

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 Moléculaire et Médicale



Réf.....

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

MASTER

Thème

**Etude de la résistance des souches bactériennes isolées
de prélèvements cliniques et chez les insectes : cas de
CHU de Bejaia et EPH de Batna**

Présenté par :
AICHI Ahlam & LAZAZI Rabeb

Soutenu le : **17 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

Mme SAIDANI K.	MAA	Président
Mme GHAROUT A.	MCB	Encadreur
Mme TAFOUKT R.	MAA	Examineur

Année universitaire : 2016 / 2017

Remerciement

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

Nous remercions :

*Notre chère promotrice, Mme GHAROUT **Alima**, pour nous avoir encadrées, Orientées, et encouragé, en nous laissant une grande liberté en toute confiance pour mener à bien ce travail.*

Nous remercions les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail.

*Nous remercions aussi à Mme **RAHMANI.D** et à*

L'équipe du laboratoire de Microbiologie de l'université

(Enseignants, doctorants, ingénieurs et étudiants) pour leur soutien et pour le matériel mis à notre disposition.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicaces

J'ai le grand honneur de dédier ce travail :

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

*A mon frère **Abd Elhak** et mes chères sœurs **Samah** et **Amira**.*

*A mon cher ami **Youcef Saghir** pour son soutien et encouragement, a qui j'adresse tous mes respects et à sa famille.*

*A mon oncle **Abdelhakim** merci mille fois.*

*A mon binôme **Ahlam** et toute sa famille.*

*A mes adorables amis : **Thiziri, Salima, Bouchra, Nassira, Sara, Sabrina, Khalissa, Sweety, Hayat, Khalissa, Linda, Razika** et **Lydia, Omar, Abd Elhamid***

A toute la promotion de sciences infirmières et MMM.

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

RABEB

Dédicaces

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

Je dédie ce mémoire :

A mes très chers parents qui m'ont guidée durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenue durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis

Merci mes parents.

A mes frères: **Walid, Khaled** et **Iyad**. Que je aime énormément.

A mes sœurs: **Bouchra** et **Amani**. À qui je souhaite toute les réussites.

A mon fiancé: **Salim** pour son soutien continu et son amour a qui j'adresse tous mes respects et à sa famille.

A ma tante **Salima** et mon cousin **Yaacoub**.

A mon binôme, sœur et meilleure amie **Rabeb** et à toute sa famille.

Je remercie aussi tous le personnel administratif de l'EPSP Arri-2. Au directeur Dr **Medjadba**, au chef service de laboratoire d'hygiène **Mokhitari Wassila**. Aussi à tout le personnel de laboratoire spécialement **Rahmani Imad** et **Bouchkjiwa Asma** et surtout **Zami Hamid** qui n'ont jamais cessé de m'encourager.

A mes très chères copines **Hanane** et **Hassina**.

A mes très amies : **Amira** et **Hayat**, **Sabrina** et **Sara**, **Hadjer**, **thiziri** et **Katia**, **Omar** et **Tarek**, **Abd elhaamid** et **Saadane**. Merci mille fois pour votre aide.

A toute la promotion de sciences infirmières et MMM.

Merci enfin à l'ensemble des personnes qui m'ont aidé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail.

Ahlam

Tableau des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste de tableau en annexe

Introduction	1
Matériel et méthodes	8
I. Souches bactériennes	
I.1.Echantillonnage.....	8
I.2.Pré-enrichissement.....	8
II. Recherche des bactéries à Gram négatif :	
II.1. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants à la céphalosporine de troisième génération	9
II-2.Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux Carbapénèm.....	9
II-3.Identification	10
II-4.Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines chez les bacilles à Gram négatif.....	12
II-4.1. Recherche de la production de la production de BLSE.....	
II-4.2. Recherche de la production de Carbapénémases	13
III-Bactéries à Gram positif : Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine	
III-1.Isolement caractérisations phénotypiques	14
III-1.1. Isolement.....	14
III-1.2.caractérisations phénotypiques.....	14
III.2.Etude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis vancomycine.....	15
III.2.1- Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu liquide	16
Résultats	
I-Souches bactériennes	17
II- Identification des souches	17
II. Détermination des phénotypes de résistance chez les bacilles à Gram négati.....	17
II-1. Recherche de la production de β -lactamases à Spectre Etendu (BLSE).....	17
II.2.Recherche de la production de carbapénémases.....	22
III. Bactéries à Gram positif	22
III.1. Caractérisations phénotypiques des souches d'entérocoques	22
III.2.Sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine.....	25
III.3.Détermination de CMI des entérocoques en milieu liquide	26
Discussion et conclusion	27
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau N° I : Phénotype de résistance aux β -lactamines associés à la production des principales BLSE de types SHV, TEM et CTX.....	4
Tableau N° II : répartition des prélèvements réalisées durant cette études.....	8
Tableau N° III : Galerie biochimique d'identification des souches	10
Tableau N° IV : Aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation.....	12
Tableau N° V : Résultats du DD-test.....	18
Tableau N°VI : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose Mueller-Hinton et Mueller-Hinton additionnée de cloxacilline.....	20
Tableau N° VII : antibiogramme de souches probablement productrices de capbapénèmases.....	22
Tableau N°VIII : Caractérisation des souches d'entérocoques isolées du CHU de Bejaia et de l'EPSP de Arris-Batna.....	24
Tableau IX : Etude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis la vancomycine.....	25
Tableau N°X : Résultats des CMI vis-à-vis de la vancomycine des souches d'entérocoques.....	26

Listes des figures

Figure 01 : Disposition des disques (DD-test)	13
Figure 02 : Test CIM	14
Figure 03 : Image de synergie de la souche <i>Enterobacter sp</i> (cop10) (à gauche) et <i>Klebsiella pneumoniae</i> (I15) (à droite).....	17
Figure 04: Antibiogramme de la souche <i>Enterobacter cloacae</i> sur gélose MH (à droite) et gélose MH+cloxacilline (à gauche).....	19
Figure 05: Antibiogramme de la souche <i>Pseudomonas sp</i> sur gélose MH (à droite) et gélose MH+cloxacilline (à gauche).....	19
Figure 06 : Résultat du Test CIM chez les souches <i>K. oxytoca</i> (C6) et <i>Acinetobacter sp</i> (F1).....	22
Figure 07 : Isolement des entérocoques sur gélose BEA	23
Figure 08 : Aspect microscopique des entérocoques après coloration de Gram.....	23

Liste des tableaux en annexes

Annexe I

Tableau I : les milieux de culture.

Tableau II : les réactifs utilisés durant cette étude.

Tableau III: compositions des milieux de culture.

Annexe II : identification des souches isolées durant cette étude.

Tableau I: Résultat d'identification des souches productrice de BLSE.

Tableau II: Résultat d'identification des souches productrice de BLSE après le test de cloxacilline par la galerie biochimique.

Tableau III: Résultat d'identification de souches résistantes aux C3G après DD-test avec cloxacilline.

Tableau IV: Résultat d'identification de souches sensibles aux C3G après DD-test avec cloxacilline.

Tableau V : Résultat d'identification des souches productrice de carbapénèmase.

Annexes III: Prélèvement réalisées au cours de cette étude.

Tableau I : Prélèvements rectaux et urinaires.

Tableau II : Prélèvement réalisées au cours de cette étude : insecte de type moustiques.

Tableau III : Prélèvement réalisées au cours de cette étude : insecte de type cafard.

Tableau IV: Prélèvement réalisées au cours de cette étude : insecte de type fourmis.

Annexe IV :

Tableau I : Antibiotiques testés.

Annexe V : Coloration de Gram.

Liste des abréviations

AMC:	Amoxicilline-clavulanate
AmpC :	Céphalosporinases
ATM :	Aztréonam
BGN :	Bacilles Gram à Négatif
BGN NF :	Bacilles Gram à Négatif Non Fermentaire
BGNF :	Bacilles Gram à Négatif Fermentaire
BL SE :	Bêta-Lactamases à Spectre Etendu
C1G :	Céphalosporines de première génération
C2G :	Céphalosporines de deuxième génération
C3G :	Céphalosporines de troisième génération
C4G :	Céphalosporines de quatrième génération
CAZ:	Céftazidime
CLOX :	Cloxacilline
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CA-SFM :	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de microbiologie
CTX:	Céfotaxime
CTX-M :	Cefotaximase-Munich
DD-test :	Double Disc synergie test
EDTA :	Ethylène Diamine Tétra-acétique
EPC :	Entérobactérie productrices des carbapénèmases
EPH :	Etablissement public hospitalier
EPSP :	Etablissement de santé publique de proximité
ERV :	Entérocoques résistantes à la vancomycine
EUCAST :	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FEP:	Céfépime
FOX:	Céfoxitine
I :	Intermédiaire
IMP:	Imipénème
KPC :	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Carbapenemase
MβL :	Métallo-bêta-lactamases
MDR :	Multi-drug-resistance
MEM :	Méropénème
NDM :	New Delhi Metallo--lactamases
OXA:	Oxacillinase
PER :	<i>Pseudomonas</i> extended resistance
R :	Résistant
S :	Sensible
TDA :	Tryptophane désaminase
TSB :	Bouillon Trypticase Soja
TSI :	Three Sugar Iron
VA :	Vancomycine
VEB:	Vietnam Extended-spectrum B-lactamase

Introduction

INTRODUCTION GENERALE

À travers l'histoire, les maladies infectieuses ont été la principale cause de mortalité au niveau mondial. De grandes pandémies ainsi que de multiples épidémies locales, répertoriées depuis l'Antiquité, ont entraîné l'effondrement de plusieurs civilisations (Kardos et Demain, 2013). A l'époque, il était admis que ces phénomènes étaient relatifs aux miasmes, une émanation provenant de la matière organique en décomposition dont la propagation était influencée par différents facteurs environnementaux (Koplan *et al.*, 1999). La corrélation entre la présence de microorganismes et le développement de maladies infectieuses a toutefois été formellement établie en 1869 par les travaux du chimiste et physicien français Louis Pasteur (1822-1895).

