

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



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

MASTER

Thème

**Contribution à l'étude de la flore résistante
aux antibiotiques chez les pigeons de
l'Algérie (Bejaïa) .**

Présenté par :

AIT BESSAI Ahnia & ACHIOU Sabrina

Soutenu le : **18 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

M. AISSAT. K
Mme.GHAROUT. A
Mme. BELHADI. K

Professeur	Président
MCB	Encadreur
MAA	Examineur

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier celui qui nous a protégé, aidé et soutenu, jusqu'à pouvoir « mener la graine au fruit » nous nous inclinons pour dire : « Dieu merci ».

Nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs s'adressent d'abord à notre promotrice Mme GHAROUT A. pour son encadrement, ses conseils, son orientation et ses encouragements tout au long de ce travail et que sans elle, le présent travail ne serait jamais abouti.

Nous tenons à remercier vivement Monsieur AISSAT K. d'avoir accepté de présider le jury ainsi que Mme BELAHDI K. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Je tiens également à remercier notre enseignant Monsieur le professeur Touati Abdelaziz pour ses conseils et son orientation.

Nous adressons aussi nous remerciment au responsable d'Etablissement portuaire de Bejaïa et à Monsieur ZAIDI ADNAN pour son aide précieuse pour la réalisation des prélèvements.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à Mme RAHMANI D. Ingénieure de laboratoire d'écologie microbienne pour son aide durant la période de stage pratique.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui ont sacrifié beaucoup de leurs vies pour que je puisse aboutir a mon but, qu'ils trouvent dans ce travail le reflet de leurs éducations, qui ont consacré leur existence pour bâtir la mienne, qui ont toujours cru en moi, qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras.

A la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, la source de mes efforts, ma vie et bonheur ; ma mère Kheloudja, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

A mon très cher père Lakhdar, pour ses encouragements et son soutien.

A mon très cher frère Mourad et son adorable épouse Houria, merci pour votre présence auprès de moi toujours patient avec moi malgré la distance et les circonstances.

A mes chères sœurs et leurs maris, mes frères et leurs femmes : Kahina et son marrie Samir, Farida et son marrie Hakim, Nacer et sa femme Zahra, Boukhalifa et sa femme Ourdia et ma chouchou petite sœur Karima ; pour vos main qui ont tant travaillés, pour votre cœur qui ma tant donnée, pour votre sourire qui ma tant chauffé, pour vous qui m'avez tant aimé.

Aux personnes très chers à moi qui ne font plus parti de ce monde, qui nous manque beaucoup et qui je souhaite qu'ils soient avec nous en ce moment.

A la merveilleuse et honorable grande famille « mes très cher oncles et leurs femmes, mes tantes et leurs marries, mes cousines, mes cousins, mes neveux, mes nièces en particulier Lila et Sihem. »

Aux petits boutchoux de la famille « Yanis, Sarah, Thanina, Cellina, Kenza et Omar »

A mes copines de chambre « Lila, Yasmina, Drifa et les deux Nassima »

A tous mes camarades de la promotion biomédicale 2015/2016.

A m'a chère binôme Hania.

A mes profsseurs, pour le savoir qu'ils m'a transmis et a tous ceux que me sont chers.

Tous du primaire à l'université... merci !

Aucune dédicace aussi profonde qu'elle soit ne pourra exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères sentiments. Merci pour votre éducation et les principes que vous nous avez appris, votre patience avec moi surtout quand j'avais mes sautes d'humeur, votre soutien morale et physique, vos précieux conseils et votre amour... vous êtes la plus belle famille au monde que Dieu vous protège et vous garde en bonne santé pour moi... je vous aime.

Sabrina

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

- *A la mémoire de mon très chers père que j'aimerai pour toujours que dieu l'accueille dans son vaste paradis.*
- *A l'amour de ma vie ma chère mère, que dieu me la protège.*
- *A toi mon cher frère TOUFIK qui m'a beaucoup encouragé, que dieu te protège.*
- *A mes anges adorés mes chères sœurs Radia, Ounissa, Fatiha.*
- *A mes frères Makhlouf, Mouloud, Salem.*
- *A mes nièces et neveux.*
- *A mon binôme Sabrina ainsi que sa famille*
- *A walid pour sa présence, son aide, ses conseils.*
- *A mes ami(es) Khaled, Fares, sofiane, Amir, Amer, Dinich, Karim, Bila, Hanan, Soraya, Nabila, Fariel, Dihia et à tous ceux qui sont chers.*
- *A toute la promotion MSBV 2015- 2016.*
- *A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin et ont tout fait pour que je réussisse.*

Hania

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

<i>Introduction</i>	1
---------------------------	---

Matériel et méthodes

I. Prélèvements	7
II. Enrichissement	7
II.1. Bactéries à Gram positif	7
II.2. Bactéries à Gram négatif	9
II. 3. Identification	10
III. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines des bacilles à Gram négatif	12
III.1. Recherche de la production de BLSE	12
III.2. Recherche de la production de carbapénèmases	13
III.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine	19

Résultats

I. Présentation de l'étude	20
II. Les souches bactériennes	20
III. Sensibilité des souches aux antibiotiques	20
III.1. Les entérocoques	20
III.2. Les bacilles à Gram négatif	24
IV. Analyses des phénotypes de résistance.....	24
V. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) chez BNG Résistants à la colistine.....	32

<i>Discussion et conclusion</i>	33
---------------------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I :	Aspect des colonies sur milieu Chromagar	10
Tableau II :	Galerie biochimique d'identification des souches	11
Tableau III :	Interprétation des résultats du carba-NP test modifié	14
Tableau IV :	Interprétation de test aux inhibiteurs	18
Tableau V :	Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI	19
Tableau VI :	Caractéristiques des souches résistantes à la vancomycine	21
Tableau VII :	Résultats du DD-test chez les souches productrices de BLSE	25
Tableau VIII:	Résultats du DD-test sur gélose de MH avec cloxacilline	26
Tableau IX :	Résultats du carba-NP test modifié	27
Tableau X :	Phénotype probables des souches résistantes aux carbapénèmes	30
Tableau XI :	Résultats des CMI vis-à-vis de la colistine	32

Tableaux en annexes

Tableau I :	Résultat d'identification des souches productrices de BLSE par la galerie Biochimique
Tableau II :	Résultat d'identification des souches productrices de carbapénémase par la galerie biochimique classique
Tableau III :	Résultat d'identification des souches résistantes à la colistine par la galerie biochimique
Tableau IV :	Les antibiotiques testées et les diamètres des d'inhibition
Tableau V :	Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénémase
Tableau VI :	Résultats du test de Hodge

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes sites de prélèvement au niveau de la wilaya de Bejaia.	7
Figure 2 : La disposition des disques d'antibiotique dans le DD-Test	13
Figure 3 : Technique de Hodge test	15
Figure 4 : Synergie disques carbapénème avec inhibiteurs	15
Figure 5 : Interprétation de test aux inhibiteurs	17
Figure 6 : Image de synergie obtenue par le DD-test pour la souche <i>E. coli</i> PG57.	24
Figure 7 : Le DD-test pour la souche <i>Raoultella sp</i> PG67 avec et sans cloxacilline.	26
Figure 8 : Exemple de résultats de Carba NP test modifié.	27
Figure 9 : Résultat du test de Hodge positif pour la souche <i>E. coli</i> PG134.	28

Liste des Abréviations

AMC: Amoxicilline-Acide clavulanique.

AMX: Amoxicilline.

ATB : Antibiotique.

BLSE : β -lactamase à spectre élargi.

C1G: Céphalosporine de première génération.

C2G: Céphalosporines de deuxième génération.

C3G: Céphalosporine de troisième génération.

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

CAZ : Céfotazidime.

CFM : Céfépime.

CIT : Citrate.

CL : Colistine.

CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide.

CTX : Céfotaxime.

EDTA: Ethylene Diamine Tetra-Acétique.

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénèmases.

ERT : Ertapénème

EUCAST: European committee on antimicrobial susceptibility testing.

GES : Guyane à spectre étendu.

IMP : Imipénème.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

MBL: Métallo- β -lactamase.

MC : Mac Conkey.

MER : Méropénème.

MH: Mueller Hinton.

NDM-1: New Delhi métallob- β -lactamases-1

NR: Nitrate réductase.

OXA : Oxacillinase.

PLP : Protéines liant les pénicillines.

RM: Rouge de Méthyle.

VIM : Verone integron code metallo- β –lactamase.

VP: Voges-Proskauer.

UFC/ml: Unité Formant une colonie par millilitre.

URE : Urée.

La découverte des antibiotiques, notamment la pénicilline G en 1928 a sans doute été l'une des avancées thérapeutiques les plus importantes du vingtième siècle. L'utilisation de ces derniers depuis les années 1940 a considérablement réduit le taux de morbidité et de mortalité lié aux maladies infectieuses (**Van Hoek et al., 2011**). Le succès de l'antibiothérapie n'a été que de courte durée, puisque les premières souches résistantes ont été décrites peu de temps après l'introduction de ces molécules en thérapeutique humaine. D'ailleurs, dès 1945, Alexander Fleming émit l'hypothèse que des résistances aux antibiotiques risquaient d'apparaître et que l'efficacité des antibiotiques à long terme dépendrait de l'usage qui en serait fait (**Plough, 1945**).

En plus de leur utilisation dans le traitement des maladies humaines, les antibiotiques sont couramment utilisés en médecine vétérinaire et généralement ajoutés comme promoteurs de croissance chez certains animaux. Leur utilisation aléatoire peut contribuer à la sélection de micro-organismes résistants. Ces micro-organismes retrouvés dans la matière fécale contaminent le sol, la nourriture et les milieux aquatiques (**Grobbe et al., 2007 ; Martinez, 2009**).

La flore commensale représente une grande partie des germes présents chez l'Homme ou l'animal. Ces bactéries sont autant de germes qui peuvent acquérir et disséminer des résistances de manière silencieuse. La majorité des bactéries commensales sont présentes dans le tube digestif, parmi elles on retrouve les entérobactéries et les entérocoques, deux familles aéro-anaérobies facultatives impliquées dans de nombreuses maladies nosocomiales et communautaires chez l'Homme (**Andremont, 2000 ; Van Den Dogaard et Stobberingh, 2000**). Ces bactéries intestinales sont considérées comme des indicateurs de la contamination fécale de l'environnement et souvent aussi en tant que microorganismes modèles pour détecter l'apparition de la résistance aux antibiotiques chez l'Homme et les animaux domestiques. Des études ont montré que cette résistance aux antibiotiques se produit également dans des isolats commensaux d'*E. coli* d'animaux sauvages qui ne sont pas traités ou exposés aux antibiotiques (**Poirel et al., 2012; Marinho et al., 2013**). Les populations d'animaux sauvages peuvent servir de réservoirs pour les bactéries pathogènes chez les animaux domestiques et les humains (**Kruse et al., 2004**).

Les entérocoques sont des bactéries Gram-positives appartenant à la flore du tractus gastro-intestinal de l'homme et de la plupart des animaux (**Aarestrup et al., 2000**). Bien que les espèces d'entérocoques soient généralement considérées comme étant de faible potentiel

pathogène, ils ont émergé comme une des causes importantes de l'infection nosocomiale et communautaire en raison de la capacité de ces bactéries pour acquérir des caractères de virulence (Silva et al., 2011). Les deux principales espèces importantes en clinique sont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*. Les entérocoques sont intrinsèquement résistants à de nombreux antibiotiques, et ont la capacité de transférer la résistance aux antibiotiques à d'autres bactéries, ce qui pose un problème dans le traitement des maladies infectieuses (Hegstad et al., 2010). La diffusion des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), en particulier par l'acquisition de mécanisme de résistance *vanA*, est d'une grande importance clinique. Les ERV ont été de plus en plus rapportés dans les hôpitaux en Europe (Werner et al., 2008) et d'autres continents (Elhani et al., 2014 ; Seol et al., 2014). Pendant des années, les entérocoques contenant *vanA* ont été fréquemment détectés dans des échantillons d'animaux et de l'environnement, principalement en Europe. Elle est associée à l'utilisation d'avoparcine dans le passé en tant que promoteur de croissance des animaux (Hammerum 2012). Plusieurs études rapportent l'isolement des ERV chez les animaux sauvages (Santos et al., 2013).

Les β -lactamines sont les antibiotiques de première ligne dans le traitement des infections causées par les entérobactéries. Cependant, ces bactéries ont pu développer plusieurs mécanismes de résistance vis-à-vis de ces molécules telles que les β -lactamases. Parmi elles, les β -lactamases à spectre élargi (BLSE) hydrolysant la majorité des β -lactamines en n'épargnant que les céphamycines et les carbapénèmes. Les souches productrices de BLSE sont souvent multirésistantes aux antibiotiques, compliquant ainsi le traitement des infections dues à ces bactéries (Paterson et al., 2005). L'épidémiologie des BLSE au sein des entérobactéries a récemment changé avec la dissémination massive des enzymes de type CTX-M. Dans les années 1990, les principales BLSE étaient dérivées des enzymes de type TEM-1, SHV-1 et diffusaient majoritairement au sein de clones hospitaliers de *K. pneumoniae* et d'*Enterobacter spp.* La diffusion de CTX-M au sein de l'espèce *E. coli*, aussi bien en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier, a bouleversé cette situation (Pitout et al., 2010). Dans la dernière décennie, la prévalence des entérobactéries productrices de BLSE a augmenté rapidement, attribué principalement au succès de la propagation des enzymes CTX-M (D'Andrea et al., 2013). Chez l'Homme et les animaux, les enzymes CTX-M sont le plus souvent retrouvées chez *E. coli* (D'Andrea et al., 2013). Les CTX-M constituent désormais les BLSE les plus répandues, quelle que soit la région du monde, à tel point qu'on qualifie leur diffusion de

pandémique (**Canton et al., 2006**). Contrairement à certains variants qui se sont disséminés dans des régions géographiques localisées, CTX-M-15 a été décrite un peu partout dans le monde et semble être la BLSE la plus décrite (**Elhani et al., 2010**).

Ces dernières années, la prescription des carbapénèmes est devenue de plus en plus fréquente dans le traitement des infections documentées à bactéries productrices de BLSE, mais également en traitement probabiliste en cas d'infections nosocomiales sévères. Cependant, comme pour toutes les β -lactamines mises sur le marché, des souches résistantes sont apparues (**Grall, 2011**).

La résistance aux carbapénèmes résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des β -lactamases. Le premier mécanisme associe à la production d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des porines. Le second est lié à l'expression de β -lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes, les carbapénémases (**Nordmann et Carrer 2010**).

L'émergence et la propagation dans le monde des entérobactéries productrices de carbapénémases est une grande préoccupation pour les services de santé public et une menace majeure pour l'efficacité des carbapénèmes tels que l'imipénème, l'ertapénème ou le méropénème, qui sont des antibiotiques de choix pour le traitement des infections dues à souches productrices de BLSE (**Akova et al., 2012**).

Les carbapénémases appartiennent à 3 classes (selon la classification d'Amblar, 1980). La classe A, comme KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapénémase*, 24 variants), la classe B métallo- β -lactamases (MBL) tels que VIM (Verona intégron encodée métallo-bêta-lactamase, 46 variants), IMP (53 variants) et NDM (New Delhi métallo-bêta-lactamase, 16 variants) et la classe D dont les OXA-48 (**Patel et Bonomo, 2013; [http: www.lahey.org](http://www.lahey.org), consulté le 6 Juin, 2016**).

