plusieurs auteurs. Selon Abera *et al.* (2016) la présence des entérobactéries dans le lait pourrait être due à une contamination croisée. Quant à Zarei *et al.* (2014), la présence de *S. aureus* dans le lait peut présenter un risque potentiel pour la santé du consommateur (nouveau-né) en particulier en cas de présence des souches enterotoxiques. En effet notre étude a été aussi réalisée sur l'évaluation des paramètres biologiques (mains et narines) et de l'air ambiant de la cuisine de préparation. Plusieurs microorganismes ont été isolés dont les bactéries et levures. La contamination des préparations lactées par les bactéries pourrait être due à l'environnement hospitalier c'est-à-dire à l'air ambiant, aux narines et aux mains du personnel du service. En outre, lors de la préparation du lait, les règles d'hygiène ne sont pas tout à fait respectées par les femmes de cuisine ainsi que celles responsables de l'alimentation des nouveau-nés. Notons également que le mode d'alimentation des nourrissons pourrait être à l'origine de cette contamination car les gobelets utilisés pour l'alimentation n'étaient pas à usage unique mais aussi le matériel de préparation et le mode de conservation de la préparation lactée. Retenons que la qualité sanitaire des préparations lactées évaluées sur les différents lots a révélé que seul le lot 1 était satisfaisant. Ainsi, il est possible de dire que la préparation lactée destinée aux nouveau-nés est de qualité sanitaire non satisfaisante.

Les tests de sensibilité effectués ont montré un

taux de résistance considérable à la majorité des antibiotiques testés. En effet les souches de *E. coli* ont révélé une résistance à la Ticarcilline, la Piperacilline, à l'ampicilline et à l'amoxicilline + acide clavulanique associée aux C₃G, entraînant la production du bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). L'imipénème et le meropenème restent les molécules les plus actifs sur toutes les souches de *E. coli* isolées. Aussi, des résistances croisées ont été observées avec les antibiotiques appartenant aux familles des aminosides (GEN, NET), des quinolones (OFX, NAL) et des sulfamides (SXT). En réalité, ces résultats reflètent la situation de l'antibiorésistance au niveau du CHU de Treichville. Il faut noter que la population est urbaine et constituée surtout des gens aisés qui peuvent payer les examens microbiologiques et qui ont l'habitude d'utiliser des ATB. La résistance des souches de *E. coli* productrices de BLSE a été mise en évidence par (Duval *et al.* 2009) et (Barguigua *et al.* 2011) dans leurs travaux sur la résistance des entérobactéries. Ils ont trouvé respectivement un taux de résistance de 37,8 % et 1,3 % contre 35 % dans notre étude.

Les souches de *P. aeruginosa* ont montré une résistance élevée à tous les antibiotiques testés à l'exception de l'imipénème et du tazobactam + piperacilline. Cette résistance est probablement dû à la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Nos résultats restent élevés par rapport à ceux retrouvés par (Touati, 2013) en Algérie mais relativement proche de celui de Sefraoui (2015) au CHU d'Oran. Cette différence de résultat pourrait être due à la situation géographique du pays et aussi à la saison de prélèvement. L'analyse du profil de résistance de *S. aureus* a révélé un taux de résistance élevée (72,15 %) aux antibiotiques appartenant aux familles des aminosides, à l'érythromycine (50 %) et aux antibiotiques appartenant aux familles des quinolones (72,15 %). Ce constat a été fait par Touaitia (2016) avec un taux de 46,2 % et par Bouguenoun (2017) qui a obtenu un taux de 42,84 %. La résistance aux aminosides pourrait être due à la production d'une enzyme inactivatrice appelé aminoside acétyltransférases 6' phosphotransférases 2'' (AAC (6') - APH (2'')), qui est une enzyme bifonctionnelle ayant à la fois une action de phosphorylation et d'acétylation responsable de la production du phénotype KTG (Bismuth & Leclercq, 2000). Ainsi, l'analyse phénotypique a mis en relief