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important et où les germes deviennent de plus en plus résistants. De ce fait, les infections nosocomiales sont un problème de santé publique de part leur fréquence, leur coût et leur gravité qui touche aussi bien les patients, leur entourage et l'ensemble des professionnels de santé (Hosein *et al.*, 2002). Dès lors, les recherches dans le domaine médical se sont dirigées vers la recherche des agents causaux des différentes maladies et vers le développement de méthodes permettant d'éliminer ou de contrôler leur présence. La mise sur le marché de nouveaux antibiotiques par les firmes pharmaceutiques s'est appauvrie progressivement depuis les années 1980 (Bush, 2004).

Depuis leur découverte en 1928 par Alexander Fleming et dès leur utilisation durant la seconde guerre mondiale, les antibiotiques de la famille des β -lactamines ont été confrontés à l'émergence de la résistance. Les β -lactamines, représentent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibiothérapie. L'importance de leur utilisation résulte de leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité thérapeutique ainsi que le faible coût de certaines molécules (Georgopapadakou, 1993). Les β -lactamines (pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes) (Charlier *et al.*, 1998), ayant toutes en commun le cycle β -lactame.

Les β -lactamines, analogues structuraux de la terminaison D-alanyl-D-alanine du peptidoglycane, ont pour fonction d'interagir avec un groupe de protéines, appelées protéines de fixation de la pénicilline (PBP, pour Penicillin Binding Protein). Ce sont des enzymes responsables de la synthèse et du remodelage du peptidoglycane (Ghuysen, 1991, Nanninga,

1991). L'inhibition de ces enzymes (transpeptidase) par les β -lactamines, impliquées dans l'étape finale de la biosynthèse de la paroi cellulaire, le cycle β -lactame se lie de manière covalente et irréversible au site actif de l'enzyme provoquant son inactivation. Il entraîne une interruption de la synthèse du peptidoglycane et une production subséquente d'enzymes autolytiques entraînant la mort cellulaire (Stratton, 2000). Les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) et les carbapénèmes font partie des β -lactamines ayant le plus large spectre d'action à l'égard des bactéries à Gram négatif.

L'introduction des C3G au début des années 1980 a révolutionné la pratique clinique dans la lutte contre la résistance bactérienne telle que le céfotaxime et la ceftazidime (Cavallo *et al.*, 2004). Non seulement les C3G sont caractérisées par leur efficacité contre les infections nosocomiales graves, mais ils ont également l'avantage majeur d'avoir peu d'effets néphrotoxiques comparés aux autres antibiotiques tels les aminosides et les polymyxines (Paterson, 2005).

Les carbapénèmes jouent, quant à eux, un rôle crucial dans l'arsenal antibiotique. Parmi les centaines de β -lactamines, les carbapénèmes possèdent le plus large spectre d'activité et la plus grande activité antibactérienne contre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Papp-Wallace *et al.*, 2011). Ils sont utilisés lors d'un traitement empirique ou dans le traitement d'infections par des bactéries à Gram négatif résistantes aux C3G. Ils sont les seuls β -lactamines dont l'efficacité est prouvée dans les infections graves dues aux bactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Hawkey & Livermore, 2012). Il a été suggéré que cette activité est due aux effets combinés d'une meilleure pénétration de la paroi bactérienne par une voie d'absorption impliquant la porine OprD, une bonne stabilité à l'hydrolyse de la plupart des β -lactamases et une forte liaison aux PLPs (Mascaretti, 2003). Cette classe d'antibiotiques comprend le doripénème, l'ertapénème, l'imipénème et le méropénème.

Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), trois types de mécanismes de résistance, principalement acquis, ont été identifiés : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par des protéines, dénommées β -lactamases. Ces mécanismes peuvent être associés pour une souche bactérienne expliquant la multi-résistance (Philippon, 2013).

Les β -lactamases ont été identifiées en 1940 par Abraham et Chain, qui ont mis en évidence une enzyme capable d'empêcher l'action de la pénicilline chez *E. coli* ; ils la nommèrent pénicillinase (Abraham et Chain, 1940). Ce sont des enzymes hydrolysant les

β -lactamines en ouvrant le cycle β -lactame et menant à la perte d'un groupement carboxyle, provoquant l'inactivation de l'antibiotique en question (Ambler, 1980). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace périplasmique chez les bactéries à Gram négatif (Medeiros, 1984).

Les deux classifications couramment utilisées pour classer les β -lactamases sont celle d'Ambler et celle de Bush Jacoby et Medeiros. La classification fonctionnelle proposée par Bush *et al.* en 1995, mise à jour par Bush et Jacoby en 2010, est basée sur le spectre de substrat préférentiel des enzymes et sur leur comportement aux inhibiteurs. Cette classification dans laquelle les auteurs divisent ces enzymes en trois groupes avec plusieurs sous-groupe (Bush et Jacoby, 2010). La classification d'Ambler, basée sur la structure primaire des enzymes (Ambler, 1980) et qui classe les β -lactamases dans quatre classes: trois classes d'enzymes sérine-dépendantes (classes A, C, et D) et une classe de métallo- β -lactamases (classe B). Les β -lactamases de classe A ont été tout d'abord rapportées dans plusieurs souches d'entérobactéries isolées de l'environnement (*Serratia spp*, *Enterobacter spp*), produisant des β -lactamases dont l'activité était inhibée par l'acide clavulanique (Queenan *et al.*, 2007 ; Poirel *et al.*, 2007). Les β -lactamases de classe B sont des métallo-enzymes (M β L : métallo- β -lactamases) qui contiennent des ions zinc dans leur site actif. 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 (Walsh *et al.*, 2005 ; Ganta *et al.*, 2009). Les β -lactamases de classe C sont des céphalosporinases AmpC qui sont codées par des gènes qui étaient primitivement situés sur le chromosome de nombreuses bactéries à Gram négatif telles que *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter spp.*. Chez ces bactéries, l'expression de AmpC est inductible. Les gènes codant pour ces enzymes sont aussi présents chez *E. coli*, où ils ne sont pas inductibles. Ces enzymes sont résistantes à l'acide clavulanique (Philippon *et al.* 2002). Les β -lactamases de classe D correspondent aux oxacillinases de sensibilité variable vis-à-vis de l'acide clavulanique (Vodovar, 2012).

Les infections causées par des bactéries productrices de BLSE sont associées à un taux d'échec thérapeutique et de mortalité élevé (Oteo *et al.*, 2010). Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne (Knothe *et al.*, 1983) et en France en 1984 (Sirot *et al.*, 1987 ; Anastay *et al.*, 2013). Elles sont définies comme des enzymes appartenant à la classe A (À l'exception des BLSE de type OXA classe D : OXA10) de la classification d'Ambler, capables d'hydrolyser les pénicillines, C1G, C2G, C3G, C4G et

l'aztréonam. Elles sont inhibées *in vitro* par les inhibiteurs des β -lactamases (acide clavulanique, tazobactam et sulbactam) (Livermore, 1995). Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes (Paterson et Bonomo, 2005). Il s'agit d'un mécanisme de résistance de type plasmidique, et donc transmissible à d'autres bactéries (Schwaber et Carmeli, 2007).

Les BLSE sont classées selon leurs types moléculaires, les plus fréquents étant les types TEM, SHV, CTX-M (Jacoby et Munoz-Price, 2005). La majorité des BLSE de type TEM dérivent par des mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Ces enzymes permettant d'hydrolyser à la fois les C3G mais aussi elles sont plus vulnérables à l'action des inhibiteurs (acide clavulanique) (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006). Les BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1, pénicillinase chromosomique de *K. pneumoniae* (Haeggman *et al.*, 2004). Contrairement aux enzymes de types SHV et TEM qui résultent de mutations dans le site actif, les enzymes de type CTX-M sont un exemple de résistance obtenue par l'acquisition d'un gène normalement retrouvé dans le chromosome du genre *Kluyvera*. A ce jour (31/05/2017), plus de 193 enzymes de type SHV, 223 enzymes de TEM, 172 enzymes de type CTX-M et 226 enzymes de type OXA (www.lehey.org/studies).

Le tableau I adapté de Livermore *et al.* (2012) présente le profil de résistance aux β -lactamines conféré par les principales BLSE.

Tableau I. Phénotypes de résistance aux β -lactamines associés à la production des principales BLSE de types SHV, TEM et CTX-M (Livermore *et al.* 2012).

Profil de résistance aux β -lactamines conféré par les BLSE							
Pénicillines	Monobactames	C1G et C2G	C3G et C4G	Inhibiteurs de β - lactamases	Carbapénèmes	Classe d'Ambler	Enzymes
R	R	R	R	S	S	A	SHV/ TEM/ CTX-M

D'autres familles de BLSE plasmidiques, telles PER-1 en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie. Une enzyme PER-2 ayant 86% d'homologie en acides aminée avec PER-1, a été trouvée chez les souches de *Salmonella enterica* en Argentine en 1996 et par la suite, chez d'autres bactéries à Gram négatif (Naas *et al.*, 2008). D'autres BLSE de type VEB a

été détectée en 1996 chez une souche d'*E. coli* isolée chez un patient vietnamien puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande. Elles sont toutefois rares et limitées à certaines régions géographiques (Turquie, Argentine, Thaïlande .) (Endimiani *et al.*, 2006).