Les carbapénémases de classe A, les plus fréquentes et les plus menaçantes, sont les carbapénémases de type KPC. Le spectre d'hydrolyse des KPC comprend toutes les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames), mais les activités des céphamycines et de la céftazidime sont peu modifiées. Parmi les C3G, les KPC hydrolysent le plus efficacement le céfotaxime. L'activité des KPC est partiellement inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam, ce dernier étant le plus efficace. En l'absence d'autres mécanismes de résistance associés, les KPC confèrent un degré de résistance variable aux

carbapénèmes, et peuvent être confondues avec les BLSE, surtout lors de l'analyse d'un antibiogramme en diffusion. Parmi les carbapénèmes, KPC possède l'affinité la plus élevée pour le méropénème (Cuzon *et al.*, 2010).

Les β -lactamases de classe B sont des M β L qui contiennent des ions zinc dans leur site actif. Ces enzymes hydrolysent fortement toutes les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Leur activité n'est pas inhibée ni par l'acide clavulanique ni par le tazobactam, mais par l'EDTA, qui chélate les ions zinc présents au niveau du site actif (Ganta *et al.*, 2009). NDM-1 a été signalée pour la première fois chez un patient suédois hospitalisé à New Delhi, en Inde, en 2008, et actuellement, elle a été rapportée dans le monde entier (Berrazeg *al.*, 2014). La mondialisation en raison de la forte mobilité de la population a grandement contribué à la propagation des bactéries du sous-continent indien, où NDM-1 était endémique, à d'autres régions du monde (Rolain *et al.*, 2010).

Les oxacillinases sont des pénicillinases dont le spectre s'est étendu dans certains cas aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et dans d'autres cas aux carbapénèmes. La première souche de *K. pneumoniae* productrice d'OXA-48 a été isolée en Turquie en 2003 (Poirel *et al.*, 2004). Depuis, les bactéries productrices d'oxacillinases, notamment OXA-48, ont très largement émergé dans tous les pays du pourtour méditerranéen et en Afrique (Nardmann *et al.*, 2011).

Ces carbapénémases sont réparties dans le monde entier, ont été retrouvées dans différentes espèces bactériennes et sont situées sur des éléments mobiles tels que intégrons, transposons et plasmides (Miriagou *et al.*, 2010; Carattoli, 2013).

Au cours des 10 dernières années, la colistine est restée l'un des antibiotiques de dernier recours pour le traitement des infections graves causées par les bactéries à Gram négatif et Gram positif multirésistantes aux antibiotiques (MDR), en particulier celles causées par *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* résistantes aux carbapénèmes (Biswas *et al.*, 2012). Dans la plupart des cas, la colistine est le seul antibiotique efficace disponible contre ces agents pathogènes multirésistants (Biswas *et al.*, 2012). Les bactéries à Gram négatif peuvent utiliser plusieurs stratégies pour se protéger contre la colistine en apportant des modifications dans le lipopolysaccharide (LPS) par l'addition du phosphoéthanolamine ou 4-amino-4-arabinose, ou de la perte des LPS. Ceux-ci incluant des mutations dans les gènes *pmrA* /*pmrB*, *phoP*/*phoQ*, *mgrB* et *lpxCAD* (Olaitan *et al.*, 2014).

Dans *The Lancet Infectious Diseases*, Liu et ses collaborateurs en 2015 ont rapporté pour la première fois la résistance à la colistine par médiation plasmidique chez des souches d'*E. coli* isolées à partir d'animaux, de nourriture et de patients en Chine (**Liu et al., 2015**). Le gène nommé *mcr-1* impliqué dans cette résistance plasmidique code une phosphoéthanolamine transférase capable de modifier le fragment de lipide A de LPS avec phosphoéthanolamine, conduisant à une interaction électrostatique réduite entre la colistine et le LPS. Récemment, il a été rapporté que le gène codant la phosphoéthanolamine transférase était le support moléculaire de la résistance à la colistine dans une souche clinique de *Shewanella algae*, mais ce gène était à médiation chromosomique (**Telke et Rolain, 2015**). Le scénario inquiétant de la Chine est que le gène de phospho-transférase est située sur un plasmide transférable, pHNSHP45, qui peut être facilement mobilisable dans *E. coli* et confèrent la résistance à la colistine. Le plasmide a également été en mesure de conférer une résistance chez *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* par l'intermédiaire d'une transformation, ce qui indique l'aptitude du plasmide à conférer la résistance à la colistine à l'extérieur de la famille des *Enterobacteriaceae*, comme chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires (**Telke et Rolain, 2015**).

La faune a été signalée comme un réservoir potentiel de bactéries résistantes (**Allen et al., 2010 ; Guenther et al., 2011**), et en particulier les espèces qui vivent près des humains (**Gilliver et al., 1999 ; Skurnik et al., 2006**). Les pigeons habitent les zones urbaines et rurales, en particulier coexistent avec les humains en milieu urbain et sont considérés comme des réservoirs et vecteurs de pathogènes importants et de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (**Radimersky et al., 2010**). L'adaptation de ces oiseaux aux environnements urbains est principalement attribuée à l'architecture des constructions urbaines, l'absence de prédateurs naturels et la disponibilité des aliments (**Silva et al., 2009**). La transmission de maladies infectieuses ou de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques se produit habituellement par l'ingestion de nourriture, d'eau, la manipulation des produits contaminés par leurs excréments et la dispersion de la fiente séchée de pigeons par le vent (**Marques et al., 2007 ; Oliveira et al., 2008**). Ainsi, en 1969 un seul rapport décrivant les salmonelloses et la sensibilité des souches aux antibiotiques chez les pigeons a été publié (**Lüthgen et Lucas, 1969**) et depuis le nombre de publications ne cesse d'augmenter.

A l'université de Bejaïa, une équipe de chercheurs dirigée par le Professeur TOUATI A. travaillent sur la résistance aux antibiotiques. Leurs travaux de recherches sont orientés sur la résistance aux antibiotiques des souches d'origine clinique, environnementale, alimentaire,

animaux d'élevage et de compagnie. A notre connaissance aucun travail sur la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez les pigeons n'a été publié en Algérie. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui a pour objectif d'évaluer le portage fécal de bactéries résistantes aux antibiotiques isolées de pigeons.

Pour cela nous avons adopté la démarche expérimentale suivante :

- Isolement et identification des souches de bacilles à Gram négatif résistantes aux β -lactamines ou colistine et des entérocoques résistants à la vancomycine à partir de prélèvements de fiente.
- Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques et déduction des phénotypes de résistance.

I. Prélèvements

Des prélèvements de la matière fécale fraîche des pigeons ont été effectués à l'aide d'un écouvillon stérile. Différentes régions de wilaya de la Bejaia ont été prises comme sites de prélèvements (figure 1), durant la période allant de 15-01-2016 à 15-05-2016.

Les échantillons ont été ensuite acheminés au laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Bejaia pour être analysés.

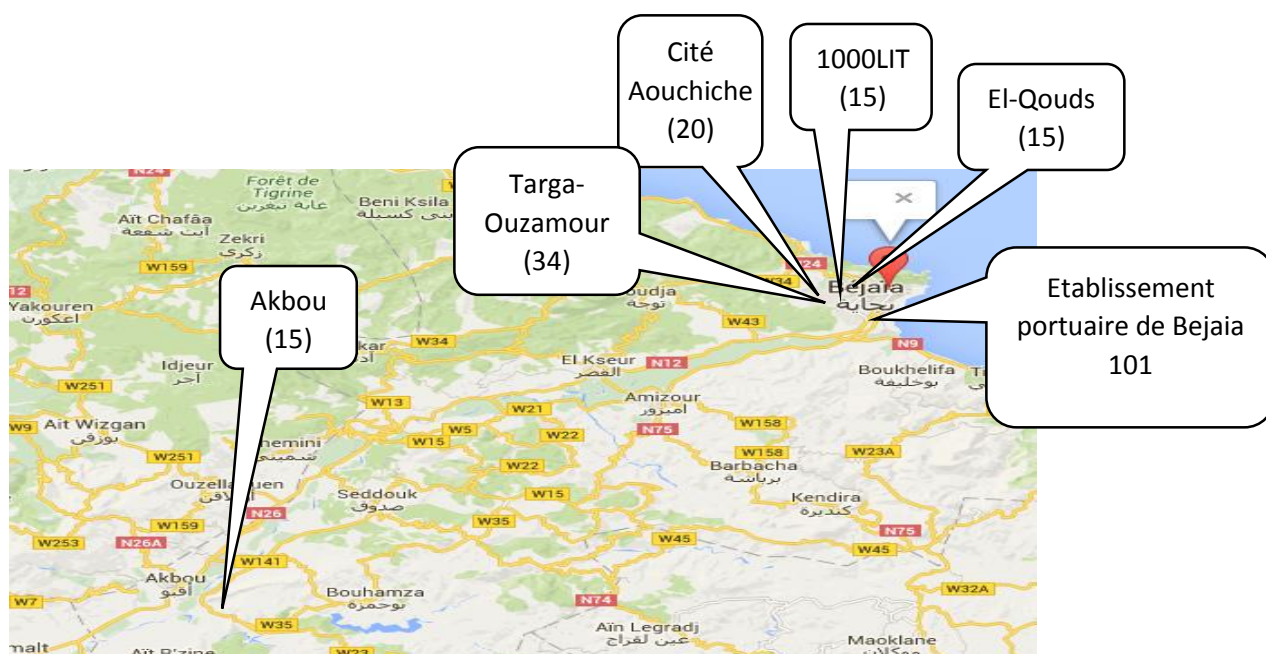


Figure 1 : Sites de prélèvements au niveau de la wilaya de Bejaia.

I.1. Enrichissement

Les prélèvements ont été enrichis dans le bouillon Trypticase de Soja (TSB) puis incubés à 37°C/24h.

II. Bactéries à Gram positif

II.1. Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine

Un enrichissement a été réalisé en ensemençant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du Bouillon Rothe additionné de vancomycine (5µg/ml) et de colistine (10µg/ml). L'incubation a été effectuée 37°C/24h.

1. Isolement

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du bouillon Rothe a été effectué sur la gélose Bile Esculine Azide de sodium (BEA) additionnée de vancomycine (5µg/ml) et de colistine (10µg/ml). Les boîtes ont été incubées à 44°C/ 24h.

2. Lecture

L'examen macroscopique des colonies isolées sur le milieu BEA montre de petites colonies translucides (de la couleur de milieu) entourées d'un halo noir. L'apparition des colonies sur le milieu BEA indique la résistance de ces bactéries à la bile et l'azide de sodium. L'apparition de couleur noir est due à l'hydrolyse du polysaccharide complexe (esculine) en libérant de l'aglucone qui est décelée par une réaction en présence de sels de fer (**Chuard et Reller, 1998**).

3. Identification des entérocoques

a) Coloration de Gram

La coloration de Gram est une coloration différentielle qui permet de différencier entre deux grands groupes bactériens : bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (Annexe II). L'aspect microscopique des bactéries après la coloration de Gram révèle des formes cellulaires en cocci, disposées en paire (diplocoque) ou en courtes chainettes de couleur violet (**Franz et Holzapfel, 2004**).

b) Croissance et résistance à la chaleur sur le Bouillon M17

A partir d'une boîte de BEA positive, on a ensemencé à l'aide d'une anse de platine le bouillon M17 avec quelques colonies. Les tubes ensemencés ont été incubés à 60°C/30min, puis incubés à 44°C/24h. La présence d'un trouble dans le tube indique que la souche pousse et résiste à la chaleur (**Terzaghi et Sandine, 1975**).

c) Croissance sur un Bouillon hyper-salé

La croissance en présence de chlorure de sodium (NaCl) donne des renseignements précieux pour l'identification. Les entérocoques sont tous capables de se développer en milieu hypersalé (6,5% de NaCl) contrairement aux streptocoques. Des tubes de Bouillon hypersalé ont été ensemencés puis incubés à 37°C/24h. La présence d'un trouble dans le tube indique un test positif (**Schleifer et Kilpper-Balz, 1987**).

d) Culture sur gélose M17

La gélose M17 a été ensemencée avec quelques gouttes d'un tube de M17 positif, ensuite un disque de vancomycine (30µg) a été déposé. L'incubation a été effectuée à 44°C /24h. Les souches ayant un diamètre de vancomycine < 12 mm sont considérées résistantes (CASFM-EUCAST, 2016).

e) Test de catalase

Sur une lame propre et sèche, quelques colonies prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur, ont été déposées, puis une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) a été ajoutée. Une réaction positive se traduit par une effervescence (Marchal *et al.*, 1982).

III. Bactéries à Gram négatif

III.1. Recherche de bacilles à Gram négatif producteurs de carbapénèmes

Un enrichissement a été réalisé en ensemencant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du TSB additionné d'Ertapénème (0,5µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du bouillon TSB a été effectué sur la gélose Mac-Conkey additionnée d'Ertapénème (0,5µg/ml) et de vancomycine (32µg /ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

III.2. Recherche de bacilles à Gram négatif producteurs de BLSE.

Un enrichissement a été réalisé en ensemencant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du TSB additionné de Céfotaxime (4µg/ml) et de vancomycine (32µg /ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du TSB a été effectué sur la gélose Mac-Conkey additionnée de Céfotaxime (4µg/ml) et de vancomycine (32µg /ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

III.3. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants à la colistine

Un enrichissement a été réalisé en ensemencant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du TSB additionné de colistine (4µg /ml) et de vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du TSB a été effectué sur la gélose Mac-Conkey additionnée de Colistine (4µg/ml) et de vancomycine (32µg /ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

III. 4. Identification

L'identification des souches isolées a été réalisée sur la base de coloration de Gram l'aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation) (tableau I) et aussi les caractères biochimiques par la réalisation d'une galerie biochimique classique (tableau II) (Denis *et al.*, 2007). La composition des différents milieux utilisés est donnée en (annexes I)

Tableau I : Aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation) (Denis *et al.*, 2007).

Espèce	Couleur de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
<i>KES-C (Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter)</i>	Colonies bleu vert à bleues avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia</i>	Colonies pâles à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaque
<i>Enterococcus Sp.</i>	Petites colonies bleu turquoise

Tableau II : Galerie biochimique d'identification des souches.

Milieu	Mode d'ensemencement	Caractère recherchés	Résultats
Bouillon nitraté	Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne, et l'incubation est réalisée à 37°C/24h.	Réduction des Nitrates en Nitrites.	Nitrate réductase+ : virage au rouge du milieu après l'ajout des deux réactifs NR I et NR II. Nitrate réductase- : Virage au jaune du milieu.
TSI	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries serrées, puis le culot par piqûre centrale et l'incubation est réalisée à 37°C/24h.	-Lactose. -Glucose. -saccharose. -Gaz. -Production d'H ₂ S.	Lactose + : virage de la pente au jaune. Saccharose+ : Virage au jaune au milieu de tube. Glucose+ : virage de culot au jaune. Gaz+ : apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose du fond de tube. Production d'H₂S : Noircissement du milieu.
Urée-Indole	On ensemence le milieu avec une suspension bactérienne, l'incubation est effectuée à 37°C/24h.	-Uréase. -Indole.	Uréase+ : Virage du milieu au rouge/ rose. Indole+ : Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs.
Clark et Lubs	Ensemencement du milieu par l'ajout de quelque goutte de la suspension bactérienne, l'incubation est réalisée 37°C/24h.	Type fermentaire.	Test VP+ : virage au rouge cerise après l'ajout des réactifs VP I et VP II. Test RM+ : Coloration rouge après l'ajout de réactif RM.