deux types de phénotypes avec une prédominance du phénotype KTG (55,6 %) par rapport au phénotype K (22,2 %). Ces résultats sont opposés à ceux signalés par Touaitia *et al.* (2015). Un taux de résistance de 100 % pour la pénicilline et de 66,6 % pour la Cefoxitine a été noté traduisant le phénotype Méti R. Ces résultats sont relativement proches à ce qui a été signalé au Sénégal et aux Etats Unis avec respectivement 72 % et 70 % (Seydi *et al.* 2004 ; Awad *et al.* 2007) mais il demeure nettement supérieur à ce qui a été rapporté en Côte d'Ivoire et Maroc avec respectivement 25 % et 19,3 %, (Akoua-Koffi *et al.* 2004 ; Elhamzaoui *et al.* 2009). En effet, ces souches, en plus de la production d'une pénicillinase, produisent une PLP modifiée (PLP2 additionnelle), qui présente une affinité très diminuée pour la Cefoxitine et implique une résistance croisée à toutes les β -lactamines, (Ghernaout, 2013). Ce qui expliquerait en partie la résistance de nos isolats à la pénicilline et à la Cefoxitine.

CONCLUSION

Le lait est une denrée alimentaire très riche en substances nutritives (protéines, lipides, vitamines et minéraux) créant ainsi un milieu approprié au développement de la flore bactérienne, y compris la flore bactérienne pathogène entraînant des contaminations microbiennes. L'analyse a montré une charge microbienne élevée des souches de *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* dans le lait. Cette charge a permis de juger la qualité sanitaire du lait destiné à l'alimentation des nouveau-nés au service de néonatalogie du CHU de Treichville. Les résultats obtenus ont montré une prédominance de *E. coli* avec une charge microbienne moyenne $3,6 \cdot 10^4$ ufc/ml suivi de *S. aureus* ($3,7 \cdot 10^3$ ufc/ml) et enfin de *P. aeruginosa* ($7,95 \cdot 10^3$ ufc/ml). Cependant, une diversité de souches bactériennes au niveau de l'environnement a été observée. Compte tenu de la charge microbienne élevée des souches par rapport aux normes microbiologiques alimentaires, le lait destiné aux nouveau-nés est jugé de qualité sanitaire non satisfaisante. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés afin de mieux comprendre le phénomène de résistance bactérienne. Les taux alarmants de multirésistance bactérienne ont été enregistrés

pour l'ensemble des souches isolées. La résistance des *E. coli* est très inquiétante, presque la totalité ont été résistantes aux Bêta-lactamines avec un pourcentage élevé du phénotype BLSE, les *E. coli* (35 %) et *P. aeruginosa* (5 %). La totalité des *S. aureus* isolés dans notre étude ont été résistantes à la majorité des antibiotiques testés notamment aux aminosides, aux Bêta-lactamines, aux quinolones ainsi que triméthoprime/sulfaméthoxazole. Ainsi, plusieurs phénotypes ont été révélés avec une prédominance du phénotype KTG (55,6 %) suivi du phénotype Méti R (22,2 %). Résistance ayant un impact considérable sur la santé du nouveau-né entraînant même sa mort, il serait donc souhaitable de faire une étude moléculaire et phénotypiques des souches et identifier tous les supports génétiques des résistances associées aux antibiotiques.

REMERCIEMENT

Nous remercions également toute l'équipe de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire en occurrence l'unité ASSURMI pour son appui technique ainsi que le Centre Hospitalier Universitaire de Treichville pour nous avoir permis de réaliser pour l'un les prélèvements au sein de leur structure et pour l'autre pour les manipulations et tests réalisés.