La généralisation de l'utilisation des C3G a été rapidement associée à la sélection en cours de traitement de mutants hyperproducteurs de céphalosporinases chromosomiques. Dès 1988, sont apparues aux Etats-Unis et en Europe, les premières souches de *Klebsiella* productrices de céphalosporinases plasmidiques. Des gènes ampC plasmidiques ont été décrits et peuvent être isolées chez des espèces naturellement dépourvues de gène ampC chromosomique telles que *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* (Jacoby, 2009).

La dissémination mondiale de bactéries à Gram négatif productrices de BLSE a contribué à une augmentation significative de la consommation de carbapénèmes et a ainsi entraîné l'évolution de la résistance à ces antibiotiques. Cette résistance résulte essentiellement de deux mécanismes impliquant tous deux des β -lactamases. Le premier mécanisme associe la production d'une céphalosporinase chromosomique, plasmidique, ou une BLSE à une diminution quantitative ou qualitative de l'expression des porines. Le second est lié à l'expression de carbapénémases (Grall *et al.*, 2011).

Les carbapénémases constituent une famille de β -lactamases hétérogènes définie selon leur spectre d'activité contre les carbapénèmes (Grall *et al.*, 2011).

Il existe des carbapénémases de classe A chromosomiques (SME, NMC et IMI) et plasmidiques (GES et KPC). La première bactérie de l'espèce *Klebsiella pneumoniae* productrice de KPC a été identifiée en Caroline du Nord en 1996 (Yigit *et al.*, 2001) et s'est rapidement disséminée aux États-Unis, en Europe et au Moyen-Orient.

Les carbapénémases de classe B, ou métallo- β -lactamases, originellement identifiées sont des enzymes chromosomiques. La première M β L transférable (IMP-1) a été identifiée chez *Serratia marcescens* au Japon en 1991 (Ito *et al.*, 1995). Depuis, plusieurs M β Ls transférables ont été décrites à travers le monde dont les principales sont de types IMP, VIM et NDM (Livermore, 2012). Actuellement, 53 variants de IMP et 46 variants VIM ont été décrits (<http://www.lahey.org>; 31/05/2017). La première β -lactamase de type NDM-1 a été isolée d'un patient précédemment hospitalisé à New-Delhi en 2008 (Yong *et al.*, 2009). D'ailleurs, certains craignent que NDM-1 deviennent une nouvelle CTX-M-15 d'un point de vue épidémiologique (Walsh, 2010).

Les carbapénèmases de classe D : la plus part de ces enzymes aient été décrites chez *A. baumannii* (OXA-23, OXA-24, OXA-58...). Certaines ont été isolées d'entérobactéries, notamment OXA-48 (Queenan *et al.*, 2007), sont des enzymes qui hydrolysent les pénicillines à un niveau élevé (les aminopénicillines, les ureidopénicillines) et les carbapénèmes à des niveaux faibles. Elles sont endémiques en Turquie, en Afrique du Nord et en Inde (Poirel *et al.*, 2012) mais n'hydrolysent pas sensiblement les céphalosporines à large spectre. Leur activité n'est pas affectée par les inhibiteurs utilisés en clinique, mais elles sont inhibés par le NaCl *in vitro* (Queenan *et al.*, 2007).

L'incidence de la résistance aux β -lactamines chez les bactéries à Gram négatif a augmenté à un rythme alarmant au niveau mondial au cours de ces derniers années (Cantòn *et al.*, 2012 ; El Salabi *et al.*, 2013 ; Nordmann *et al.*, 2011 ; Woodford *et al.*, 2011).

En Algérie, la majorité des BLSE et des bacilles à Gram négatifs producteurs de carbapénèmases ont été identifiés dans des isolats cliniques ((Touati *et al.*, 2006 ; Touati *et al.*, 2008 ; Gharout *et al.*, 2012 ; Yanat *et al.*, 2014 ; Lagha *et al.*, 2014 ; Batah *et al.*, 2015), mais elles ont également diffusé dans des isolats communautaire, vétérinaire, animaux sauvages, eaux usées, végétaux et autres sources (Ben said *et al.*, 2015 ; Mezhoud *et al.*, 2015 ; Belmahdi *et al.*, 2016 ; Yaici *et al.*, 2016 ; Bachiri *et al.*, 2017 ; ; Tafoukt *et al.*, 2017 ; Touati *et al.*, 2017).

L'association, chez les bactéries à Gram positif responsable d'infection communautaire et nosocomiale, de résistance naturelle et acquise aux antibiotiques confère une importance particulière dans la prise en charge thérapeutique (Quincampoix et Mainardi, 2001). Les *Enterococcus* sont des cocci à Gram positif, oxydase positive, catalase négative. Ils sont anaérobies facultatifs et immobiles (Schleifer *et al.*, 1984). Les cellules sont ovoïdes et se présentent souvent en diplocoques ou sous forme de courtes chainettes, de taille variant de 0,2 à 0,6 μm sur 0,6 à 2,5 μm (Flahaut *et al.*, 1997).

Les entérocoques sont à l'origine de nombreuses pathologies. En effet, l'incidence des infections nosocomiales dues aux entérocoques a augmenté rapidement, ils sont l'une des premières causes des infections nosocomiales. Cette diffusion dans l'environnement hospitalier coïncide avec l'acquisition rapide de multiples mécanismes de résistance naturelle envers plusieurs familles antibiotiques (Leclercq *et al.*, 1997; Courvalin, 2006).

Le mécanisme de résistance développé par les entérocoques contre les glycopeptides est une modification de la cible de l'antibiotique c'est à dire de la nature de précurseur D-Ala D-Ala (Depardieu *et al.*, 2007). La résistance acquise à la vancomycine

est due à l'expression par la bactérie d'un opéron de résistance (opéron *van*) qui code des enzymes impliquées à la fois dans la synthèse d'un précurseur du péptidoglycane de faible affinité et dans l'élimination du D-Ala D-Ala (Courvalin, 2006 ; Cattoir et Leclercq 2010 ; Xu *et al.*, 2010).

La transmission et la diffusion de bactéries multirésistantes (BMR) dans les hôpitaux sont généralement liées au contact manuel (Palmore et Henderson, 2013) et des instruments mal stérilisés (Alrabaa *et al.* , 2013). Cette transmission est liée aussi à des insectes (fourmis, les moustiques et les cafards), sont nombreux et variés dans l'environnement hospitalier, leur potentiel de jouer un rôle dans l'écologie des caractères de résistance aux antibiotiques n'a pas été reconnu. Dans l'environnement hospitalier ces insectes sont en contact direct avec les patients, les aliments, les surfaces et le matériel de soin. Ils peuvent être considérés comme un réservoir de bactéries multi-résistant. Ainsi, ces derniers peuvent jouer un rôle important dans la diffusion généralisée de gènes de résistance aux antibiotiques et par conséquent constitue une menace pour la santé publique partout dans le monde (Akinjogunla *et al.*, 2012 ; Brown *et al.*, 2015). Ils sont attirés par l'humidité, les aliments et les températures appropriées (Kutrup 2003 ; Kassiri *et al.*, 2014).

En Algérie, très peu de données sont disponibles concernant l'épidémiologie des BMR isolées à partir des insectes de l'environnement hospitalier. En effet, le premier rapport des bacilles à Gram négatif producteurs de BLSE de type CTX-M 15 et de carbapénèmases de type OXA-48 isolées chez les insectes (cafard allemand) collectés dans le milieu hospitalier a été rapporté à Batna par Loucif *et al.* en 2016.

C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude réalisée au niveau du CHU de Béjaia et EPS de Batna sur des prélèvements cliniques et principalement d'insectes. Les objectifs fixés sont:

- Isolement et identification des bactéries à Gram négatif résistantes aux C3G
- Isolement et identification des bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes
- Isolement et identification des entérocoques résistants à la vancomycine.

Matériel et méthodes

I. Souches bactériennes

I.1. Echantillonnage

Tableau N° II : répartition des prélèvements réalisés durant cette étude :

125 échantillons	Prélèvements cliniques		Insectes		
	Prélèvements urinaires	Prélèvements rectaux	moustiques	fourmis	Cafards
CHU de Bejaia	0	12	40	5	15
EPH Arris-2, Batna	18	10	3	6	16

Les prélèvements ont été traités au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaia et laboratoire d'hygiène de L'EPSP Arris-Batna.

La répartition des échantillons par type de prélèvement et de service est montrée dans les tableaux I, II, III et IV en annexe III.

I.2. Pré-enrichissement

- **Cafards**
 - Immobiliser l'échantillon (cafard) par la congélation à 0°C pendant 10 minutes.
 - Imbiber chaque cafard dans 5ml de solution de Tween 80 à 0,05%.
 - Vortexer vigoureusement pendant 2 minutes. Le liquide de lavage est utilisé en tant qu'échantillon du corps externe.
 - Immerger chaque cafard dans l'eau de javel et dans du sérum physiologique stérile pendant 2 min respectivement et ensuite dans l'éthanol à 70% pendant 5 min à fin d'éliminer la contamination du corps externe.
 - Tremper le cafard dans un tube stérile contenant 5 ml de solution de Tween 80 à 0,05%.
 - Broyer l'échantillon.
 - Vortex vigoureusement pendant 2 minutes. La suspension obtenue a été utilisée en tant qu'échantillon du corps interne.