Citrate de Simmons	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries longitudinales et l'incubation est réalisée à 37°C/ 24h.	Utilisation du citrate comme seule source de Carbone.	Citrate+ : virage de milieu au bleu et une culture sur la pente.
---------------------------	--	---	---

IV. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines des bacilles à Gram négatif

IV.1. Recherche de la production de BLSE

La production d'une BLSE a été recherchée chez les souches ayant poussées sur la gélose Mac-Conkey additionnée de Céfotaxime. La recherche d'une BLSE consiste à placer des disques de céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) : céftazidime (CAZ : 30 μ g), céfotaxime (CTX : 30 μ g), à une distance de 20mm (centre à centre) d'un disque d'Augmentin (AMC : amoxicilline/clavulanate) (20 μ g et 10 μ g, respectivement) (figure 2). L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'Augmentin et les disques de céphalosporines indique la production probable d'une BLSE (**Jarlier et al., 1988**). Des disques de céfépime (FEP : 30 μ g, C4G) et de Céfoxitine (FOX : 30 μ g, C2G) ont été également testés sur la même boîte.

IV.1.1. Test de synergie sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline

Chez les souches naturellement productrices de céphalosporinases et chez les souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, la présence d'une BLSE peut être masquée du fait de l'induction de la céphalosporinase par l'acide clavulanique. Ces souches ont été testées vis-à-vis du céfotaxime et céftazidime en utilisant la gélose MH additionnée de cloxacilline (250 μ g/ml). La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE (**Drieux et al., 2008**).

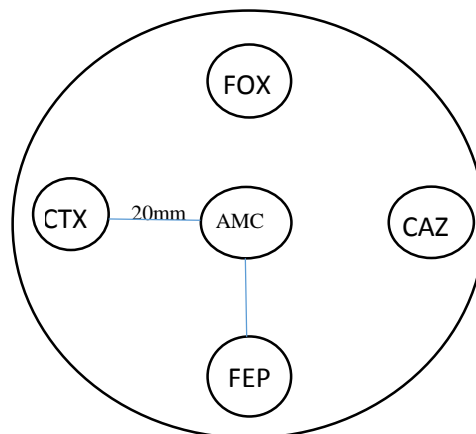


Figure 2 : La disposition des disques d'antibiotique dans le DD-Test

IV.2. Recherche de la production de carbapénèmases

IV.2.1. Carba-NP test modifié

Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénèmase. Nous avons utilisé le protocole du Carba NP test modifié décrit par **Bakour et al. en 2015**.

Un volume de 200µl de tampon de lyse (CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide 0.02 %) a été dispensé dans un tube Eppendorf. Une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes a été dissociée dans le tampon de lyse, et vortexée 1 à 2 min. Ce volume a été réparti dans 2 tubes Eppendorf (chacun 100µl) numérotés "A" et "B". On a ajouté 100µl de la solution A dans le tube "A" et 100µl de la Solution A additionnée d'Imipénème (6mg/ml) dans le tube Eppendorf "B". Ces solutions ont été vortexées et incubées à 37°C pendant un maximum de 2h. La lecture visuelle de la couleur a été réalisée dans chaque tube Eppendorf (Tableau III). Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur orange/jaune dans le tube "B", tandis que la couleur du tube "A", reste inchangée (Bakour et al., 2015).

Ce test a été réalisé en présence d'un témoin positif et négatif pour sa validation.

- **Préparation de la solution A**

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

1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5%.

- 2- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- 3- Ajouter au mélange 180µl d'une solution de ZnSO₄ (10mM) pour obtenir une concentration finale de ZnSO₄ à 0.1mM.
- 4- Ajuster le pH à 7,5 avec une solution de NaOH (1N).

Tableau III : Interprétation des résultats du carba-NP test modifié (**Bakour et al., 2015**).

Tube A	Tube B	Interprétation
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénèmases
Rouge	Jaune /orange	Production de carbapénèmases
Orange	Orange	Non interprétable

IV.2.2. Test de Hodge modifié

Le test Hodge modifié (MHT) est un test de dépistage phénotypique pour la recherche de la production de carbapénèmases. Ce test concerne les souches résistantes ou de sensibilité diminuée à l'imipénème ou à l'ertapénème. Ce test consiste à déposer un disque d'imipénème (10 µg) ou d'ertapénème (10 µg) au centre d'une boîte de gélose Mac Conkey préalablement ensemencée avec la souche de (*E. coli* ATCC 25922) (sensible à tous les antibiotiques). Ensuite la souche à tester, la souche témoin positif (*Klebsiella pneumoniae* KPC3, collection du laboratoire écologie microbienne) et la souche témoin négatif (*E. coli* ATCC 25922) ont été ensemencées sur la gélose sous forme de stries depuis le disque vers le bord de la gélose. Dix µl de la cloxacilline (75 mg/ml) ont été ajoutés sur le disque d'IMP ou ERT. L'incubation a été réalisée à 37°C/24h. La déformation de la zone d'inhibition et la formation d'un trèfle indique la production probable d'une carbapénémase (**Lee et al., 2010, CA- SFM, 2013**).

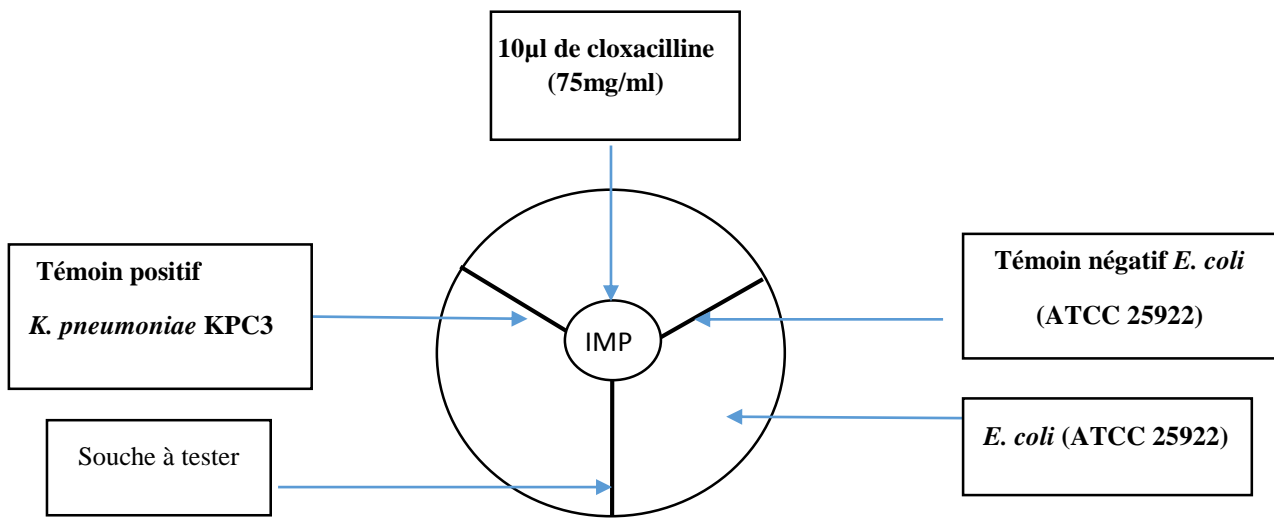


Figure 3 : Technique de Hodge test

IV.2.3. Tests aux inhibiteurs de β -lactamases

Les différents inhibiteurs testés sont schématisés dans la figure suivante.

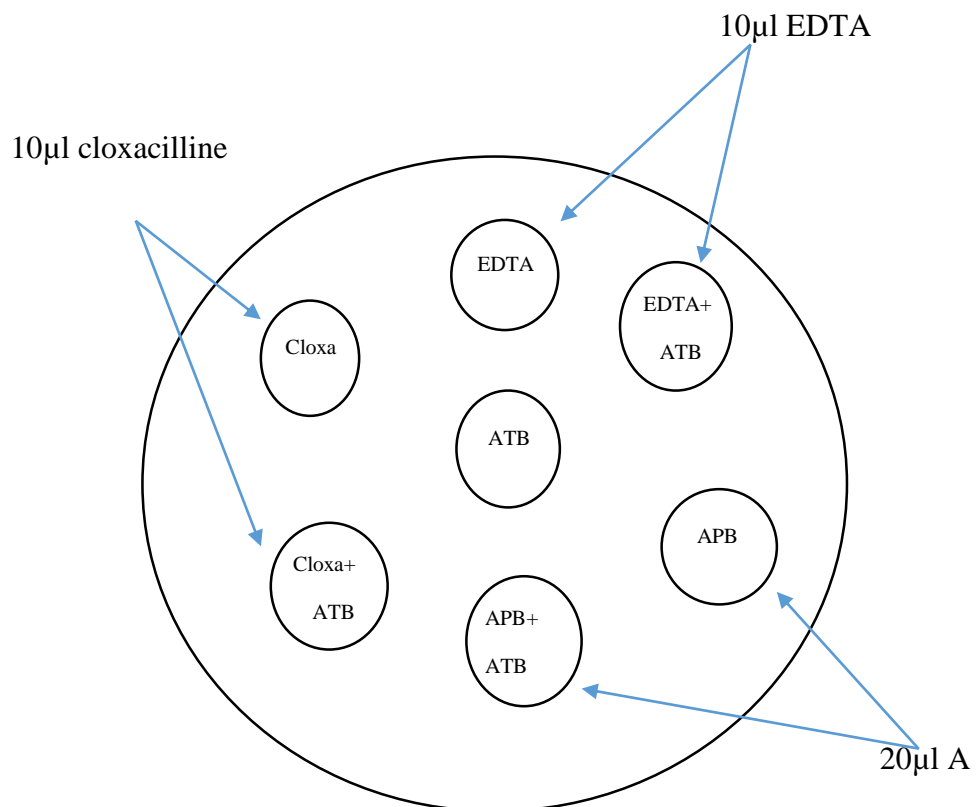


Figure 4 : Tests des inhibiteurs

Légende :

- ✓ **APB** : acide phénylboronique.
- ✓ **Cloxa** : cloxacilline.
- ✓ **ATB** : Antibiotique carbapénème.

- **EDTA**

La production d'une M β L a été recherchée en utilisant une solution stérile d'EDTA (0,5 M, pH = 8). Ce test a été réalisé en utilisant un disque d'ATB (d'imipénème ou d'ertapénème) (10 μ g) et un disque vierge imbibé avec 10 μ l de la solution d'EDTA. Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques ont été mesurés et comparés après 24 h d'incubation à 37 °C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque ATB–EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque vierge imbibé avec EDTA d'au moins 5mm ont été considérées comme souches productrices de M β L (figure 5. (a)) (**Bartolini et al., 2014**).

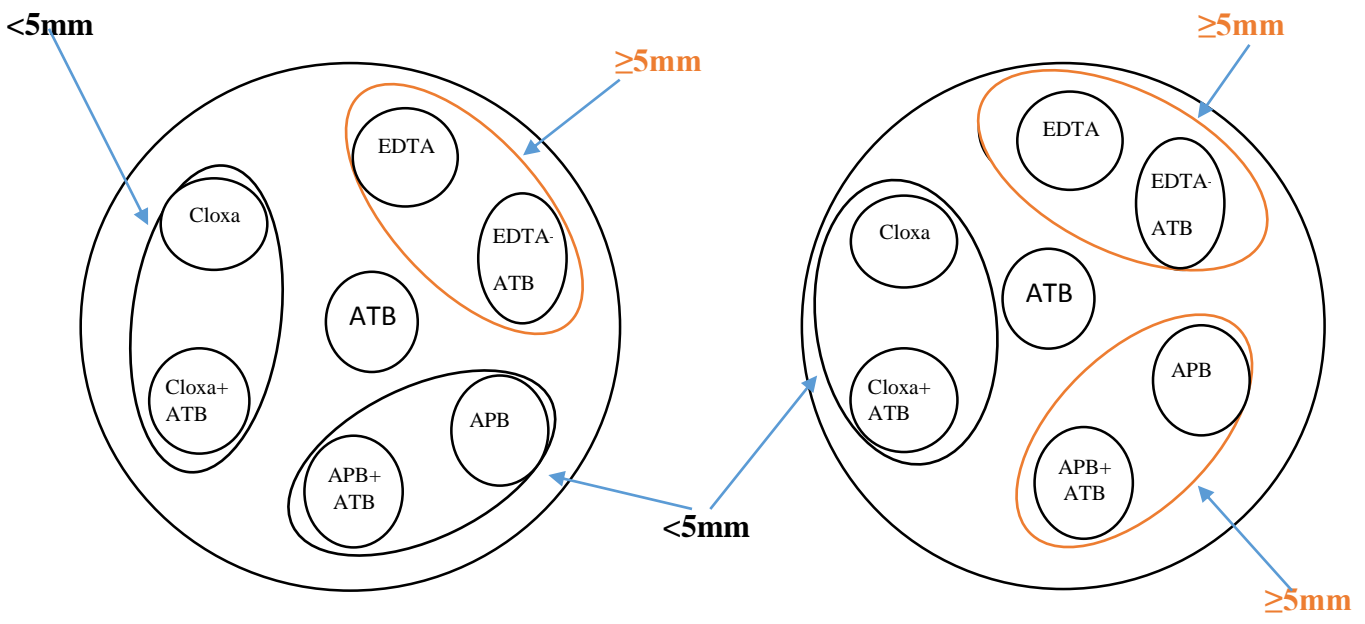
- **Cloxacilline**

Ce test a été réalisé en utilisant un disque d'ATB (d'imipénème ou d'ertapénème) (10 μ g) et un disque vierge imbibé avec 10 μ l de la solution de la Cloxacilline (750 μ g). Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques ont été mesurés et comparés après 24 h d'incubation à 37°C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque ATB–Cloxacilline est supérieur à celui obtenu avec le disque vierge imbibé avec Cloxacilline d'au moins 5mm ont été considérées comme souches productrices d'une AmpC (figure 5. (b)) (**CA-SFM, 2012**).

- **Acide phénylboronique**

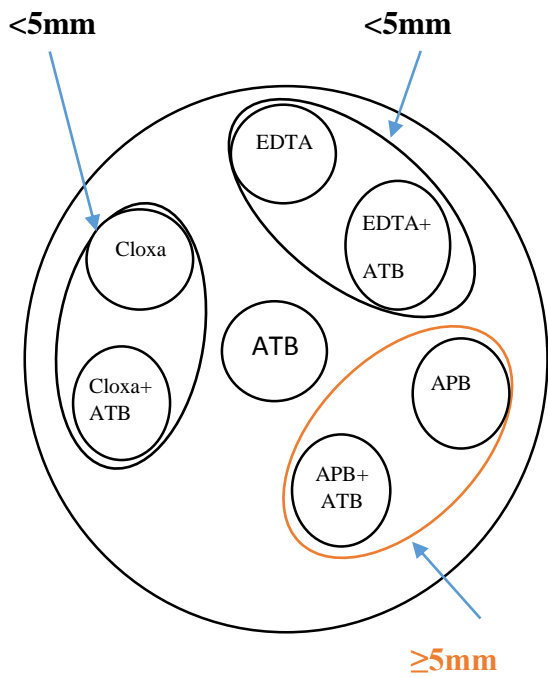
Ce test a été réalisé en utilisant un disque d'ATB (d'imipénème ou d'ertapénème) (10 μ g) et un disque vierge imbibé avec 20 μ l de la solution d'acide phénylboronique (APB) (400 μ g). Les diamètres des zones d'inhibition autour de ces disques ont été mesurés et comparés après 24 h d'incubation à 37 °C. Les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque ATB–APB est supérieur à celui obtenu avec le disque vierge imbibé avec ABP d'au moins 5mm ont été considérées comme souches productrices Carbapénémase de classe A (figure 5. (c)) (**Spyros et al., 2010**).