REFERENCES

- Abera T., Yoseph L., Behar M & Befekadu U. 2016. Bacteriological quality of raw camel milk along the market value chain in Fafen zone, Ethiopian Somali regional state. BMC Res Notes. 9, 1 - 6.
- Abhijit A. 2013. Study of urinary isolates with reference to extended spectrum β -actamases detection and antibiogram Vol 2, Issue 9, 1052 p.
- Akoua-Koffi C., Guessenn N., Gbonon V., Faye-Ketté H & Dosso M. 2004. Methicillin-resistance of *Staphylococcus aureus* in Abidjan (1998–2001): a new hospital problem. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 34 : 132 – 136.
- Ashish K.R. J. & Rajesh Y. (2017). Study of Antibiotic Resistance in Bacteria, 8(1), 668 – 674.
- Awad S., Elhabash S & Lee L. 2007. Increasing incidence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin and soft-tis-

- sue infections : reconsideration of empiric antimicrobial therapy. *The American Journal of Surgery* ; 194 606 – 610.
- Barguigua A., El Otmani F., Talmi M., Bourjilat F., Haouzane F., Zerouali K & Timinoumi, M. 2011. Characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from community in Morocco. *Journal of Medical Microbiology*, 60 : 1344 - 1352.
- Bismuth. R & Leclercq R. 2000. *Staphylococcus aureus* et antibiotiques, in Précis de Bactériologie Clinique. Ed ESKA ; P 611 - 616.
- Bouguenoun W. 2017. Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries incriminées dans les infections nosocomiales et leur dissémination dans l'environnement hospitalier de la région de Guelma. Thèse de Doctorat en Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie, 218 p.
- Delarras C. 2007. Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Lavoisier, Paris, 476 p.
- Duval V., Maiga I., Maiga A., Guillard T., Brasme L., Forte D., Madoux J., Vernet G.V & De Champs C. 2009. High prevalence of CTX-M-type beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Bamako, Mali. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 53(11) : 4957 - 4958.
- Elhamzaoui S., Benouda A., Allali F., Abouqual R & Elouennass M. 2009. Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Med Mal* 2009 : (in press).
- European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) /Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). 2017. Determination of minimum inhibitory concentration (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect*. 6, 509 - 15.
- Gheraout S. 2013. Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* : Son rôle dans l'infection du site opératoire. Thèse de doctorat. Université Aboubeker Belkaid-Tlemcen (Algérie). 175 p.
- Marchal N., Bourdain J.L & Richard C.L. 1982. Milieux de culture pour l'isolement et identification biochimiques des bactéries, doin, Edition, Paris, 483 p.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé). 2004. Définition de l'allaitement maternel : promoting proper feeding for infants and young children. OMS, Geneva 74 p.
- Sefraoui I. Ep K. 2015. Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest Algérien. Thèse de Doctorat d'Etat en Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen, Algérie, 94 p.
- Seydi M., Sow A.I., Soumaré M & Diallo H.M. 2004. *Staphylococcus aureus* bacteremia in the Dakar Fann university hospital. *Médecine et maladies infectieuses*, 34 : 210 – 215.
- Thirion M. 1999. L'allaitement. France, Paris : Albin Michel, 280p.
- Touaitia R. 2016. *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba (Algérie), 125p.
- Touaitia R., Boutefnouchet N & Djahoudi A. 2015. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and/or intermediate susceptibility to vancomycin isolated from private laboratories in Annaba «Algeria». *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7: 780 - 786.
- Touati M. 2013. Antibiorésistance des bacilles à Gram négatifs non fermentaire isolé au niveau du service de réanimation- CHU Annaba. Thèse de Doctorat en Science de la Vie et de la terre, faculté de médecine et de pharmacie. Université Badji Mokhtar, Algérie, Annaba, 141 p.
- Tremblay S. 2007. Etude moléculaire du recrutement des gènes de résistance aux antibiotiques. Mémoire de Master en Biochimie et Microbiologie, Faculté des sciences et de génie, Université Laval, Québec, 148 p.
- Zarei Y.B.A., Khomeiri M., Mahounak A.S & Jafari S.M. 2014. Hygienic Quality of Camel Milk and Fermented Camel Milk (Chal) in Golestan Province, *Iran J Microbiol Res*. 2, 98 - 103.