Chaque échantillon (5ml) est incubé pendant **18 à 24h/37°C** dans 5ml du bouillon trypticase Soja (TSB).

- **Moustiques et fourmis** : Dans le cas des autres insectes, nous avons utilisé le protocole suivant :
 - Imbiber chaque insecte (moustique, fourmi) dans **5ml de bouillon Trypticase Soja.**

- Vortexer vigoureusement pendant 2 minutes. La suspension obtenue est utilisée en tant qu'échantillon du corps externe et interne. L'incubation est réalisée à **37°C/24h**.

- **Echantillons cliniques**

Les étapes à suivre pour l'étude de la flore résistante aux antibiotiques dans le cas des prélèvements cliniques :

Prélèvement rectal a été effectué par prélèvement d'une selle fraîche ou par écouvillonnage rectal puis l'enrichissement des prélèvements sur Bouillon Trypticase Soja TSB. L'incubation a été effectuée à 24h/37°C.

Prélèvement urinaire

Les prélèvements urinaires ont été collectés au niveau du service de pédiatrie de EPH Arris Batna selon le protocole suivant :

- Lavage des mains au savon ;
- Désinfection au Dakin : méat et région périnéale ;
- Appliquer le collecteur adhésif sur une peau propre et sèche ;
- Noter l'heure de pose, ne pas dépasser 30min si non poser un nouveau collecteur après désinfection ;
- Transvaser le contenu du collecteur dans le flacon stérile ;
- Fermer correctement le flacon ;
- Porter rapidement au laboratoire pour mise en route de la culture.aa

II. Isolement des bactéries à Gram négatif

II.1. Isolement de bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération

L'enrichissement sélectif des bacilles à Gram négatif a été réalisé en ajoutant 40µl de bouillons de pré-enrichissement dans 160µl de TSB additionné de Céfotaxime (4µg/ml) et de Vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été réalisée à 24h/37°C.

L'isolement a été effectué par ensemencement de 50µl sur la gélose Mac ConKey additionnée de Céfotaxime (4µg/ml) et de Vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

II.2. Isolement de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes

A partir d'un bouillon de pré-enrichissement, 40µl a été ajouté au TSB additionné de Méropénème (1µg/ml) et de Vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

L'isolement a été effectué par ensemencement de 50µl sur la gélose Mac ConKey additionnée de méropénème (1µg/ml) et de Vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

II.3. Identification

Les souches sélectionnées ont été identifiées en utilisant une mini-galerie biochimique classique (Bouillon nitraté, Milieux Urée/Indole, TSI, Citrate Simmons, Clark et Lubs, EPEI, Mannitol Mobilité) (tableau III) (Denis *et al.*, 2007). Les milieux de culture et les réactifs utilisés durant cette étude sont donnés dans l'annexes I.

Tableau III : Galerie biochimique d'identification des souches (Denis *et al.*, 2007).

Milieu	Mode d'ensemencement	Caractères recherchés	Résultat
Bouillon Nitraté	Ensemencement de milieu avec une suspension bactérienne. Incubation à 37°C/24h.	La Réduction de 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. Milieu reste inchangé : l'ajout de poudre de Zn ⁺ → Coloration rouge → NR-
TSI	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries serrées puis le culot par piqure centrale. Incubation à 37°C/24h.	-Lactose -Glucose -Saccharose -Gaz -Production d'H ₂ S	Lactose+ : virage de la pente au jaune Glucose+ : virage de culot au jaune Saccharose+ : virage au jaune au milieu de tube Gaz+ : apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose du fond du tube Production d'H₂S : Noircissement du milieu.
Citrate de Cimmons	Ensemencement de la pente de gélose par des stries longitudinales. Incubation à 37°C/24h	Utilisation du citrate comme seule source de Carbone.	Citrate+ : virage de milieu au bleu et une culture sur la pente.

	jusqu'à 5 jours.		
Urée-indole	Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne. Incubation à 37°C/24h.	-Uréase -Indole -Tryptophane désaminase	Uréase+ : virage de milieu au rouge/rose. Indole+ : apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Kovacs. TDA+ : coloration marron après l'ajout de quelque gouttes de réactif TDA
Eau peptonée exempte d'indole	Ensemencement de milieu avec une suspension bactérienne. Incubation à 37°C/24h.	Recherche de la production d'indole	Indole+ : anneau rouge après addition du quelques gouttes de réactif du Kovacs.
Mannitol-mobilité	Ensemencement de milieu par piqure centrale. Incubation à 37°C/24h.	Utilisation du mannitol et recherche de mobilité.	fermentation de mannitol : Coloration jaune de milieu mobilité + : Diffusion homogène (formation de voile).
Clark et Lubs	Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne. Incubation à 37°C/24h.	Type fermentaire	Test VP + : virage au rouge cerise après l'ajout des réactifs VP I et VP II → Formation d' acétoine Test RM → + : coloration rouge après l'ajout de réactif RM Formation des acides mixtes .

Le milieu Chromagar orientation a également été utilisé pour l'identification de certaines souches (tableau IV).

Tableau IV : Aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation)

Espèces	Couleur de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
KES (<i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i>), <i>Citrobacter</i> .	Colonies bleu vert à bleues avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis</i> , <i>Morganella</i> , <i>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.

II.4. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines chez les bacilles à Gram négatif

II.4.1. Recherche de la production de BLSE

❖ DD-Test

Le Double Disc synergie test est la première méthode décrite pour déterminer la production d'une BLSE chez les entérobactéries (Jarlier *et al.*, 1988). Le test est considéré comme positif lorsqu'il y a une synergie entre la C3G et l'acide clavulanique.

La recherche de β -lactamase à spectre étendue est réalisée dans les conditions standards de l'antibiogramme, puis les disques d'antibiotiques ont été déposés: un disque d'Amoxicilline + acide clavulanique (AMC ;20 μ g /10 μ g) et les disques de C3G (CTX 30 μ g, CAZ 30 μ g), à une distance de 20 à 30 mm. L'aztréonam (ATM 30 μ g), l'imipénème (IPM 10 μ g) et Céfoxitine (FOX : 30 μ g) sont aussi testées sur la même boîte de Petri (Figure 01). L'incubation des boîtes est réalisée pendant 18 h/37°C.

L'interprétation en sensible, Intermédiaire et résistant a été effectuée en suivant les recommandations du CA-SFM (2013) et CA-SFM-EUCAST (2017).

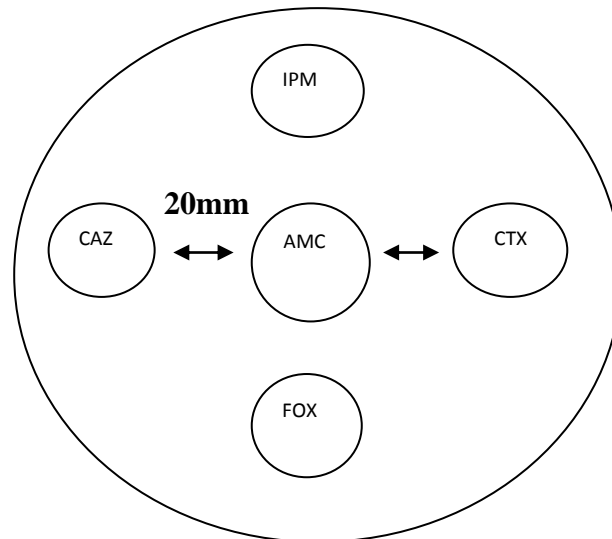


Figure 01 : Disposition des disques (DD-test)

❖ DD-Test avec cloxacilline

Le test synergie peut parfois être faussement négatif pour les souches productrices de céphalosporinases. Le DD-test avec cloxacilline est effectué pour rechercher éventuelle BLSE masquée par une céphalosporinase. La cloxacilline (250µg/ml) a été ajoutée au milieu Mueller-Hinton (MH) pour restaurer l'activité de β -lactamases et mettre en évidence l'apparition de l'image de synergie recherchée (Drieux *et al.*, 2008).

II.4.2. Recherche de la production de Carbapénémases

Le test de CIM (carbapénème inactivation méthode) est un nouveau test phénotypique, qui a été développé pour détecter la production des carbapénémases chez les bactéries à Gram négatif. Ce test est considéré comme positif lorsqu'il y a absence de zone d'inhibition autour de disque de Méropénème. Il a été effectué comme décrit précédemment par Van Zwaluw *et al.*, 2015.

- Préparer les suspensions dans des tubes Eppendorf contenant 500µl d'eau physiologique stérile (souches bactériennes à tester, témoin positif : KPC ou NDM, témoin négatif : *E. coli* ATCC 29522).
- Par la suite, immerger un disque de méropénème (10µg, Bio-rad) dans chaque suspension et incubé pendant au moins 2 h / 37 ° C.
- Après incubation, retirer le disque de la suspension et déposer le à la surface d'une boîte de gélose MH inoculée avec la souche *E. coli* sensible à tous les antibiotiques (ATCC 29522). Incubation des boîtes à 37 ° C/24h (Figure 02).