La lecture est schématisée dans la figure 5.



(a) : Métallo-carbapénèmase de classe B

(b) : AmpC+impermeabilité



(c) : Carbapénèmase de classe A(KPC)

Figure 5 : interprétation de test aux inhibiteurs

La lecture des tests aux inhibiteurs est résumée dans le tableau suivant :

Tableau IV : Interprétation de test aux inhibiteurs

Mécanisme	Test de Hodge	Chélateur (EDTA)	Acide boronique	Cloxacilline
Carbapénèmase de classe A=KPC	+	-	+	-
Carbapénèmase de classe B =VIM, NDM-1	+	+	-	-
Carbapénèmase de classe D=OXA	+	-	-	-
Céphalosporinase(AmpC) + imperméabilité	?	-	+	+
Ni AmpC ni KPC ni MβL	-	-	-	-

- **Test à la Témocilline**

Ce test permet de détecter les souches d'entérobactéries produisant une carbapénèmase de type OXA-48. Un disque de Témocilline (TEM, 30µg) a été déposé au centre d'une gélose sélective préalablementensemencée avec la souche à tester. La résistance à la Témocilline possède une bonne valeur prédictive positive pour les de type OXA-48. Cependant, certaines espèces sont naturellement résistante à cet antibiotique (ex *H.alvei*) (**Huang et al., 2013**). Les souches dont le diamètre d'inhibition est inférieur à 22mm sont considérées probablement productrice d'une OXA-48 (**CA-SFM, 2016**).

IV.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotiques pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La détermination de la CMI a été effectuée par la méthode de dilution en milieu solide sur la gélose de Mueller Hinton.

- **Préparation des boîtes**

Dans chaque boîte, on a déposé 18 ml de gélose MH additionnés de 2 ml de chacune des différentes concentrations de l'antibiotique (Colistine) (Tableau V).

- **Ensemencement**

A partir des suspensions bactériennes préparées, un volume de 2 μ l a été déposé sur la gélose MH par spot en deux répétitions. Les boîtes ensemencées ont été incubées à 37°C/24h. La souche *E. coli* sensible a été utilisée comme témoin négatif.

Tableau V: Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI (CASFM, 1995).

			Concentrations	
Solutions initiales mg /ml	Solution mère ml	Volume du diluant (ml)	Concentrations obtenues (mg/l)	Concentrations finales (mg/l)
5120	4	4	2560	256
5210	2	2	6	128
5210	1	7	640	64
5210	1	15	320	32
320	4	4	160	16
320	2	6	80	8
320	1	7	40	4
320	1	15	20	2

I. Les souches bactériennes

270 souches ont été isolées incluant 25 souches (9,25%) sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime, 68 souches (25,18%) sur gélose Mac Conkey additionnée d'értapénème et 90 souches (33,33%) sur gélose Mac Conkey additionnée de colistine. Soixante-cinq souches (24,07%) ont été isolées sur gélose BEA additionnée de vancomycine.

II. Sensibilité des souches aux antibiotiques

II.1. Les entérocoques

Afin de caractériser les souches isolées, un ensemble de tests a été effectué. Tout d'abord, les bactéries ont été isolées sur un milieu sélectif (BEA) dans le but de décrire et reconnaître la forme, la couleur et les bornes des colonies isolées (examen macroscopique). Par la suite, une coloration de Gram et un test de catalase ont été réalisés sur l'ensemble des isolats pour déterminer aussi bien leur type de Gram, leur forme et leur organisation cellulaire (type d'agencement), mais également l'activité de l'enzyme catalase qui est un caractère commun au sein d'un genre bactérienne. Enfin et afin de distinguer entre les entérocoques et les streptocoques, des tests de résistance à la chaleur (60C° pendant 30min) ainsi qu'une croissance sur le bouillon hypersalé (6,5% NaCl) ont été établis. L'ensemble des résultats de la caractérisation des souches isolées sont rapportés dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI: Caractéristiques des souches isolées sur gélose BEA.

Code	Isolement Sur BEA	Gram	Catalase	Résistance à la chaleur	Croissance sur B. hypersalé	Diamètre de vancomycine (mm)	Chromagar
PG 29	+	NT	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 41	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 53	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 79	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 83	+	NT	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 102	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 110	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 150	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 154	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 155	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 156	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 159	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 167	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 168	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 169	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 171	+	+	-	+	+	06(R)	Bleu-turquois
PG 40	+	+	-	+	+	10(R)	Bleu-turquois
PG 75	+	+	-	+	+	10(R)	Bleu-turquois
PG 162	+	+	-	+	+	10(R)	Bleu-turquois

Légende : (S): sensible, (R) : résistante, (+) : positif, (-) : négatif.

D'après les résultats obtenus, 19/34 souches testés sont résistantes à la vancomycine et présentant les caractéristiques des entérocoques Annexes III.

II.2. Les bacilles à Gram négatif

III. Analyses des phénotypes de résistance

- **DD-test**

Le DD-test effectué sur la gélose MH a montré la présence d'une image de synergie chez 6 souches (*E. coli*) parmi les 9 souches résistantes aux C3G, traduisant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches (figure 6). Chez les 3 autres souches (02 *E. cloacae* et 01 *Raoultella Sp*) aucune image de synergie n'a été observée. Les résultats de ce test sont résumés dans le Tableau VII. La lecture en sensible, intermédiaire et résistant a été utilisée en suivant les recommandations du CASFM, 2013 et du CASFM-EUCAST, 2016.

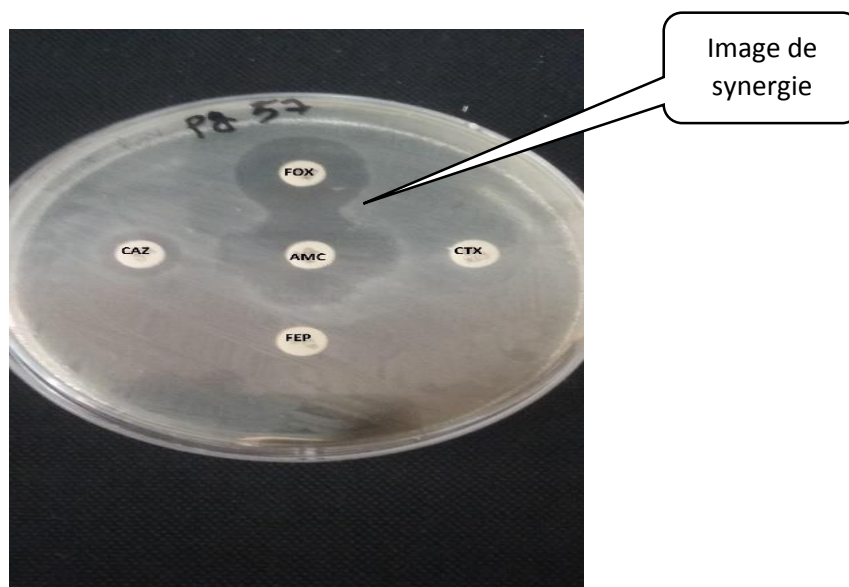


Figure 6 : Image de synergie obtenue par le DD-test pour la souche *E. coli* PG57.

Légende : AMC : Amoxicilline-Acide clavulanique, FOX : Céfoxitine, CTX: Céfotaxime, CAZ : Céfétazidime, FEP : Céfépime.

Tableau VII : résultats du DD-test chez les souches productrices de BLSE

Code	Espèce	Antibiotique					Synergie	Phénotype probable
		Diamètre (mm)						
		AMC	CTX	FOX	CAZ	FEP		
PG 50	<i>E. coli</i>	15(R)	6(R)	20(S)	6(R)	6(R)	+	BLSE
PG 54	<i>E. coli</i>	15(R)	6(R)	20(S)	6(R)	6(R)	+	BLSE
PG55	<i>E. coli</i>	6(R)	6(R)	20(S)	6(R)	6(R)	+	BLSE
PG56	<i>E. coli</i>	10(R)	6(R)	21(S)	6(R)	6(R)	+	BLSE
PG57	<i>E. coli</i>	11(R)	6(R)	21(S)	10(R)	6(R)	+	BLSE
PG68	<i>E. coli</i>	10(R)	6(R)	20(S)	6(R)	6(R)	+	BLSE

• **DD-test sur gélose Mueller-Hinton additionnée de cloxacilline**

L'image de synergie peut être masquée par présence de l'activité céphalosporinasiq (chromosomique ou plasmatique). 03/09 souches (1 *Raoultella Sp* et 2 *E. cloacae*) résistantes à la céfoxitine ont été testées une seconde fois sur gélose MH additionnée de cloxacilline à une concentration de (250 µg/ml). Cela a permis la restauration de l'image de synergie chez la souche *Raoultella sp* PG 67 indiquant la production probable d'une BLSE en plus d'une AmpC plasmidique (figure 07). Les deux souches d'*E. cloacae* présentaient une récupération de la zone d'inhibition (≥6mm) rendant compte de la présence possible d'une céphalosporinase chromosomique (hyperproduction d'AmpC naturelle). Les résultats de DD-test avec cloxacilline sont donnés dans le Tableau VIII.



a : sans cloxacilline



b : avec cloxacilline

Figure 7 : Le DD-test pour la souche *Raoultella sp* PG67 avec et sans cloxacilline

Tableau VIII: Résultats du DD-test sur gélose MH avec cloxacilline

Code	Espèce	Antibiotique					Synergie	Phénotype
		Diamètre (mm)						
		AMC	CTX	FOX	CAZ	FEP		
PG67	<i>Raoultella Sp.</i>	12(R)	16(R)	20(S)	6(R)	6(R)	+	BLSE+AmpC Plasmidique
PG66	<i>E. cloacae</i>	19(S)	25(S)	20(S)	22(S)	30(S)	-	Hyperproduction de céphalosporinase
PG62	<i>E. cloacae</i>	20(S)	22(S)	21(S)	20(R)	30(R)	-	Hyperproduction de céphalosporinase

Légende : (+) : Présence d'une image de synergie.

• **Carba-NP test modifié**

Le carba-NP test effectué sur les 24 souches d'entérobactéries résistantes ou de sensibilité diminuée aux carbapénèmes (tableau V, annexe V) a révélé la production de carbapénèmases chez 20 souches (carba-NP test positif) (figure 8). Il est non interprétable chez 04 souches. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau IX.

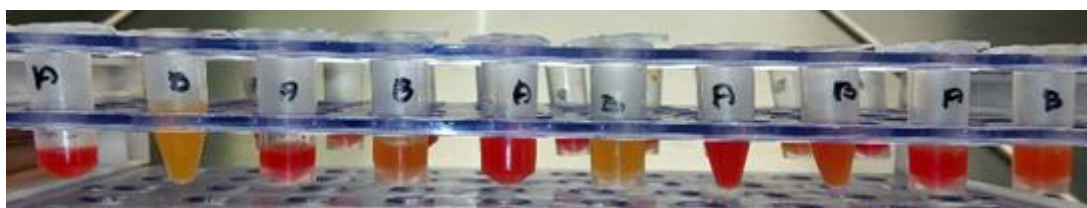


Figure 8 : Exemple de résultats de Carba NP test modifié.

Tableau IX : Résultats du carba-NP test modifié.

Code	Souches	Tube A	Tube B	Durée de l'apparition de couleur	Interprétation
PG49	<i>Acinetobacter</i> sp	Rouge	Jaune/orange	01 minute	Production de carbapénèmase
PG 47	<i>Citrobacter</i> sp	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG53	<i>E. coli</i>	Orange	Orange	01 minute	Non interprétable
PG85	<i>E. coli</i>	Orange	Orange	01 minute	Non interprétable
PG 62	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG107	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune/orange	01h30	Production de carbapénèmase
PG108	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	20 minutes	Production de carbapénèmase
PG134	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune/orange	01 minute	Production de carbapénèmase
PG54	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune/orange	15 minutes	Production de carbapénèmase
PG55	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG56	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG59	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG61	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	15 minutes	Production de carbapénèmase
PG72	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG87	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	15 minutes	Production de carbapénèmase
PG99	<i>E. coli</i>	Rouge	Jaune	01h30	Production de carbapénèmase
PG58	<i>K. pneumoniae</i>	Orange	Orange	01 minute	Non interprétable
PG95	<i>K. pneumoniae</i>	Orange	Orange	01 minute	Non interprétable

Résultats

PG101	<i>K. pneumoniae</i>	Rouge	Jaune	01h30	Production de carbapénèmase
PG102	<i>K. pneumoniae</i>	Rouge	Jaune/orange	01 minute	Production de carbapénèmase
PG111	<i>K. pneumoniae</i>	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG126	KES-C	Rouge	Jaune/orange	01 minute	Production de carbapénèmase
PG146	KES-C	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase
PG75	KES-C	Rouge	Jaune	01 minute	Production de carbapénèmase

Légende : KES-C : *Klebsiella-Enterobacter-Serratia-Citrobacter* sur Chromagar.

- **Test de Hodge modifié**

Le test de Hodge était positif chez 24 souches testées indiquant la production probable d'une carbapénèmase (figure 9). Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VI en annexe VI.

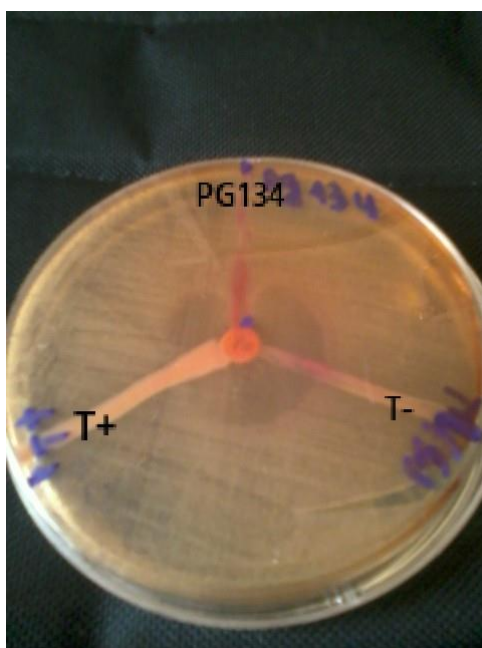


Figure 9 : Résultat du test de Hodge positif pour la souche *E. coli* PG134.

Légende :

T+ : *K. pneumoniae* KPC3

T- : *E. coli*

PG134 : souche à tester

- **Test des inhibiteurs**

Pour la détection des phénotypes de résistance aux carbapénèmes, des tests aux inhibiteurs de β -lactamases et un test à la témocilline ont été effectués sur un total de 24 souches. Les différents phénotypes de résistance probables de ces souches sont résumés dans le tableau X.

Remarque :

Les résultats obtenus sont interpréter avec beaucoup de précautions car l'inoculum utilisé n'est pas standardisé.

Tableau X : Phénotype probables des souches résistantes aux carbapénèmes

Code	ATB (mm)	Tests aux inhibiteurs										Phénotype	Souche
		EDTA (mm)	EDTA + ATB (mm)	≠	A.b	A.b+ ATB (mm)	≠	Clox (mm)	Clox+ ATB (mm)	≠	Test témocilline		
PG 47	IMP (12)	20	20	00	6	12	00	20	20	00	10	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>Citrobacter sp.</i>
PG49	IMP(06)	20	35	15	8	33	25	20	32	12	06	Carbapénèmases de classe B +AmpC	<i>Acinetobacter sp.</i>
PG53	IMP(19)	22	25	03	06	10	00	06	10	00	06	Carbapénèmase de classe D : OXA-48 LIKE	<i>E. coli</i>
PG54	ERT(25)	20	25	03	06	25	00	06	25	00	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>
PG55	ERT(23)	20	18	00	06	13	00	06	10	00	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>
PG56	IMP(20)	20	25	5	06	18	02	06	18	00	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>
PG59	ERT(13)	20	30	10	06	30	17	20	30	10	06	AmpC + Carbapénèmase de classe B	<i>E. coli</i>
PG61	IMP(06)	22	22	0	06	25	16	06	22	19	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE+AmpC	<i>E. coli</i>
PG 62	ERT(06)	20	25	5	06	23	18	06	24	17	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE + AmpC	<i>E. coli</i>
PG72	IMP(20)	20	30	10	06	26	06	06	30	10	06	AmpC + Carbapénèmase de classe B	<i>E. coli</i>
PG85	ERT(22)	20	30	08	06	25	03	18	25	03	20	Carbapénèmase de classe B+OXA-48-like	<i>E. coli</i>
PG87	ERT(25)	20	29	04	06	30	05	20	30	05	06	carbapénèmase de classe D : OXA-48-like	<i>E. coli</i>
PG99	ERT(24)	22	22	00	06	25	01	20	25	01	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>
PG107	ERT(24)	20	32	06	06	28	04	13	30	06	10	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>
PG108	IMP(20)	20	20	00	06	20	00	30	25	00	20	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>
PG134	ERT(24)	20	25	00	30	30	00	06	06	00	06	Carbapénèmase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>E. coli</i>

PG58	IMP(20)	20	30	00	06	30	10	15	20	5	20	Carbapénémase de classe D: OXA-48-LIKE + AmpC	<i>K. pneumoniae</i>
PG95	IMP(22)	10	18	00	06	06	00	06	06	00	06	Carbapénémase de classe D: OXA-48-LIKE +AmpC	<i>K. pneumoniae</i>
PG101	ERT(22)	19	25	03	06	30	08	15	30	08	20	Carbapénémase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>K. pneumoniae</i>
PG102	IMP(22)	20	30	08	06	30	08	14	30	08	20	ampC + Carbapénémase de classe B	<i>K. pneumoniae</i>
PG111	ERT(06)	15	19	04	06	06	00	06	06	00	20	impermeabilité	<i>K. pneumoniae</i>
PG75	ERT(18)	06	29	11	06	28	12	06	30	10	15	AmpC + Carbapénémase de classe B+ Class D :OXA-48-like	<i>KES-C</i>
PG126	ERT(06)	16	16	00	06	10	06	06	06	00	06	Carbapénémase de classe D: OXA-48-LIKE	<i>KES-C</i>
PG146	IMP(06)	18	18	00	06	13	08	06	11	05	10	Carbapénémase de classe D: OXA-48-LIKE+ AmpC	<i>KES-C</i>

Légende : **EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-Acétique, **ATB** : antibiotique, **≠** : différence, **A.B** : acide boronique, **CLOX** : cloxacilline, **KES-C** : *Klebsiella-Enterobacter-Serratia-Citrobacter*.

IV. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) chez les BGN résistants à la colistine.

Les CMI ont été déterminées pour les 90 souches vis-à-vis de la colistine, nous avons retenus que les souches ayant des CMI $\geq 4\mu\text{g/ml}$. Les résultats obtenus sont montrés dans le tableau XI.

Tableau XI: Résultats des CMI vis-à-vis de la colistine.

Code	Chromagar	2 $\mu\text{g/ml}$	4 $\mu\text{g/ml}$	8 $\mu\text{g/ml}$	16 $\mu\text{g/ml}$	CMI	Souche
PG03	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG15	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG54	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG59	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG60	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG87	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG103	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG28	Bleu-violet	+	-	-	-	4 $\mu\text{g/ml}$	<i>K. pneumoniae</i>
PG04	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG20	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG53	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG56	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG129	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>Enterobacter sp</i>
PG13	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>K. oxytoca</i>
PG55	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>K. pneumoniae</i>
PG67	Bleu-violet	+	+	-	-	8 $\mu\text{g/ml}$	<i>K. pneumoniae</i>

D'après les résultats obtenus, on note que 08 souches (7 *Enterobacter sp*, 1 *K. pneumoniae*) ont des CMI égales à 4 $\mu\text{g/ml}$, et 08 souches ont des CMI égales à 8 $\mu\text{g/ml}$ (1 souche *K. oxytoca*, 2 *K. pneumoniae*, 5 *Enterobacter sp*).

La résistance aux antibiotiques a été connue comme un émergent problème mondial à la fois dans la médecine humaine et vétérinaire et l'utilisation des antimicrobiens est considéré comme le facteur le plus important pour l'émergence, la sélection et la distribution des bactéries résistantes aux antibiotiques (**Winokur et al., 2001**).

Les animaux sauvages peuvent acquérir la résistance aux antibiotiques de plusieurs manières. Premièrement, plusieurs activités humaines (par exemple des exploitations agricoles, paramètres cliniques vétérinaires et humains ou les installations de traitement des eaux usées et les décharges) peuvent entraîner des interactions avec la faune, qui peut avoir une association directe avec les profils de résistance aux antibiotiques des bactéries intestinales des animaux sauvages (**Santos et al., 2013**). Deuxièmement, les animaux sauvages peuvent être un réservoir des bactéries résistantes aux antibiotiques et des gènes de résistance, au potentiel à longue distance de diffusion dans l'environnement. Enfin, les populations d'animaux sauvages sont une source possible des bactéries résistantes aux antibiotiques qui peuvent coloniser ou infecter le bétail et les humains (**Allen et al., 2010; Santos et al., 2013**).

Des pigeons sauvages sont connus comme des réservoirs des microorganismes pathogènes zoonotiques (**Simpson, 2002**). Des études ont montré la prédominance des bactéries résistantes aux antibiotiques a augmenté principalement dans des isolats de bactéries pathogènes tels que les salmonelles (**Parade et Threlfall, 2008**). Les pigeons urbains sauvages entrent en contact étroit avec des humains et des animaux, et ils peuvent contribuer à la diffusion des agents infectieux incluant les bactéries résistantes aux antibiotiques.

Nos résultats ont montré qu'il existe un taux d'antibiorésistance considérable parmi les souches isolées de matières fécales de pigeons urbains. Des souches résistantes aux antibiotiques très utilisés en clinique (C3G, C4G, carbapénèmes et vancomycine) ont été isolées, même si a priori, les pigeons n'ont pas reçu de traitements antibiotiques.

Dans notre étude, nous avons isolé des souches d'entérocoques résistants à la vancomycine, des souches d'entérobactéries productrices de BLSE/AmpC (*E. coli*, *Raoultella sp*), des BGN producteurs de carbapénèmases (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Citrobacter sp*, *Acinetobacter sp*) et des souches d'*Enterobacter sp*, *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* ont été identifiées résistante à la colistine. Le taux de potage fécal de bactéries multirésistantes est de 31,5% (63/200).

En Algérie, peu de travaux sont menés sur les entérocoques résistants à la vancomycine. En utilisant les mots clés « *Enterococcus* vancomycin resistance algeria » dans la base de données pubmed, 3 études seulement ont été rapportées (**Aggoune et al., 2008 ; Djahmi et al., 2012 ; Moissenet et al., 2015**). Les ERV n'ont pas été rapportées chez les animaux en Algérie. Durant cette étude, nous avons observé un taux de portage fécal de 9,5% des souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine. Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Radhouani et al. 2010a ; Radhouani et al. 2010b** dans le cas de mouettes et buzzards en (Portugal) (prévalence de 9- 10.5%). Cependant, il est relativement élevé comparé à d'autres études publiées. **Oravcova et al. 2013** et **Silva et al. 2011** ont rapporté dans leur étude chez les corneilles et pigeon en Etats-Unis et aux Europe une prévalence de 1 et de 3% respectivement. Les entérocoques sont des agents pathogènes nosocomiaux importants. La résistance acquise principalement aux β -lactamines, glycopeptides et aux aminosides sont signalés dans un nombre croissant d'isolats provenant d'animaux d'élevage (**Aarestrup et al., 2000; Novais et al., 2005**), humains (**Barreto et al., 2009**) et de la faune (**Bahirathan et al., 1998 ; Poeta et al., 2005, 2007; Santos et al., 2013 ;Radhouani et al., 2010**). Il est bien connu que des espèces d'enterocoque soient considérées un potentiel réservoir des gènes de résistance aux antibiotiques qui peuvent être transférés horizontalement à d'autres bactéries, y compris les espèces pathogènes (**Capita and Alonso-Calleja, 2013**).

Plusieurs études rapportent la fréquence d'isolement des espèces *E. faecium* et *E. faecalis* résistantes à la vancomycine chez les animaux sauvages (**Santos et al., 2013**), animaux domestiques (**Kuhn et al., 2003 ; Poeta et al., 2007 ; Moura et al., 2013**) et échantillons de nourriture (**Gomes et al., 2008 ; Aslam et al., 2012 ; Klibi et al., 2013 ; Pesavento et al., 2014**).

La résistance acquise aux glycopeptides est médiée par divers mécanismes. En Europe, *vanA* et *vanB* sont des gènes les plus répandus chez les ERV. Le réservoir pour ces gènes de résistance chez l'homme est *E. faecium*, la résistance à la vancomycine chez *E. faecalis* est rare (**Willems et al., 2005; 2007**). 2% des isolats d'*E. faecalis* ayant une résistance acquise à la vancomycine codée par le gène *vanA* ont été détectés chez les pigeons dans une étude réalisée en République Tchèque (2010). En République tchèque, les isolats de ERV chez les humaines et animaux sont principalement identifiés chez *E. faecium* portant le gène *vanA* suivi par *E. faecalis* portant le gène *vanB* (**Kolar et al., 2002, 2005, 2006**). Les données concernant les ERV dans la faune sauvage sont limitées. En effet, les ERV ont été isolées chez des sangliers (**Poeta**

et al., 2007), des lapins (Figueiredo et al., 2009) et busards (Radhouani et al., 2010) au Portugal, avec des prévalences allant de 3 à 9%.

Les entérobactéries peuvent facilement diffuser dans les différents écosystèmes par le biais de la chaîne alimentaire et de l'eau. L'émergence et la diffusion de la résistance chez les entérobactéries représentent une sérieuse menace pour la santé publique (Santos et al., 2013). Nos résultats ont montré qu'il existe un taux d'antibiorésistance considérable parmi les souches isolées chez les pigeons. Les souches isolées étaient résistantes aux C3G, C4G, carbapénèmes et/ou colistine.

Le mécanisme le plus fréquemment incriminé dans la résistance aux C3G étant la production de β -lactamases de type BLSE. En Algérie, des études réalisées chez la volaille, poissons et animaux de compagnie ont rapporté la présence des enzymes BLSE (Belmahdi et al., 2016 ; Brahmi et al., 2015 ; Yousfi et al., 2016), cependant, ce mécanisme de résistance chez les pigeons est encore inconnu. Durant cette étude, 7 souches sont retrouvées productrices de BLSE (3,5% ; 7/200). Des résultats similaires ont été rapportés par Hasan et al. 2013 (5%) dans leur étude chez les pigeons (Bangladesh). Dans l'étude de Bonnedahl et al., 2009 effectuée sur des Goélands leucophées sauvages en France, la prévalence de souches productrices de BLSE était de 9,4%. Dans d'autres études chez les pigeons, la prévalence des BLSE a été significativement plus élevée par rapport à nos résultats. Ainsi, les pigeons urbains sauvages ont été étudiés au Brésil, et les BLSE ont été détectées dans 38% des souches d'*E. coli* (Silva et al., 2009). Les auteurs concluent que les habitudes alimentaires des pigeons et un contact étroit avec les humains dans les zones urbaines pourraient les contaminer avec des bactéries cliniquement importantes ou des résidus d'antibiotiques. En Algérie, plusieurs auteurs ont rapporté la dissémination des gènes BLSE (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV-12}, ...etc) et AmpC (*bla*_{CMY}, *bla*_{DHA},...etc) en milieu hospitalier et extrahospitalier.

Touati et al., 2006 ont rapporté des souches cliniques d'*E. coli* productrices de CTX-M-15 isolées de plusieurs hôpitaux de Béjaïa et Gharout et al., 2012 ont rapporté des souches d'*E. coli* communautaires productrices de *bla*_{CMY-4} et/ou CTX-M-15 (Gharout et al., 2012 ; Gharout et al., 2015). Brahmi et al., 2015 ont rapporté des souches d'*E. coli* productrices de

CTX-M isolées du poisson. Les enzymes CTX-M-15 ont été récemment rapportées chez des animaux de compagnie (Yousfi et al., 2016).

Concernant les carbapénèmes, 20 souches (10%, 20/200) sont probablement productrices de carbapénémase au cours de notre étude. Plusieurs études ont signalé la présence des bactéries productrices de carbapénémases chez des animaux, les denrées alimentaires d'origine animale et dans leur environnement (EFSA, 2013; Fischer et al., 2012, 2013. Guerra, 2013; Poirel et al., 2011, 2012 ; Wang et al., 2012 ; Woodford et al., 2014; Zhang et al., 2013). Les carbapénémases de type NDM-1 chez *Salmonella Enterica* a été publiée par Fischer et al., 2013, chez les oiseaux sauvages.

Poirel et al., 2011,2012 ont rapporté des *Acinetobacter baumannii* exprimant des carbapénémases OXA-23 isolés chez les bovins en France. En ce qui concerne la résistance aux carbapénèmes chez des entérobactéries isolées des animaux de compagnie, en Algérie, Yousfi et al. 2016 ont rapporté la présence des enzymes OXA-48 et NDM-5. Ceux-ci indiquent que les isolats producteurs de carbapénémases sont un problème émergent et peut constituer une menace grave pour la santé publique.

Dans notre étude, 16 souches (16/200, 8%) sont probablement résistantes à la colistine avec des CMI ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. Bien que la résistance à la colistine a émergé et a connu une augmentation progressive, un haut taux de résistance n'a pas été observé principalement parce que ces mécanismes de la résistance à la colistine jusqu'à présent ont été souvent rapportés à médiation chromosomique. En outre, la propagation de la résistance à la colistine a été principalement rapportée via transmission de clones de résistant à la colistine (transmission patient à patient) (Marchaim D et al., 2011). Les clones d'organismes résistant à la colistine se sont répandus dans certains hôpitaux, mais ont pas sérieusement affecté l'utilisation de polymyxines. Ces gènes de résistance ne sont généralement pas transmissibles entre les bactéries et ainsi ne sont pas largement diffusées. (Giani T et al., 2015). Le rapport récent de Liu et al. en Chine de la résistance plasmidique à la colistine découvert chez des souches d' *E. coli* provenant de porcs, poulet, viande et les humains (patients hospitalisés) avec une prévalence aussi élevé que 28,0% (Liu Y-Y et al., 2015). Les chercheurs ont signalé que le qui plasmide portant le mécanisme de résistance colistine (mcr-1) a été facilement passé entre les souches d'*E. coli*, y compris des souches à potentiel épidémique connue, comme ST131. En

outre, le plasmide peut être transmis à des souches de *K pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les plasmides ont été assez stables, ce qui implique que même en l'absence de pression de sélection par la colistine, les plasmides seraient maintenus. Il semble que le transfert inévitable de la résistance plasmidique à la colistine va sérieusement limiter la durée de vie des polymyxines comme antibiotique de derniers recours contre les acilles à Gram négatif multirésistants (EMA, 2013). Un rapport récent a décrit la résistance à la colistine chez *E coli* isolé du porc et un patient à Laos (Olaitan AO et al., 2015).