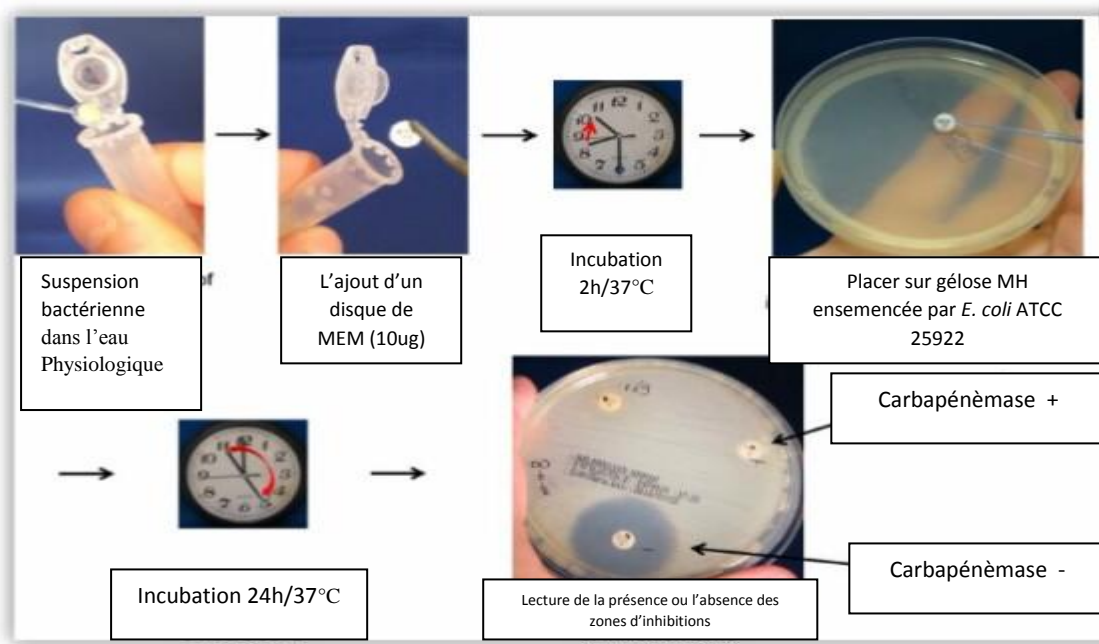


Figure 02 : Test CIM (Van Zwaluw *et al.*, 2015).

Un antibiogramme standard a été réalisé chez les souches ayant montré un test CIM positif. Les antibiotiques testées sont Ertapénème (ERT : 10µg), Imipinème (IPM : 10µg), Méropénème (MEM : 10µg).

III. Bactéries à Gram positif : Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine

III.1. Isolement et caractérisations phénotypiques

III.1.1. Isolement

L'enrichissement sélectif des Enterocoques a été effectué en ajoutant 40µl de bouillon d'enrichissement à 160µl de bouillon ROTH contenant la Vancomycine (10µg/ml) et la colistine (10µg/ml). Après incubation à 37°C/24h, l'isolement a été effectué sur la gélose Bile Azide de Sodium (BEA) additionnée de Vancomycine (10µg/ml) et de colistine (10µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h.

III.1.2. Caractérisation phénotypique des entérocoques

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram (annexe V) : est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose BEA présentant l'aspect caractéristique des entérocoques. L'aspect microscopique des entérocoques après coloration de Gram révèle des formes cellulaires en cocci, disposées en paire (diplocoque) ou en courtes chainettes de couleur violet.

- **Test de catalase**

Pour mettre en évidence l'activité de la catalase, une colonie est diluée dans une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) sur une lame propre (Paulsen *et al.*, 2003).

Les entérocoques sont catalase négatif. La réaction positive se traduit par une effervescence : $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$.

- **Croissance et résistance à la chaleur sur le bouillon Nutritif**

La plus part des entérocoques sont résistants à un traitement de températures de 60 C° pendant 30 min. Pour cela nous avonsensemencé des tubes contenant 5ml de BN avec 100µl de suspension bactérienne incubée à 60C° pendant 30min puis incubée à 37°C pendant 24h à 48h. L'apparition d'un trouble indique que la souche pousse et résiste à la chaleur (Franz et Holzapfel, 2004).

- **Croissance sur un bouillon hyper-salé**

La croissance des entérocoques en présence de chlorure de sodium (NaCl) permet de les différencier des streptocoques. Le principe de ce test est basé sur l'ensemencement des colonies dans des tubes contenant 5ml de bouillon hypersalé (6.5% Nacl). L'incubation a été effectuée à 37C pendant 48h. L'apparition d'un trouble indique la présence d'éventuel entérocoque (Schleifer et Kilpper-Balz, 1987).

- **Test au téllurite de potassium**

Parmi les caractéristiques des souches d'*E. faecalis* est la croissance en présence de tellurites de potassium. Pour cela, nous avons additionné 1 ml de tellurite de potassium à 249 ml d'eau distillée, puis 0,5 ml de cette solution et ajouté à 4,5 ml de bouillon nutritif. Les souches à tester sont ensemencées dans ce milieu ainsi préparé. L'incubation a été effectuée à 24h/37C°. L'apparition d'un dépôt noir indique la présence *E. faecalis*.

III.2. Etude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine

La sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose MH selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2017).

Des boites de gélose MH ont été ensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne ayant une turbidité équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme

de Mc Ferland (10^8 UFC/ml) puis un disque de vancomycine (VAN : 30 μ g) a été déposé au centre de la boîte.

Les souches sont considérées comme résistantes si le diamètre est inférieur à 12 mm (pour un disque VAN 5 μ g), et <16mm (pour un disque VAN 30 μ g).

III.2.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) sur milieu liquide

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (CA-SFM, 2017).

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des souches vis-à-vis de la vancomycine a été réalisée en milieu liquide pour les souches d'entérocoques isolées sur gélose BEA comme suit :

Dans une microplaque, un volume de 50 μ l de bouillon Mueller Hinton (BMH) a été distribué dans chaque cupule (de cupule 1 à 12), puis un volume de 50 μ l de vancomycine a été ajouté à partir de la 2^{ème} cupule jusqu'à la dernière (bien mélanger avec la micropipette) et jeter les 50 μ l restant (la cupule 1 doit être un témoin positif de la croissance bactérienne). Ensuite, 50 μ l de la suspension préparée a été ajouté dans chaque cupule, en partant de la cupule la moins concentrée vers la plus concentrée. L'incubation a été effectuée à 37°C /24h.

Ce test a concerné 2 souches d'*Enterococcus faecalis* (I7) et (I8) parmi les 5 souches qu'on a isolé. Les concentrations de vancomycine testées sont de 256 mg/l jusqu'à 0,25mg/l.

Résultats

Résultats

I. Souches bactériennes isolées

Au cours de cette étude, un total de 125 échantillons (écouvillonnage rectal, urinaire et insectes) ont été collecté au niveau des CHU de Bejaia et EPH Arris 2-Batna.

125 souches ont été isolées incluant 23 souches (18,40%) sur gélose Mac-Conkey Additionnée de Méropénème, 82 souches (65,60%) sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime et 20 souches (16%) sur gélose BEA additionnée de la vancomycine.

L'identification réalisée en utilisant une mini-galerie biochimique classique et le milieu Chromagar orientation est résumé dans les tableaux I, II, III, IV et V (BGN) en Annexe II.

II. Détermination des phénotypes de résistance chez les bacilles à Gram négatif

II.1. Recherche de la production de β -lactamases à Spectre Etendu (BLSE)

❖ DD-test

DD-test effectué sur gélose Mueller-Hinton (82 souches) a révélé la présence d'une image de synergie chez 10 souches d'entérobactéries : 7 souches de *E. coli*, et 2 souches d'*Enterobacter sp* et une souche *Klebsiella pneumoniae* indiquant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches (**Figure 03**). Les résultats sont rapportés dans le tableau V.

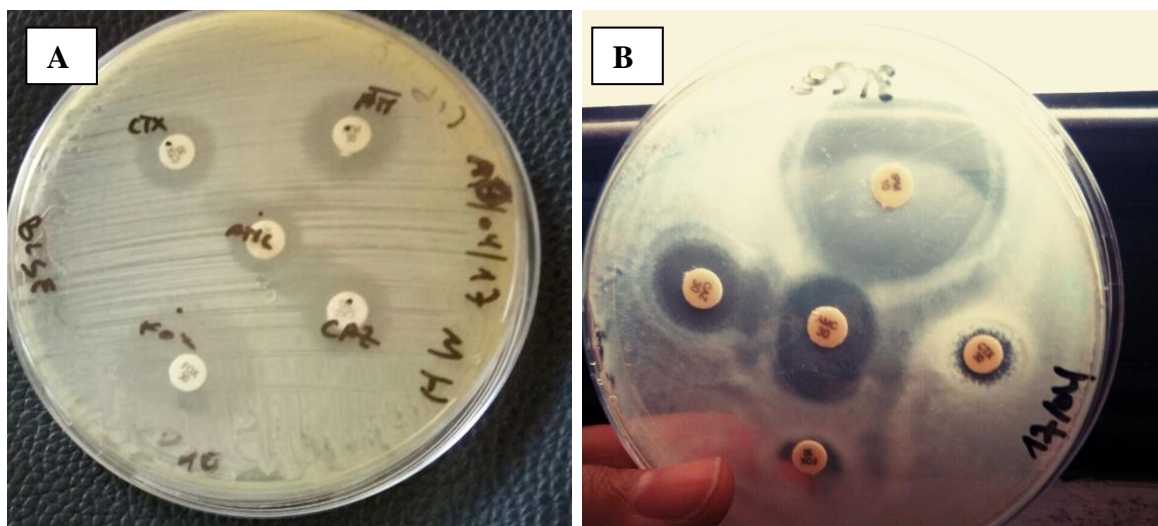


Figure 03 : Image de synergie de la souche *Enterobacter sp* (cop10) (A) et *Klebsiella pneumoniae* (I15) (B).