Les pigeons pourraient jouer un rôle important dans la contamination fécale de sources d'eau potable et les cultures agricoles entourant les zones urbaines et pourraient également entrer en contact étroit avec des animaux domestiques, permettant le transfert direct des agents infectieux, pourraient favoriser également la propagation horizontale des gènes de résistance aux antibiotiques (Butaye P et al., 2002 ; Haag-Wackernagelet et al., 2004).

L'utilisation élevée d'antibiotiques non seulement en médecine humaine, mais aussi en médecine vétérinaire ou même dans l'agriculture, pourrait constituer une pression sélective pour la propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques. Ceci est devenu une menace majeure pour la santé humaine et animale dans le monde. Les animaux sauvages peuvent être considérés comme des contributeurs importants à la diffusion généralisée des gènes de résistance aux antibiotiques, et représentent un réservoir considérable des souches d'entérobactéries multi-résistantes. La connaissance des origines de la résistance aux antibiotiques dans la faune sauvage est importante pour la santé humaine en raison de l'importance croissante des maladies zoonotiques ainsi, que pour la prédiction de l'émergence des pathogènes résistants.

En perspectives, les résultats obtenus restent préliminaires et méritent d'être approfondis et complétés par :

- ✓ L'étude d'un grand nombre d'individus et différentes régions de Bejaïa.
- ✓ L'étude d'un plus grand nombre de souches.

- ✓ Caractérisation moléculaire des gènes impliqués dans la résistance et recherche d'un lien clonal entre les souches humaines et celles isolées chez les pigeons.

A

Aarestrup FM, Agerso Y, Gerner-Smidt P, Madsen M et Jensen LB. (2000). Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community broilers, and pigs in Denmark. *Diagn Microbiol Infect.* **37**, 127-137.

Aggoune N, Chabani A, Tiouit D, Naim M et Rahal K. (2008). First case of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* in Algeria. *Med Mal Infect.* **38**, 557-8.

Akova M, Daikos GL, Tzouveleki L et Carmeli Y. (2012). Interventional strategies and current clinical experience with carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect.* **18**, 439-448.

Allen HK, Donato J, Wang HH, Cloud-Hansen KA, Davies J et Handelsman J. (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *clin Microbiol Rev.* **8**, 251-259.

Ambler RP, Coulson AF, Frère JM, Ghuysen JM, Joris B, Forsman M, Levesque RC, Tiraby G et Waley SG. (1980). A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases. *Biochem J.* **276**, 269-309.

Andremont A. (2000). Consequences of antibiotic therapy to the intestinal ecosystem. *Ann Fr Anesth Reanim.* **19**(5), 395-402.

Aslam M, Diarra M.S, Checkley S, Bohaychuk V, Masson L. (2012). Characterization of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. isolated from retail meats in Alberta, Canada. *Int. J. Food Microbiol.* **156** (3), 222-230.

B

Bahirathan M, Puente L and Seyfried P. (1998). Use of yellow pigmented enterococci as a specific indicator of human and nonhuman sources of faecal pollution. *Can J Microbiol.* **44**, 1066-1071.

Bakour S, Garcia V, Loucif L, Brunel J-M, Gharout-Sait A, Touati A et Rolain J-M. (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbes New Infect.* **7**, 89–93.

Belmahdi M, Bakour S, Al Bayssari C, Touati A et Rolain JM. (2016). Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance.* **6**, 108-112.

Berrazeg M, Diene S, Medjahed L, Parola P, Drissi M et Raoult D. (2014). New Delhi metallo- β -lactamase around the world: an eReview using Google maps. *Euro Surveill.* **19**, 208-09.

Biswas S, Brunel J-M, Dubus J-C, Reynaud-Gaubert M, Rolain J-M. (2012). Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **10**, 917–34.

Bonnedahl J, Drobni M, Gauthier-Clerc M, Hernandez J, Granholm S, Kayser Y. (2009). Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M type ESBL between humans and yellowlegged gulls in the south of France. *PLoS One.* **4**,59-58.

Brahmi S, Dunyach-Rémy C, Touati A, Lavigne JP. (2015). CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin Microbiol Infect.* **3**, 18-20.

Butaye PM, Baele LA, Devriese F et Haesebrouck A. (2002). Comparison of susceptibility to antimicrobials of the enterococcal species isolated from pigeons (*Columba livia*). *Microb. Drug Resist.* **8**,215–218.

C

Canton R et Coque TM. (2006). The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol.* **9**, 466-75.

Capita R, Alonso-Calleja C. (2013). Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. *Crit, Rev, Food Sci, Nutr.* **53** (1), 11-48.

Carattoli A. Plasmids and the spread of resistance. (2013). *Int. J. Med. Microbiol.* **303**, 298–304.

Cuzon G, Naas T et Nordmann P. (2010). KPC carbapenemases: what is at stake in clinical microbiology. *Pathol Biol.* **58**, 39-45.

D

D’Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, et Rossolini GM. (2013). CTX-M-type β -lactamases a successful story of antibiotic resistance. *Int J Med Microbiol.* **303**, 305–317.

Djahmi N, Boutet-Dubois A, Nedjai S, Dekhil M, Sotto A, Lavigne JP. (2012). Molecular epidemiology of *Enterococcus* sp. isolated in a university hospital in Algeria. *Scand J Infect Dis.* **44**, 656-62.

Drieux L, Brossier F, Sougakoff W et Jarlier V. (2008). Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect.* **1**, 90-103.
eat salads, ham, and raw meat. *Food Microbiol.* **41**, 1-7.

E

Elhani D, Bakir L, Aouni M, Passet V, Arlet G et Brisse S. (2010). Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in a university hospital in Tunis, Tunisia, 1999-2005. *Clin Microbiol Infect.* **16**, 157-64.

Elhani D, Klibi N, Dziri R, Ben Hassan M, Asli Mohamed S, Ben Said L, Mahjoub A, Ben Slama K, Jemli B, Bellaj R, Barguellil F et Torres C. (2014). VanA-containing *E. faecium* isolates of clonal complex CC17 in clinical and environmental samples in a Tunisian hospital. *Diagn Microbiol Infect.* **79**, 60–63.

European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (2013). The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and foodborne outbreaks in 2011. <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/doc/3129>.

European Medicines Agency. (2013). Use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. London: EMA.

European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). (2000). EUCAST Definitive Document E.DEF 3.1, Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect.* **6**, 509-15.

F

Figueiredo N, Radhouani H, Goncalves A, Rodrigues J, Carvalho C, Igrejas G and Poeta, P. (2009). Genetic characterization of vancomycin-resistant enterococci isolates from wild rabbits. *J Basic Microbiol.* **49**, 491–494.

Fischer J, Rodriguez I, Schmoger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra B. (2012). *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 1793–1795.

Fischer J, Rodriguez I, Schmoger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra, B. (2013a). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**, 478–480.

Franz C, Holzopfel W H et stile M. (1991). *Enterococci* at the crossroads of food safety. *Int J Food Microbiol.* **74**,1-24.

G

Ganta SR, Perumal S, Pagadala SR, Samuelsen O, Spencer J, Pratt RF et Buynak Gharout-Sait A, Touati A, Benallaoua S, Guillard T, Brasme L, Madoux J, de Champs C. (2012). CTX-M from communityacquired urinary tract infections in Algeria. *Afr J Microbiol Res.* **6**, 5306-13.

Gharout-Sait A, Touati A, Benallaoua S, Guillard T, Brasme L, Madoux J, de Champs C. (2012). CTX-M from communityacquired urinary tract infections in Algeria. *Afr J Microbiol Res.* **6**, 5306-13.

Gharout-Sait A, Touati A, Guillard T, Brasme L, de Champs C. (2015). Molecular characterization and epidemiology of cefoxitin resistance among *Enterobacteriaceae* lacking inducible chromosomal *ampC* genes from hospitalized and nonhospitalized patients in Algeria: description of new sequence type in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Braz J Infect Dis.* **19**,187-95.

Giani T, Arena F, Vaggelli G. (2015). Large nosocomial outbreak of colistin-resistant, carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* traced to clonal expansion of an mgrB deletion mutant. *J Clin Microbiol.* **53**, 3341–44.

Gilliver MA, Bennett M, Begon M, Hazel SM et Hart C A. (1999). Antibiotic resistance found in wild rodents *Nature.* **401**, 233–234.

Gomes B C, Esteves C T, Palazzo I C V, Darini A L C, Felis G E, Sechi L A,Franco B D G M, De Martinis E C P. (2008). Prevalence and characterization of *Enterococcus C* spp. isolated from Brazilian foods. *Food Microbiol.* **25** (5), 668-675.

Grall N, Andreumont A, Armand-Lefèvre L. (2011). Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse ? *J Anti Infect.* **16**, 1-16.

Grobbe M, Lubke-Becker A, Alesik E, Schwarz S, Wallmann J, Werckenthin C et Wieler LH. (2007). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfTGermVet monitoring program 2004-2006. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. **120**, 391- 401.

Grobbe M, Lubke-Becker A, Alesik E, Schwarz S, Wallmann J, Werckenthin C et Wieler LH. (2007). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfTGermVet monitoring program 2004-2006. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. **120**, 391- 401.

Guenther S, Ewers C et Wieler LH. (2011). Extended-spectrum betalactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution. Front Microbiol. **2**, 246.10.

Guerra B. (2013). An emerging problem for public health: carbapenemase-producing microorganisms are also present in food producing animals, their environment and wild birds. In: Abstracts of the 5th Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and Environment, ARAE, Ghent, Belgium. P8.

H

Haag-Wackernagel D et Moch H. (2004). Health hazards posed by feral pigeons. J Infect. **48**, 307–313.

Hammerum AM. (2012). *Enterococci* of animal origin and their significance for public health. Clin Microbiol Infect. **18**, 619–925.

Hasan B, Sandegren L, Melhus A, Drobni M, Hernandez J, Waldenstrom J, Alam M, Olsen B. (2013). Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* in wild birds and free-range poultry, Bangladesh. Emerging Infectious Diseases **18**, 2055–2058.

Hegstad K, Mikalsen T, Coque T.M, Werner G and Sundsfjord, A. (2010). Mobile genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Clin Microbiol Infect. **16**, 541–55

K

Kolar M, Pantucek R, Bardon J, Vagnerova I, Typovska H, Valka I and Doskar J. (2002). Occurrence of antibiotic-resistant bacterial strains isolated in poultry. *Vet Med (Praha)*. **47**, 52–59.

Kolar M, Pantucek R, Vagnerova I, Kesselova M, Sauer P, Matouskova I, Doskar J, Koukalova D. (2006). Genotypic characterisation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from haemato-oncological patients at Olomouc University Hospital, Czech Republic. *Clin Microbiol Infect*. **12**, 353–360.

Koukalova D. (2005). Occurrence of vancomycin-resistant enterococci in humans and animals in the Czech Republic between 2002 and 2004. *J Med Microbiol*. **54**, 965–967.

Koukalova D. (2006). Genotypic characterisation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from haemato-oncological patients at Olomouc University Hospital, Czech Republic. *Clin Microbiol Infect*. **12**, 353–360.

Koukalova D. (2006). Genotypic characterisation of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates from haemato-oncological patients at Olomouc University Hospital, Czech Republic. *Clin Microbiol Infect*. **12**, 353–360.

Kuhn I, Iversen A, Burman L G, Olsson-Liljequist B, Franklin A, Finn M., Aarestrup F M, Seyfarth A M, Blanch A R., Vilanova X, Taylor H., Caplin J, Moreno M A, Domínguez L, Herrero I A, Mollby R. (2003). Comparison of enterococcal populations in animals, humans, and the environment—a European study. *Int, J, Food Microbiol*. **88** (2-3), 133-145.

Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD et Chong Y. (2010). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *Journal of Microbiological Methods*. **83**, 149–152.

Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R et Spencer J. (2015). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. **10**, 1016- 1473.

Loncaric I, Stalder GL, Mehinagic K, Rosengarten R, Hoelzl F et Knauer F. (2013). Comparison of ESBL – And AmpC Producing Enterobacteriaceae and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Migratory and Resident Population of Rooks (*Corvus frugilegus*) in Austria. *LOS ONE*. **8**, 840-48.

Lüthgen W et Lucas H. (1969). Therapy of pigeon salmonellosis with consideration of the resistance test. *Dtsch Tierarztl Wochenschr*. **1**, 291-3.

M

Marchaim D, Chopra T, Pogue JM, Perez F, Hujer AM et Rudin S. (2011). Outbreak of colistin-resistant, carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in metropolitan Detroit, Michigan. *Antimicrob Agents Chemother*. **55**, 593–9.

Marinho C, Silva N, Pombo S, Santos T, Monteiro R et Goncalves A. (2013). Echinoderms from Azores islands: An unexpected source of antibiotic resistant *Enterococcus spp.* and *Escherichia coli* isolates. *Mar Pollut Bull*. **15**, 456-65.

Marques SMT, Cuadros RM, Silva CJ, et Baldo M. (2007). Parasites of pigeons (*Columba livia*) in urban areas of lages, southern Brazil. *Parasitol Latinoam*. **62**, 183–187.

Martinez JL. (2009). The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. *Proc Biol Sci*. **276**, 2521-2530.

Miriagou V, Cornaglia G, Edelstein M, Galani I, Giske CG, Gniadkowski M, Malamou-Lada E, Martinez-Martinez L, Navarro F, Nordmann P, Peixe L, Pournaras S, Rossolini GM, Tsakris A, Vatopoulos A et Canton R. (2010). Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clinical Microbiol Infect.* **16**, 112–122.

Moissenet D, Richard P, Granados M, Mérens A, Fournier D, Fines-Guyon M, Arlet G et Vu-Thien H. (2015). Transfer between an Algerian and a French hospital of four multi-drug resistant bacterial strains together via a single patient. *Int J Burns Trauma.* **5**, 82-5.

Moura I, Torres C, Silva N, Somalo S, Igrejas G, Poeta P. (2013). Genomic description of antibiotic resistance in *Escherichia coli* and enterococci isolates from healthy Lusitano horses. *J, Equine Vet, Sci.* **33** (12), 1057-1063.

N

Nordmann P et Carrer A. (2010). Les carbapénèmases des entérobactéries. *Archive de Pédiatrie.* **17**, 154-162.

Nordmann P, Naas T, et Poirel L. (2011). Global spread of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* **17**, 1791–1798.

Novais C, Coque T M, Costa M J, Sousa J C, Baquero F and Peixe L V. (2005). High occurrence and persistence of antibiotic-resistant enterococci in poultry food samples in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* **56**, 1139–1143.

O

Olaitan AO, Morand S, et Rolain JM. (2014). Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* **5**, 1–18.

Oliveira AJ et Pinhata JM. (2008). Antimicrobial resistance and species composition of *Enterococcus spp.* isolated from waters and sands of marine recreational beaches in Southeastern Brazil. *Water Res.* **42**, 2242–2250.

Oravcova V, Ghosh A, Zurek L, Bardon J, Guenther S, Cizek A, and Literak I. (2013) 459 Vancomycin resistant enterococci in rooks (*Corvus frugilegus*) wintering throughout 460 Europe. *Environ Microbiol* **15**, 548-556.

P

Patel G et Bonomo RA. (2013). Stormy waters ahead: global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol.* **48**, 1–17.

Paterson DL et Bonomo RA. (2005). Extended spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* **18**, 657-86.

Pesavento G, Calonico C, Ducci B, Magnanini A, Lo Nostro A. (2014). Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus spp.* isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. *Food Microbiol.* **41**, 1-7.

Pitout JD. (2010). Infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs.* **70**, 313-33.

Plough HH. (1945). Penicillin resistance of *Staphylococcus aureus* and its clinical implications. *Am J Clin Pathol.* **15**, 446- 51.

Poeta P, Costa D, Igrejas G, Rodrigues J and Torres C. (2007). Phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in faecal enterococci from wild boars (*Sus scrofa*). *Vet Microbiol.* **125**, 368–374.

Poirel L, Héritier C et Nordmann P. (2004). Chromosome-encoded ambler class D beta-lactamase of *Shewanella oneidensis* as a progenitor of carbapenem-hydrolyzing oxacillinase. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**, 348-51.

Poirel L, Millemann Y, Bercot B, Bonnin R, Figueiredo S, Nordmann P. (2011). Carbapenemase-producing *Acinetobacter* spp. isolates in dairy cattle in France. In: Abstracts book International Congress of Anti-microbial Agents and Chemotherapy. ICAAC, Chicago, USA, Nr. C2- 1563.

Poirel L, Potron A, De La Cuesta C, Cleary T, Nordmann P et Munoz-Price LS.(2012). Wild coastline birds as reservoirs of broad-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Miami Beach, Florida. *Antimicrob Agents Chemothe.* **56**:2756-8.

Radhouani H, Pinto L, Coelho C, Sargo R, Araujo C, LopezM, Torres C, Igrejas G, Poeta P. (2010a). MLST and a genetic study of antibiotic resistance and virulence factors in *vanA* containing *Enterococcus* from buzzards (*Buteo buteo*). *Lett Appl Microbiol.* **50**, 537–541.

R

Radhouani H, Poeta P, Pinto L, Miranda J, Coelho C, Carvalho C, Rodrigues J, Lopez M, Torres C, Vitorino R, Domingues P, Igrejas G. (2010). Proteomic characterization of *vanA*-containing *Enterococcus* recovered from Seagulls at the Berlengas Natural Reserve, W Portugal. *Proteome Sci.* **8**, 48–60.

Radhouani H, Silva N, Poeta P, Torres C, Correia S, Igrejas G. (2014). Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment, and human health. *Front. Microbiol.* **5**, 23-5.

Radimersky T, Frolkova P, Janoszowska D, Dolejska M, Svec P, Roubalova E, et Literak I. (2010). Antibiotic resistance in faecal bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus spp*) in feral pigeons. *Journal of applied microbiology.* **109**, 1687–1695.

Rolain JM, Parola P et Cornaglia G. (2010). New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1): towards a new pandemic. *Clin Microbiol Infect.* **16**, 1699–701.

S

Santos T, Silva N, Igrejas G, Rodrigues P, Micael J, Rodrigues T, Resende R, Gonçalves A, Marinho C, Gonçalves D, Cunha R et Poeta P. (2013). Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus spp.* and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. *Anaerobe*. **24**, 25-31.

Schleifer K et Kilpper- Balz R. (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Enterococcus* norm As *Enterococcus faecalis* comb.nov.and *Entérococcus faecium* comb.nov. International Union of Microbiological Societes. **43**, 31-34.

Seol CA, Park JS, Sung H, Kim MN. (2014). Co-colonization of vanA and vanB *Enterococcus faecium* of clonal complex 17 in a patient with bacteremia due to vanA *E. faecium*. *Diagn Microbiol Infect*. **79**, 141–143.

Silva N, Igrejas G, Vaz J, Araújo C, Cardoso L, Rodrigues J, Torres C et Poeta P. (2011). Virulence factors in *enterococci* from partridges (*Alectoris rufa*) representing a food safety problem. *Foodborne Pathog*. **8**, 831-833.

Silva VL, Nicoli JR, Nascimento TC, et Diniz GC. (2009). Diarrheagenic *Escherichia coli* Strains Recovered from Urban Pigeons (*Columba livia*) in Brazil and Their Antimicrobial Susceptibility Patterns. *Current Microbiology*. **59**, 302–308.

Simpson V R. (2002). Wild animals as reservoirs of infectious disease in the UK. *Vet J*. **163**, 128–146.

Spyros P, Aggelik P et Athanassions T. (2010). Inhibitor-based methods for the detection of KPC carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* in clinical practice by using boronic acid compound. *J Antimicrob chemother*. **65**, 1319-1321.

Stobberingh EE et van den Bogaard AE. (2009). Spread of antibiotic resistance from food animals to man. *Acta Vet Scand Suppl*. **93**, 47-50.

T

Telke AA, Rolain JM. (2015). Functional genomics to discover antibiotic resistance genes: The paradigm of resistance to colistin mediated by ethanolamine phosphotransferase in *Shewanella* algae MARS 14. *Int J Antimicrob Agents.* **46**, 648-652.

Terzaghi BE et Sandine WE. (1975). Improved medium for *Lactis streptococcus* and their bacteriophages. *Applied Microbiology.* **29**, 807-813.

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

V

Van Hoek AH, Mevius D, Guerra B, Mullany P, Roberts AP, Aarts HJ. (2011). Acquired antibiotic resistance genes. *Front Microbiol.* **2**, 203-22.

W

Walsh TR. (2008). Clinically significant carbapenemases: an update. *Curr Opin Infect Dis.* **21**, 367-71.

Walsh TR. (2010). Emerging carbapenemases: a global perspective. *Int J Antimicrob Agents.* **36**, 8-14.

Wang Y, Wu C. (2012). Identification of New Delhi metallo- β -lactamase-1 in *Acinetobacter lwoffii* of food animal origin. *PLoS One.* **7**, 37152.

Werner G, Coque TM, Hammerum AM, Hope R, Hryniewicz W, Johnson A, Klare I, Kristinsson KG, Leclercq R, Lester CH, Lillie M, Novais C, Olsson-Liljequist B, Peixe LV, Sadowy E, Simonsen GS, Top J, Vuopio-Varkila J, Willems RJ, Witte W et Woodford N. (2008). Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill.* **20**, 13-47.

Willems R J, Top J, Van Santen M, Robinson D A, Coque T M, Baquero F, Grundmann H and Bonten M J. (2005). Global spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* from distinct nosocomial genetic complex. *Emerg Infect Dis.* **11**, 821–828.

Winokur PL, Vonstein DL, Hoffman LJ, Uhlenhopp EK et Doern GV. (2001). Evidence for transfer of CMY-2 AmpC β -lactamase plasmids between *Escherichia coli* and *Salmonella* isolates from food animals and humans. *Antimicrob Agents Chemother.* **45**:2716-2722.

Y

Yousfi M, Touati A, Mairi A, Brasme L, Gharout-Sait A, Guillard T, and De Champs C. (2016). Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria, microbial drug resistance. *Veterinary microbiology.* **10**,1089-0196

YYong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM et Chong Y. (2002). Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas spp* and *Acinetobacter spp*. *J Clin Microbiol.* **40**,3798-801.

Z

Zhang W.J, Lu Z, Schwarz S, Zhang R.M, Wang X.M, Si W, Yu S, Chen L, Liu S. (2013). Complete sequence of the blaNDM-1-carrying plasmid pNDM-AB from *Acinetobacter baumannii* of food animal origin. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**, 1681–1682.

Annexes I

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

Gélose BEA (Bille Esculine Azide) (CONDA)

Tryptone	17g
Peptone de pepsique de viande.....	3g
Extrait autolytique de levure	5g
Bile de bœuf bactériologique	10g
Chlorure de sodium.....	5g
Esculine	1g
Citrate ferrique ammoniacal	0,5g
Azide de sodium.....	0,15g
Agar agar bactériologique	13g

pH =7,1±0,2

Milieu M17 Agar

Tryptone	2,5g
Peptone de pepsique de viande.....	2,5g
Peptone papainique de soja.....	5g
Extrait autolytique de levure	2,5g
Extrait de viande.....	5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium.....	19g
Agar bactériologique	15g
Sulfate ascorbique	0,5g

Gélose EMB (Eosine Méthylène Blue) (CONDA)

Peptone	10 g
Lactose	10 g
Di potassium-hydrogène phosphate.....	02 g
Méthylène bleu	0,065g
Eosine y	0,4g
Agar.....	15g

pH : 7,1

Gélose Hektoen (CONDA)

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

pH : 7.5

Composition de Milieu Mac Conkey Agar (CONDA)

Peptone de caséine.....	17 g
Peptone de viande.....	03 g
Lactose.....	10 g
Mélange de sels biliaires.....	1,5 g
Chlorure de sodium.....	0,3 g
Rouge neutre.....	0,03 g

Cristal violet..... 0,001 g

pH : 7

Gélose Mueller Hinton (CONDA)

Infusion de viande de bœuf 30g

Peptone de caséine.....17,5g

Amidon.....1, 5g

Agar.....17g

pH : 7,4

Milieu de Citrate de Simmons :

Phosphate d'ammonium1g

Phosphate bipotassique 1g

Chlorure de sodium.....5g

Citrate de sodium.....5g

Sulfate de magnésium.....0, 20g

Bleu de Bromothymol.....0, 08g

Agar.....18g

pH : 6,9

Milieu TSI (Tree Sugar and Ion):

Extrait de viande de bœuf.....3g

Extrait de levure.....3g

Peptone.....20g

Chlorure de sodium.....5g

Citrate ferrique.....0,3g

Thiosulfate de sodium.....0,3g

Lactose.....10g

Glucose.....1g

Saccharose.....10g

Rouge de phénol.....	0,05g
Agar.....	12g

pH : 7,4

Bouillon nitraté :

Infusion de cœur de cerveau	25g
Nitrate de sodium.....	10g

pH : 7,6-7,8

Bouillon nutritif :

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

pH : 7,2

Milieu urée- indole :

Phosphate monopotassique (KH ₂ PO ₄).....	1g
Phosphate bipotassique (K ₂ HPO ₄).....	1g
Chlorure de sodium	5g
Alcool à 95°	10ml
L tryptophane.....	3g
Urée	20g
Rouge de phénol à 1%.....	0,025g

pH : 6,7

Bouillon Clark et Lubs :

Peptone.....	5g
Glucose.....	6g

Hydrogenophosphate de potassium.....5g

pH : 7,5

Bouillon de Roth :

Peptone de caséine.....20g

Extrait de viande.....1,5g

Glucose04g

Chlorure de sodium04g

Phosphate dipotassique 2,7g

Phosphate monopotassique.....2,7g

Azide de sodium.....0,2g

pH : 6,9±0,1

Composition des réactifs utilisés

NRI :

Acide sulfanilique.....0, 8ml

Acide acétique 5N.....100ml

NRII :

Diméthylamine.....0, 6ml

Acide acétique 5N.....100ml

Réactif de Kovacs :

p-diméthylaminebenzaldéhyde.....10ml

Acidechloridrique.....50ml

Alcool amylique.....150ml

Réactifs de Voges-Proskauer (VPI-VPII) :

VPI:

α -naphthol.....6g
Alcool à 90°100 ml

VPII:

NaOH 4N

Rouge de méthyle (RM) :

Rouge de méthyle.....0,5 g
Alcool éthylique à 60%100ml

Annexes II

Coloration de Gram

Réalisation du frottis

- Déposer une goutte d'eau distille sur une lame
- Prélever les bactéries à partir des boîtes de pétri.
- Emulsionner le prélèvement dans la goutte d'eau et étaler sur la lame
- Fixer à la chaleur : passer la lame 3 fois dans la flamme de bec bunsen ensuite laisser la lame refroidir

La coloration du frottis

- Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé, et laisser agir 1min puis jeter l'excès ;
- Déposer quelques gouttes de lugol, en contact quelques secondes ;
- Décolorer à l'éthanol jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5à 10 second) ;
- Rincer à l'eau rapidement ;
- Contre-colorer en déposant la fuchsine diluée pendant 1 min ;
- Rincer à l'eau et sécher la lame
- Déposer une goutte de l'huile à immersion ;

- Observer au microscope a l'objectif $\times 100$.

A l'observation, les bactéries à Gram positifs gardent leur coloration violet (violet de gentiane) après une décoloration par l'alcool. Par contre, les bactéries à Gram négatifs sont décolorées par l'alcool et seront teintées par la fuschine elles apparaitront rose.

Annexes III

Tableau I : Résultat d'identification des souches productrices de BLSE par la galerie biochimique

Code	Espèce	NIT		GLU	SACCH	LAC	H2S	GAZ	CS	VP	RM	URE	IND	EPEI
PG 50	<i>E. coli</i>	+		+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG 54	<i>E. coli</i>	+		+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG55	<i>E. coli</i>	+		+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG56	<i>E. coli</i>	+		+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG57	<i>E. coli</i>	+		+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG68	<i>E. coli</i>	+		+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG67	<i>Raoultella Sp.</i>	+		+	+	+	--	+	+	+	--	--	+	+

Tableau II : Résultat d'identification des souches productrices de carbapénèmase par la galerie biochimique classique

Code	Espèce	NIT	GLU	SACCH	LAC	H2S	GAZ	CS	VP	RM	URE	IND	EPEI
PG 47	<i>Citrobacter sp</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	NT
PG49	<i>Acinetobacter sp</i>	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NT
PG53	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG54	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG55	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG56	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG59	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG61	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG 62	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG72		+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG85	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG87	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+

PG99	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG107	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG108	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG134	<i>E. coli</i>	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	+	+
PG58	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	--	+	+	+	--	+	--	NT
PG95	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	--	+	+	+	--	+	--	NT
PG101	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	--	+	+	+	--	+	--	NT
PG102	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	--	+	+	+	--	+	--	NT
PG111	<i>K. pneumoniae</i>	+	+	+	+	--	+	+	+	--	+	--	NT
PG75	<i>KES-C</i>	+/--	+	+	+	--	+	+	--	--	+	--	NT
PG126	<i>KES-C</i>	+/--	+	+	+	--	+	+	--	--	+	--	NT
PG146	<i>KES-C</i>	+/--	+	+	+	--	+	+	--	--	+	--	NT

Tableau III : Résultat d'identification des souches résistantes à la colistine par la galerie biochimique

code	Espèce	Chromagar	GLU	SACCH	LAC	H2S	GAZ	URE	IND
PG03	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG04	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG15	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG20	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG53	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG54	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG56	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG59	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG60	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG87	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG103	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--

PG129	<i>Enterobacter sp</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	--	--
PG28	<i>K. pneumoniae</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	+	--
PG55	<i>K. pneumoniae</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	+	--
PG67	<i>K. pneumoniae</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	+	--
PG13	<i>K. oxytoca</i>	Bleu-violet	+	+	+	--	+	+	+

Tableau IV: Caractéristiques des souches isolées sur gélose BEA.