Tableau V : Résultat du DD-test

Code	Hopital	Service	Date de prélèvement	Type de prélèvement	Diamètre d'inhibition						Synergie	Espèce	Phénotype Probable
					AMC	CTX	CAZ	FOX	ATM				
Uri3	Arris-Batna	Pédiatrie	19/02/2017	Urinaire	10 (R)	15 (R)	20 (R)	25 (S)	18 (R)		<i>E. coli</i>	BLSE	
Uri4	Arris-Batna	pédiatrie	19/02/2017	urinaire	15 (R)	6 (R)	8 (R)	22 (S)	14 (R)	+	<i>E. coli</i>	BLSE	
Uri5	Arris-Batna	pédiatrie	19/02/2017	urinaire	25 (S)	6 (R)	6 (R)	25 (S)	15 (R)	+	<i>E. coli</i>	BLSE	
Uri6	Arris-Batna	pédiatrie	19/02/2017	urinaire	14 (R)	12 (R)	8 (R)	16 (R)	14 (R)	+	<i>E. coli</i>	BLSE	
cop1	Arris-Batna	pédiatrie	19/02/2017	rectal	12 (R)	10 (R)	10 (R)	18 (R)	15 (R)	+	<i>E. coli</i>	BLSE	
cop4	Arris-Batna	pédiatrie	19/02/2017	rectal	20 (S)	6 (R)	6 (R)	18 (R)	12 (R)	+	<i>E. coli</i>	BLSE	
Cop5	Arris-Batna	pédiatrie	19/02/2017	rectal	15 (R)	14 (R)	10 (R)	8 (R)	18 (R)	+	<i>E. coli</i>	BLSE	
Cop10	Khelil Amrane	Orthopédie	08/03/2017	Rectal	10 (R)	12 (R)	12 (R)	6 (R)	15 (R)	+	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE	
I3	Khelil Amrane	Réanimation	07/03/2017	Moustique	10 (R)	6 (R)	10 (R)	6 (R)	15 (R)	+	<i>Enterobacter sp</i>	BLSE	
I15	Khelil Amrane	Réanimation	07/03/2017	Moustique	15 (R)	7 (R)	10 (R)	6 (R)	18 (R)	+	<i>Klebsiella Pneumoniae</i>	BLSE	

❖ **DD-Test avec cloxacilline**

Sur un total de 27 souches testées, l'image de synergie a été détectée chez 2 souches : *Klebsiella pneumoniae* (I23) et *Enterobacter sp* (I31), isolées de moustiques dans le service de réanimation du CHU de Bejaia (**Figure 04**).



Figure 04: Antibiogramme de la souche *Enterobacter sp* sur gélose MH (B) et gélose MH+ cloxacilline (A).

Une récupération des diamètres des zones d'inhibition est montrée chez 14 souches testées incluant des *Pseudomonas sp* et *Acinetobacter sp*, la résistance aux C3G peut être expliquée par l'hyperproduction de leur céphalosporinase naturelle. Chez *K. pneumoniae* et *Proteus mirabilis* appartenant aux groupes 2 et 1 respectivement, la résistance aux C3G peut être expliqué par la production de céphalosporinase plasmidique (**Figure 05**). Chez certaines (11) souches, aucune récupération des zones d'inhibition n'a été observée, une concentration de 500mg/ml de cloxacilline est nécessaire.

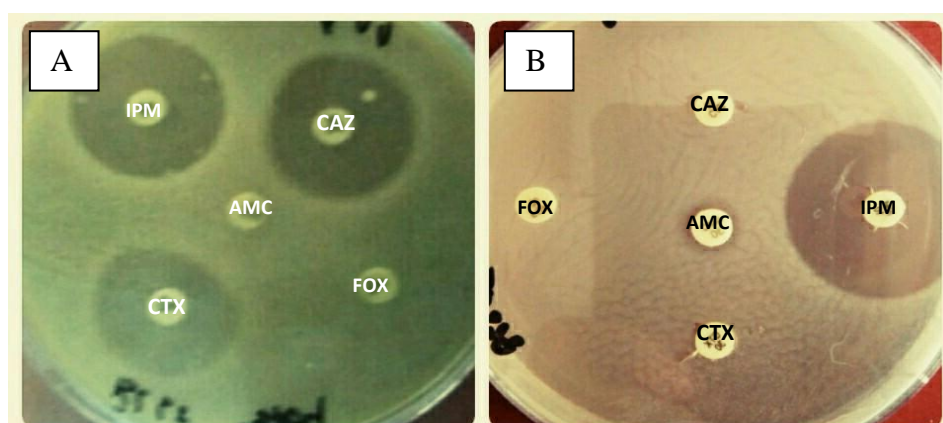


Figure 05: Antibiogramme de la souche *Pseudomonas spp* sur gélose MH (B) et gélose MH+cloxacilline (A). Les résultats du DD-test sur gélose MH avec cloxacilline sont rapportés dans le tableau ci-après.

Tableau VI : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et MH additionnée de cloxacilline.

Code	Espèce	Diamètre (mm)	AMC	FOX	CAZ	CTX	IMP	Image de synergie	Phénotype
I23	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Sur MH	10(R)	8(R)	12(R)	6(R)	25(S)	+	BLSE + AmpC plasmidique
		Sur MH+clox	10(R)	8(R)	6(R)	20(S)	NT		
		≠ (mm)	00	00	06	04	/		
I31	<i>Enterobacter Sp</i>	Sur MH	8(R)	10(R)	10(R)	10(R)	21(I)	+	Hyperproduction AmpC Chromosomique +BLSE
		Sur MH+clox	11(R)	12(R)	9(R)	25(S)	NT		
		≠ (mm)	03	02	01	15	/		
I28	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	25(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	30(S)	37(S)	21	32(S)	NT		
		≠ (mm)	24	31	15	17	/		
I25	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	25(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	32(S)	34(S)	21(I)	28(S)	NT		
		≠ (mm)	26	28	15	22	/		
I27	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	22(I)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	30(S)	35(S)	20(I)	29(S)	NT		
		≠ (mm)	24	29	14	23	/		
I26	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	27(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	34(S)	34(S)	26(S)	30(S)	NT		
		≠ (mm)	28	28	20	24	/		
I32	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	22(I)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	34(S)	34(S)	21(I)	28(S)	NT		
		≠ (mm)	28	28	15	22	/		
C7	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	35(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	8(R)	8(R)	6(R)	6(R)	NT		
		≠ (mm)	2	2	0	0	/		
I36	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	20(I)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	29(S)	32(S)	27(S)	25(S)	NT		
		≠ (mm)	23	26	21	19	/		
I37	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	7(R)	6(R)	6(R)	6(R)	25(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	31(S)	36(S)	20(I)	30(S)	NT		
		≠ (mm)	24	30	14	24	/		
F1	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	6(R)	6(R)	6(R)	20(S)	NT		
		≠ (mm)	0	0	0	14	/		
C14	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	35(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	8(R)	32(S)	20(I)	30(S)	NT		
		≠ (mm)	2	2	0	0	/		
C15	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	27(S)	-	AmpC Chromosomique
		Sur MH+clox	10(R)	8(R)	6(R)	16(R)	NT		
		≠ (mm)	4	2	0	10	/		

I21	<i>Pseudomonas</i> <i>Sp</i>	Sur MH	8(R)	6(R)	6(R)	6(R)	20(I)	-	AmpC Chromosomi- que
		Sur MH+clox	30(S)	32(S)	20(I)	30(S)	NT		
		≠ (mm)	22	26	14	24	/		
C8	<i>Pseudomonas</i> <i>sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	32(S)	-	AmpC Chromosomi- que
		Sur MH+clox	8(R)	6(R)	6(R)	14(R)	NT		
		≠ (mm)	2	0	0	8	/		
I33	<i>Serratia</i> <i>sp</i>	Sur MH	7(R)	6(R)	13(R)	13(R)	7(R)	-	AmpC chromosomique
		Sur MH+clox	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	NT		
		≠ (mm)	1	0	7	7	/		
I29	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>	Sur MH	9(R)	6(R)	6(R)	6(R)	21(I)	-	AmpC Plasmidique
		Sur MH+clox	30(S)	31(S)	29(S)	29(S)	NT		
		≠ (mm)	21	25	23	23	/		
I30	<i>Proteus</i> <i>mirabilis</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	20(I)	-	AmpC Plasmidique
		Sur MH+clox	30(S)	35(S)	15(R)	26(S)	NT		
		≠ (mm)	24	29	9	20	/		
I35	<i>Proteus</i> <i>mirabilis</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	25(S)	-	AmpC Plasmidique
		Sur MH+clox	35(S)	34(S)	21(I)	30(S)	NT		
		≠ (mm)	29	28	15	24	/		
C6	<i>Klebsiella</i> <i>sp</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	31(S)	-	AmpC Plasmidique
		Sur MH+clox	10(R)	6(R)	6(R)	6(R)	NT		
		≠ (mm)	4	0	0	0	/		
I34	<i>BGNF</i>	Sur MH	22(I)	6(R)	6(R)	6(R)	22(I)	-	AmpC
		Sur MH+clox	33(S)	34(S)	20(I)	29(S)	NT		
		≠ (mm)	11	28	14	23	/		
C9	<i>BGNF</i> <i>KES</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	21(I)	-	AmpC
		Sur MH+clox	8(R)	6(R)	6(R)	14(R)	NT		
		≠ (mm)	2	0	0	10	/		
C11	<i>BGNF</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	30(S)	-	AmpC
		Sur MH+clox	6(R)	6(R)	6(R)	20(S)	NT		
		≠ (mm)	0	0	0	14	/		
C12	<i>BGNF</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	27(S)	-	AmpC
		Sur MH+clox	6(R)	6(R)	6(R)	14(R)	NT		
		≠ (mm)	0	0	0	10	/		
C13	<i>BGNF</i>	Sur MH	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	32(S)	-	AmpC
		Sur MH+clox	8(R)	6(R)	6(R)	16(R)	NT		
		≠ (mm)	2	0	0	10	/		
I20	<i>BGNF</i>	Sur MH	8(R)	6(R)	6(R)	6(R)	25(S)	-	AmpC
		Sur MH+clox	30(S)	32(S)	16(R)	26(S)	NT		
		≠ (mm)	12	26	10	20	/		

NT : non testé

Remarque : Nous n'avons pas pu identifier certaines souches.