PG 54	+	NT	-	+	+	22(S)	NT
PG 62	+	+	-	+	+	24(S)	NT
PG 145	+	NT	-	+	-	24(S)	NT
PG 50	+	+	-	+	+	25(S)	NT
PG 56	+	+	-	+	+	25(S)	NT
PG 59	+	+	-	+	+	25(S)	NT
PG 67	+	+	-	+	+	25(S)	NT
PG 77	+	+	-	+	+	25(S)	NT
PG 17	+	NT	-	+	+	30(S)	NT
PG 58	+	+	-	+	+	30(S)	NT
PG 64	+	+	-	+	+	30(S)	NT
PG 73	+	+	-	+	+	30(S)	NT
PG 76	+	+	-	+	+	30(S)	NT
PG 78	+	+	-	+	NT	30(S)	NT
PG 149	+	+	-	+	-	30(S)	NT
PG02	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG05	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 07	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 08	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 09	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 10	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 11	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 12	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 22	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 25	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 26	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 27	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 28	+	NT	+	NT	NT	NT	NT

PG 33	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 36	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 37	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 42	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 43	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 44	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 51	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 52	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 55	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 70	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 72	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 85	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 99	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 112	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 129	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 142	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 143	+	NT	+	NT	NT	NT	NT
PG 144	+	NT	+	NT	NT	NT	NT

Annexes IV

Tableau IV : des antibiotiques testées et les diamètres des d'inhibition édités par le CFA-SFM, 2013 et CASFM-EUCAST, 2016.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Marque	Diamètre critiques	
					S	R
β-lactamines	Amoxicilline +acide clavulanique	AMC	30	HEMIDIA®	≥16	<16
β-lactamines	Céftazidime	CAZ	30	HEMIDIA®	≥22	<19
β-lactamines	Céfotaxime	CTX	30	HEMIDIA®	≥20	<17
β-lactamines	Céfoxitine	FOX	30	HEMIDIA®	≥19	<19
β-lactamines	Céfépime	FEP	30	Bio-Rad	≥24	<21
β-lactamines	Imipénème	IMP	10	HEMIDIA®	≥22	<16
β-lactamines	Ertapénème	ERT	10	BIO-Rad OXOID	≥25	<22
β-lactamines	Méropénème	MEM	10	OXOID	≥22	<16
β-lactamines	Témocilline	TEM	10	BIO-Rad	≥20	<11
Glycopeptides	Vancomycine	VAN	30	Bio-analyse	≥17	–

Annexes V

Tableau V : Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénèmase.

Code	Souche	Diamètre de zone d'inhibition (mm)		
		ERT	IMP	MEM
PG 47	<i>Citrobacter sp</i>	NT	06	22
PG49	<i>Acinetobacter sp</i>	NT	06	20
PG53	<i>E. coli</i>	NT	19	25
PG54	<i>E. coli</i>	19	NT	25
PG55	<i>E. coli</i>	19	NT	23
PG56	<i>E. coli</i>	NT	20	25
PG59	<i>E. coli</i>	13	NT	06
PG61	<i>E. coli</i>	NT	06	10
PG 62	<i>E. coli</i>	06	NT	06
PG72	<i>E. coli</i>	NT	20	25
PG85	<i>E. coli</i>	22	NT	30
PG87	<i>E. coli</i>	25	NT	30
PG99	<i>E. coli</i>	24	NT	25

PG107	<i>E. coli</i>	24	NT	25
PG108	<i>E. coli</i>	NT	20	25
PG134	<i>E. coli</i>	24	NT	24
PG58	<i>K. pneumoniae</i>	NT	20	25
PG95	<i>K. pneumoniae</i>	NT	20	25
PG101	<i>K. pneumoniae</i>	22	NT	22
PG102	<i>K. pneumoniae</i>	NT	22	25
PG111	<i>K. pneumoniae</i>	06	NT	06
PG75	<i>KES-C</i>	18	NT	20
PG126	<i>KES-C</i>	06	NT	06
PG146	<i>KES-C</i>	NT	06	10

Annexes VI

Tableau VI : résultats du test de Hodge

Code	Test Hodge modifié
PG 47	+
PG49	+
PG53	+
PG54	+
PG55	+
PG56	+
PG59	+
PG61	+
PG 62	+
PG72	+
PG85	+
PG87	+/-
PG99	+/-
PG107	+/-
PG108	+/-
PG134	+
PG58	+
PG95	+
PG101	+/-
PG102	+/-
PG111	+
PG75	+/-
PG126	+
PG146	+

Légende : (+) : Positif, (+/-) : Plus au moins positif

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier celui qui nous a protégé, aidé et soutenu, jusqu'à pouvoir « mener la graine au fruit » nous nous inclinons pour dire : « Dieu merci ».

Nos remerciements les plus chaleureux et les plus vifs s'adressent d'abord à notre promotrice Mme GHAROUT A. pour son encadrement, ses conseils, son orientation et ses encouragements tout au long de ce travail et que sans elle, le présent travail ne serait jamais abouti.

Nous tenons à remercier vivement Monsieur AISSAT K. d'avoir accepté de présider le jury ainsi que Mme BELAHDI K. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Je tiens également à remercier notre enseignant Monsieur le professeur Touati Abdelaziz pour ses conseils et son orientation.

Nous adressons aussi nous remerciment au responsable d'Etablissement portuaire de Bejaïa et à Monsieur ZAIDI ADNAN pour son aide précieuse pour la réalisation des prélèvements.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à Mme RAHMANI D. Ingénieure de laboratoire d'écologie microbienne pour son aide durant la période de stage pratique.

Je dédie ce modeste travail :

A mes très chers parents qui ont sacrifié beaucoup de leurs vies pour que je puisse aboutir a mon but, qu'ils trouvent dans ce travail le reflet de leurs éducations, qui ont consacré leur existence pour bâtir la mienne, qui ont toujours cru en moi, qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras.

A la lumière de mes jours, la flamme de mon cœur, la source de mes efforts, ma vie et bonheur ; ma mère Kheloudja, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a jamais cessé de prier pour moi.

A mon très cher père Lakhdar, pour ses encouragements et son soutien.

A mon très cher frère Mourad et son adorable épouse Houria, merci pour votre présence auprès de moi toujours patient avec moi malgré la distance et les circonstances.

A mes chères sœurs et leurs maris, mes frères et leurs femmes : Kahina et son marrie Samir, Farida et son marrie Hakim, Nacer et sa femme Zahra, Boukhalifa et sa femme Ourdia et ma chouchou petite sœur Karima ; pour vos main qui ont tant travaillés, pour votre cœur qui ma tant donnée, pour votre sourire qui ma tant chauffé, pour vous qui m'avez tant aimé.

Aux personnes très chers à moi qui ne font plus parti de ce monde, qui nous manque beaucoup et qui je souhaite qu'ils soient avec nous en ce moment.

A la merveilleuse et honorable grande famille « mes très cher oncles et leurs femmes, mes tantes et leurs marries, mes cousines, mes cousins, mes neveux, mes nièces en particulier Lila et Sihem. »

Aux petits boutchoux de la famille « Yanis, Sarah, Thanina, Cellina, Kenza et Omar »

A mes copines de chambre « Lila, Yasmina, Drifa et les deux Nassima »

A tous mes camarades de la promotion biomédicale 2015/2016.

A m'a chère binôme Hania.

A mes profsseurs, pour le savoir qu'ils m'a transmis et a tous ceux que me sont chers.

Tous du primaire à l'université... merci !

Aucune dédicace aussi profonde qu'elle soit ne pourra exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères sentiments. Merci pour votre éducation et les principes que vous nous avez appris, votre patience avec moi surtout quand j'avais mes sautes d'humeur, votre soutien morale et physique, vos précieux conseils et votre amour... vous êtes la plus belle famille au monde que Dieu vous protège et vous garde en bonne santé pour moi... je vous aime.

Sabrina

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

- *A la mémoire de mon très chers père que j'aimerai pour toujours que dieu l'accueille dans son vaste paradis.*
- *A l'amour de ma vie ma chère mère, que dieu me la protège.*
- *A toi mon cher frère TOUFIK qui m'a beaucoup encouragé, que dieu te protège.*
- *A mes anges adorés mes chères sœurs Radia, Ounissa, Fatiha.*
- *A mes frères Makhlouf, Mouloud, Salem.*
- *A mes nièces et neveux.*
- *A mon binôme Sabrina ainsi que sa famille*
- *A walid pour sa présence, son aide, ses conseils.*
- *A mes ami(es) Khaled, Fares, sofiane, Amir, Amer, Dinich, Karim, Bila, Hanan, Soraya, Nabila, Fariel, Dihia et à tous ceux qui sont chers.*
- *A toute la promotion MSBV 2015- 2016.*
- *A toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail de près ou de loin et ont tout fait pour que je réussisse.*

Hania

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

<i>Introduction</i>	1
---------------------------	---

Matériel et méthodes

I. Prélèvements	7
II. Enrichissement	7
II.1. Bactéries à Gram positif	7
II.2. Bactéries à Gram négatif	9
II. 3. Identification	10
III. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines des bacilles à Gram négatif	12
III.1. Recherche de la production de BLSE	12
III.2. Recherche de la production de carbapénèmases	13
III.3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des bacilles à Gram négatif résistants à la colistine	19

Résultats

I. Présentation de l'étude	20
II. Les souches bactériennes	20
III. Sensibilité des souches aux antibiotiques	20
III.1. Les entérocoques	20
III.2. Les bacilles à Gram négatif	24
IV. Analyses des phénotypes de résistance.....	24
V. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) chez BNG Résistants à la colistine.....	32

<i>Discussion et conclusion</i>	33
---------------------------------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I :	Aspect des colonies sur milieu Chromagar	10
Tableau II :	Galerie biochimique d'identification des souches	11
Tableau III :	Interprétation des résultats du carba-NP test modifié	14
Tableau IV :	Interprétation de test aux inhibiteurs	18
Tableau V :	Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI	19
Tableau VI :	Caractéristiques des souches résistantes à la vancomycine	21
Tableau VII :	Résultats du DD-test chez les souches productrices de BLSE	25
Tableau VIII:	Résultats du DD-test sur gélose de MH avec cloxacilline	26
Tableau IX :	Résultats du carba-NP test modifié	27
Tableau X :	Phénotype probables des souches résistantes aux carbapénèmes	30
Tableau XI :	Résultats des CMI vis-à-vis de la colistine	32

Tableaux en annexes

Tableau I :	Résultat d'identification des souches productrices de BLSE par la galerie Biochimique
Tableau II :	Résultat d'identification des souches productrices de carbapénémase par la galerie biochimique classique
Tableau III :	Résultat d'identification des souches résistantes à la colistine par la galerie biochimique
Tableau IV :	Les antibiotiques testées et les diamètres des d'inhibition
Tableau V :	Résultats de tests de sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénémase
Tableau VI :	Résultats du test de Hodge

Liste des figures

Figure 1 : Les différentes sites de prélèvement au niveau de la wilaya de Bejaia.	7
Figure 2 : La disposition des disques d'antibiotique dans le DD-Test	13
Figure 3 : Technique de Hodge test	15
Figure 4 : Synergie disques carbapénème avec inhibiteurs	15
Figure 5 : Interprétation de test aux inhibiteurs	17
Figure 6 : Image de synergie obtenue par le DD-test pour la souche <i>E. coli</i> PG57.	24
Figure 7 : Le DD-test pour la souche <i>Raoultella sp</i> PG67 avec et sans cloxacilline.	26
Figure 8 : Exemple de résultats de Carba NP test modifié.	27
Figure 9 : Résultat du test de Hodge positif pour la souche <i>E. coli</i> PG134.	28

Liste des Abréviations

AMC: Amoxicilline-Acide clavulanique.

AMX: Amoxicilline.

ATB : Antibiotique.

BLSE : β -lactamase à spectre élargi.

C1G: Céphalosporine de première génération.

C2G: Céphalosporines de deuxième génération.

C3G: Céphalosporine de troisième génération.

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

CAZ : Céfotazidime.

CFM : Céfépime.

CIT : Citrate.

CL : Colistine.

CTAB : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide.

CTX : Céfotaxime.

EDTA: Ethylene Diamine Tetra-Acétique.

EPC : Entérobactéries productrices de carbapénèmases.

ERT : Ertapénème

EUCAST: European committee on antimicrobial susceptibility testing.

GES : Guyane à spectre étendu.

IMP : Imipénème.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase

MBL: Métallo- β -lactamase.

MC : Mac Conkey.

MER : Méropénème.

MH: Mueller Hinton.

NDM-1: New Dehli métallo- β -lactamases-1

NR: Nitrate réductase.

OXA : Oxacillinase.

PLP : Protéines liant les pénicillines.

RM: Rouge de Méthyle.

VIM : Verone integron code metallo- β –lactamase.

VP: Voges-Proskauer.

UFC/ml: Unité Formant une colonie par millilitre.

URE : Urée.

Résumé

L'objectif de cette étude était l'isolement et l'identification de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques: entérobactéries productrices de BLSE, carbapénèmases, résistantes à colistine et des Entérocoques résistants à la vancomycine, à partir de prélèvements de matières fécales des pigeons. Un total de 200 échantillons a été effectué au niveau de différentes régions de la wilaya de Bejaia. Après isolement et identification, la sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton. Les phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été déterminés par l'utilisation de tests phénotypiques incluant le DD-test, test de Hodge, Carba NP test modifié et le test aux inhibiteurs, CMI à la colistine pour les entérobactéries et un ensemble de tests a été effectué pour caractériser les souches d'entérocoques résistants à la vancomycine.

Au total 30 souches résistantes aux β -lactamines ont été sélectionnées et un taux de potage fécal est de 15% (30/200). La caractérisation phénotypique a montré que 7 souches étaient productrices de BLSE, une souche de *Raoultella sp* était productrice d'AmpC plasmidique, 2 souches étaient résistantes aux C3G par hypereproduction d'AmpC chromosomique et 20 souches (14.63%) produisaient probablement des carbapénèmases. Seize souches d'entérobactéries ayant des CMI $\geq 4\mu\text{g/ml}$ à la colistine ont été isolées. Les résultats ont montré la présence de 19 souches d'entérocoques résistants à la vancomycine.

A notre connaissance, ceci est le premier rapport de souches multirésistantes aux antibiotiques isolées de pigeons en Algérie.

Mots-clés : pigeon, entérobactéries, entérocoques, résistance aux antibiotiques, Algérie.

Abstract

The objective of this study was isolation and identification of multi-resistant bacteria: ESBL, AmpC and carbapenemases producing *Enterobacteriaceae*, *Enterobacteriaceae* colistin resistant and vancomycin resistant enterococci, from samples of stool pigeons. 200 samples were performed at different regions of Bejaia. After isolation and identification, susceptibility of strains to antibiotics was determined by the diffusion method on Mueller Hinton agar. β -lactam resistance phenotypes were determined by using phenotypic tests including the DD-test, Hodge test, Carba NP test modified and inhibitors test. Colistin susceptibility (MICs) for *Enterobacteriaceae* were performed. A set of tests were conducted to characterize vancomycin resistant enterococci. Thirty *Enterobacteria* strains resistant to β -lactam antibiotics have been selected and a fecal rate is 15% (30/200). Phenotypic characterization showed that 7 strains were ESBL producing, one strain of *Raoultella sp* was producing plasmid AmpC, 2 strains were resistant to 3GC by hypereproduction of the chromosomal AmpC and 20 strains (14.63%) probably produced carbapenemases. Sixteen *Enterobacteriaceae* strains with colistin MICs $\geq 4\mu\text{g/ml}$ were isolated. The results showed the presence of 19 vancomycin resistant enterococci. To our knowledge, this is the first report of multiresistant *Enterobacteriaceae* isolated from pigeons in Algeria.

Key words: pigeon, Enterobacteria, vancomycin resistant enterococci, antibiotic resistance, Algeria.