Nous avons utilisé chez certaines souches la céfoxitine (Fox) de marque Bioanalyse ayant expirée en Février 2017. C'est ce qu'explique la non récupération du diamètre des zones d'inhibition chez

certaines souches en présence de cloxacilline et chez les Bacilles à Gram négatif non fermentaires une concentration de 500 mg/l est nécessaire.

II.2. Recherche de la production de carbapénèmases

❖ Test CIM

Sur un total de 23 souches testées, le test CIM a montré un résultat positif chez la souche *K. oxytoca* (C6) et *Acinetobacter sp* (F1) indiquant ainsi la production probable d'une carbapénèmase chez ces souches (Figure 6).

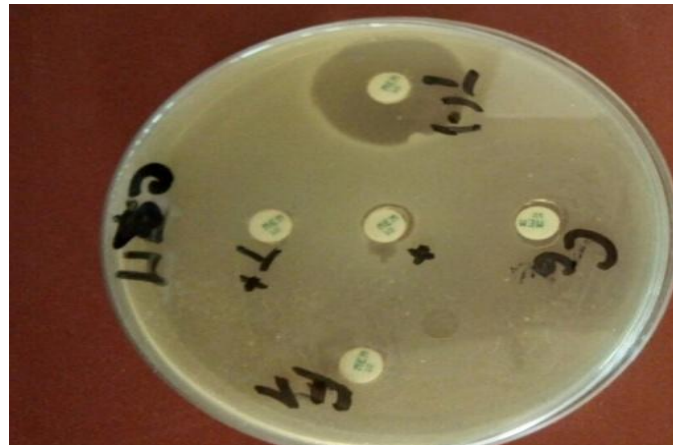


Figure 06 : Résultat de Test CIM chez les souches *K. oxytoca* (C6) et *Acinetobacter sp* (F1)

Le résultat de l'antibiogramme standard réalisé chez ces souches est montré dans le tableau VII.

Tableau VII : antibiogramme de souches probablement productrices de carbapénèmases.

Co	Hôpital	Service	Date de prélèvement	Type de prélèvement	ERT (m.m)	MEM (m.m)	IPM (m.m)
F1	Targa-O	Maternité	22/04/2017	Fourmis	12(R)	12(R)	12(R)
C6	Targa-O	Maternité	22/04/2017	Cafard	6(R)	6 (R)	6 (R)

III. Bactéries à Gram positif

III.1. Caractérisations phénotypiques des souches d'entérocoques

L'isolement des entérocoques sur milieu BEA montre de petites colonies translucides 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 de l'esculine en libérant de l'aglucone qui est décelée par une réaction chimique en présence de sels de fer.

Au cours de cette étude, un nombre de 20 souches issues de prélèvements au niveau du CHU de Bejaia et de l'EPH de Arris-Batna ont été traitées et isolées sur gélose BEA (**Figure 07**).

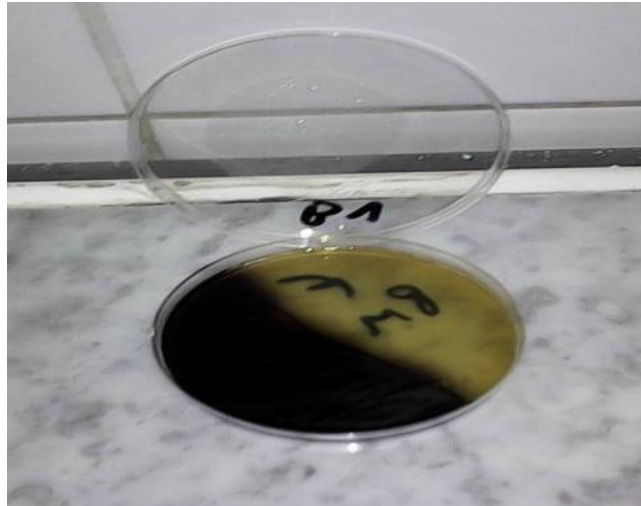


Figure 07 : Isolement des entérocoques sur gélose BEA

L'aspect microscopique des entérocoques après la coloration de Gram révèle des formes cellulaires en cocci, disposées en paire (diplocoque) ou en courtes chainettes de couleur violet (**Figure 08**).

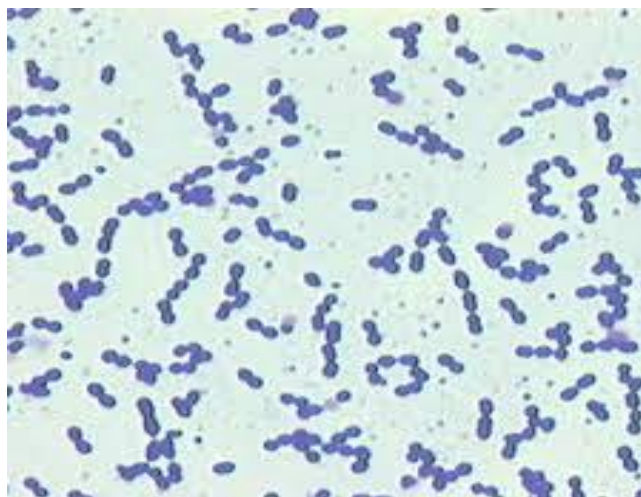


Figure 08 : Aspect microscopique des entérocoques après coloration de Gram.

L'ensemble des résultats de la caractérisation des souches est rapporté dans le tableau Tableau VII.

Tableau VIII: Les caractérisations phénotypiques des souches d'entérocoques isolées de CHU de Bejaia et de l'EPH Arris-2 Batna.

Code	Isolement sur milieu BEA	Catalase	Gram	Croissance sur bouillon hyper salé 6,5% NaCl	Résistance à la chaleur	Test de télorite de potassium	Espèce
Cop03	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
Cop11	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
Cop12	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
I7	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
I8	+	-	+	+	+	+	<i>Enterococcus faecalis</i>
C6	+	-	+	+	+	-	<i>Enterococcus sp</i>
C9int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C9ex	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C10int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C11int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C11ex	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C12int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C13int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C13ex	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C14int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C14ex	+	-	+	NT	NT	NT	NI

C15int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C15ex	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C16int	+	-	+	NT	NT	NT	NI
C16ex	+	-	+	NT	NT	NT	NI

NT : non testé

NI : non identifié

III.2. Sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine

Sur un total de 20 souches isolées sur gélose BEA additionné de vancomycine, 5 souches ont été probablement résistantes à la vancomycine, le résultat est montré dans le tableau IX.

Tableau IX : Etude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis la vancomycine.

Code	Diamètre de Vancomy-cine (30µg et 5 µg) (m.m)	Espèce
Cop03	15(S)	<i>Enterococcus faecalis</i>
Cop11	6(R)	<i>Enterococcus faecalis</i>
Cop12	6(R)	<i>Enterococcus faecalis</i>
I7	6(R)	<i>Enterococcus faecalis</i>
I8	7(R)	<i>Enterococcus faecalis</i>
C6	8(R)	<i>Enterococcus sp</i>
C9int	22(S)	NI
C9ex	28(S)	NI
C10int	16(S)	NI
C11int	16(S)	NI
C11ex	16(S)	NI
C12int	28(S)	NI

C13int	28(S)	NI
C13ex	25(S)	NI
C14int	28(S)	NI
C14ex	26(S)	NI
C15int	22(S)	NI
C15ex	30(S)	NI
C16int	25(S)	NI
C16ex	25(S)	NI

❖ **Détermination de CMI des entérocoques en milieu liquide**

Les résultats des CMIs ont montré que 2 souches (I7, I8) sont résistantes à la vancomycine avec des CMI > 8 (Tableau X).

Tableau X : Résultat des CMI des entérocoques vis-à-vis la vancomycine

Code	Hôpital	Service	Date de prélèvement	Type de prélèvement	CMI de la vancomycine en (µg/ml)
I7	Khelil Amrane	Réanimation	07/03/2017	Moustique	64
I8	Khelil Amrane	Réanimation	07/03/2017	Moustique	256

Discussion et conclusion

Discussion et conclusion

La résistance aux antibiotiques a augmenté dans des proportions inquiétantes et devenue le plus grand défi pour la santé. Durant cette étude, nous avons réalisé 125 prélèvements incluant des prélèvements cliniques (Prélèvements rectaux et urinaires) et des insectes (cafards, moustiques, fourmis) retrouvées au niveau du CHU de Bejaia et de l'EPH Arris-2-Batna. Sur les 40 souches identifiées, 8 souches étaient isolées à partir des prélèvements cliniques et 32 souches étaient isolées chez les insectes. Chez les bacilles à Gram négatif 12 souches sont probablement productrices de BLSE, dont 8/12 souches ont été isolées de prélèvements pathologiques et 4/12 souches ont été isolées chez les insectes.

La prévalence de la production de BLSE isolée de prélèvement pathologique observé durant cette étude a été élevée chez *E. coli* (7/8) suivie par *Enterobacter sp* (1 souche). Ahn *et al.*, 2015, ont rapporté dans leur étude sur les infections du tractus urinaire causée par les bactéries productrices et non productrices de BLSE, la plus forte prévalence chez des souches *E. coli* (13,6%). D'autres études ont signalé que l'espèce *E. coli* productrice de BLSE est la plus fréquemment isolée, (Lazrak *et al.*, 2014 ; Dandachi *et al.*, 2014). Nedjai *et al.*, 2012 ont rapporté dans leur étude réalisée sur les prélèvements cliniques au niveau de CHU d'Annaba que les souches de groupe *KES* isolée à un taux de 31,4% sont des souches productrices de BLSE.

Bien que le contact de personne à personne demeure la principale voie de transmission des infections nosocomiales, le rôle possible des insectes ne peut être exclu. Les insectes, en effet, peuvent abriter plusieurs millions d'agents pathogènes potentiels sur leur corps et dans leur excrément fécal, y compris les bactéries (Pai *et al.*, 2004). La forte concentration de micro-organismes dans l'intestin de l'insecte et leur proximité peut en effet créer des conditions qui favorisent l'échange génétique par conjugaison et permettre l'acquisition ou le transfert des facteurs de virulence et de résistance (Petridis *et al.*, 2006, Poole et Crippen 2009). De nombreuses études ont démontré le rôle des insectes en tant que vecteurs de microorganismes pathogènes (Akinjogunla *et al.*, 2012, Garcia *et al.*, 2012, Tilahun *et al.*, 2012)

Durant cette étude nous avons isolée 4 souches (2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 souches *Enterobacter sp*) probablement productrices de BLSE chez les insectes de type moustique (*Neria sp*). Ces souches ont été isolées dans les services de réanimation et des

urgences de CHU de Bejaia. En Algérie une seule étude a été publiée par l'équipe de Loucif *et al.*, 2016 rapportant la production de BLSE de type CTX-M-15 chez des cafards (blatte germanique) dans la cuisine, les salles de gardes, et les chambres des patients au niveau de CHU de Batna. Ces enzymes ont été retrouvées chez les espèces suivantes : *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter farmeri*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella oxytoca*

Le mécanisme le plus fréquemment incriminé dans la résistance aux C3G, après la production de BLSE, étant la production de β -lactamases de type AmpC. Elles ont émergé à travers le monde dans diverses espèces des bacilles à Gram négatif comme un mécanisme de résistance acquis ou naturelle à la céfoxitine (Gharout *et al.*, 2015).

Dans la présente étude, nous avons isolées 4 souches (2 *Klebsiella pneumoniae* et 2 *Proteus mirabilis*) probablement productrice d'AmpC plasmidique chez les insectes de type moustique (*Neria sp*) et cafards (*Loboptera Decipiens*).

Les carbapénèmes sont les traitements de choix des infections sévères causées par les bacilles à Gram négatifs producteurs de BLSE (Gulmez *et al.*, 2008). La prévalence croissante de ces β -lactamases dans le monde a contribué à l'augmentation de la consommation de carbapénèmes (Hawkey *et al.*, 2012).

La dissémination des bacilles à Gram négatifs producteurs de carbapénémases chez les insectes en particulier retrouvées dans l'environnement hospitalier est un phénomène émergent. Il y a eu peu de travaux internationaux publiés à ce sujet. En Algérie, une seule étude a été publiée en 2016 par l'équipe de Loucif *et al.*, sur les cafards allemands. Le rôle important des cafards comme réservoir potentiel de bactéries multirésistantes a été démontré dans des études antérieures en Algérie (Menasria *et al.*, 2014 ; Loucif *et al.*, 2016) et d'autres pays comme la Turquie (Kutrup *et al.*, 2003), le Japon (Saitou *et al.*, 2009) et Cuba (Oliva *et al.*, 2010), ce demandent d'urgence des règlements concernant leur contrôle et leur élimination dans les zones cliniques (Tilahun *et al.*, 2012).

Dans notre étude, un total de 23 souches (18,40%) ont été isolées sur gélose Mac-Conkey Additionnée de Méropénème. le Test de CIM était positif chez 2 souches : F1 *Acinetobacter sp* (isolée chez une fourmi à la maternité) et C6 *Klebsiella oxytoca* (isolée chez un cafard à la maternité) indiquant la production probable de carbapénémase. L'étude

de Loucif *et al.*, 2016 a rapporté la détection de l'enzyme OXA-48 chez les cafards collectés dans l'hôpital de Batna. Cette enzyme est retrouvée chez la souche *E. cloacae*.

Ils ont été associés à des signes cliniques tels que les infections associées au cathéter et du tractus urinaire chez les animaux (Helie *et al.*, 1999 ; Pressel *et al.*, 2005) et les infections du tractus urinaire et de plaies chirurgicales, spécialement chez les patients immunodéprimés (Sava *et al.*, 2010).

Durant notre étude, 20 souches entérocoques ont été isolées chez les insectes et les prélèvements cliniques. 2 souches : I7 et I8 ont été retrouvées probablement résistantes à la vancomycine, avec des CMI de 64µg/ml (I7) et 256µg/ml (I8) respectivement.

Le taux des entérocoques isolés chez les insectes était 2,85% (2/85) dont deux espèces ont été identifiés comme *Enterococcus faecalis*. L'étude réalisée par Bouamama *et al.*, 2012 sur les insectes (cafards : *Periplaneta americana* et mouches : *Musca domestica*) au Maroc a montré la présence des souches d'entérocoque résistants à plusieurs antibiotiques. Cependant, aucune souche n'a été retrouvée résistante à la vancomycine. Une autre étude réalisée par Macovie et Zurek chez des mouches a montré l'absence de souches résistantes à la vancomycine parmi les Enterocoques isolées.

Bourafa *et al.*, en 2016 ont rapporté dans leur étude portant sur la caractérisation moléculaire de la résistance des souches d'*Enterococcus* isolées dans les hôpitaux du nord-est Algérien (2010 ,2013), l'absence de souches résistantes à la vancomycine.

En conclusion, il semblerait que les bactéries multi-résistantes soient largement distribuées dans différents écosystèmes. Exerçant une pression sur les micro-organismes, l'usage abusif des antibiotiques est le principal facteur épidémiologique responsable de l'émergence de la résistance. En milieu hospitalier, le traitement des infections causées par ces bactéries multirésistantes devient de plus en plus problématique.

Bien que les insectes sont nombreux et variés dans l'environnement hospitalier, leur potentiel de jouer un rôle dans l'écologie des caractères de résistance aux antibiotiques n'a pas été reconnu. Dans l'environnement hospitalier ces insectes sont en contact direct avec les patients, les aliments, les surfaces et le matériel de soin. Ils peuvent être considérés comme un réservoir de bactéries multi-résistant. Ainsi, ces derniers peuvent jouer un rôle important dans la diffusion généralisée de gènes de résistance aux antibiotiques et par conséquent constitue une menace pour la santé publique partout dans le monde.

La lutte contre l'émergence et la diffusion des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques est un axe majeur de santé publique dans le monde. L'usage optimal et diminution de la consommation des antibiotiques constitue la pierre angulaire de la réduction de l'antibiorésistance.

Une collaboration multidisciplinaire et la mise sur pied d'un programme de surveillance efficace de l'usage des antibiotiques devraient être intégrées dans les objectifs d'amélioration de la qualité des soins dans tous les établissements de santé.

En outre, la présente étude a confirmé que les insectes pourraient représenter un vecteur important non seulement dans la dissémination des bacilles à Gram négatifs producteurs de BLSE et des carbapénèmases, mais aussi comme vecteurs des entérocoques résistants à la vancomycine.

Nous recommandons de renforcer les mesures d'hygiène afin de limiter la présence des insectes en milieu hospitalier (moustiques, cafards, fourmis...etc) et de faire appel aux services spécialisés pour une lutte appropriée. L'identification des insectes constitue alors la première étape. En effet, la connaissance de celui-ci permet d'identifier rapidement ses lieux de vie, ses habitudes et besoins nutritionnels, autant d'éléments qui permettant la mise en route des moyens de lutte le plus adéquats. La vigilance reste de

mise, elle est avant tout le devoir des services d'hygiène, mais elle est aussi l'affaire de tous.

En perspective, notre étude reste préliminaire et mérite d'être plus approfondie, et doit être complétée par :

- L'étude d'un plus grand nombre et type d'insectes dans différents services.
- Les techniques de biologie moléculaire pour la caractérisation des gènes de résistance et le typage des souches.

Références

A

1. **Abraham, E.P., and Chain, E.** An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*, (1940), n°146, p. 837.
2. **Ahn, DH., Kim, KW., Cho, HK., Tchah, H., Jeon, IS., Ryoo, E., et al.** Febrile Urinary Tract Infections Caused by Community-Acquired Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing and-Nonproducing Bacteria: A Comparative Study. *Pediatr Infect Vaccine*, (2015); n°22, p.29-35.
3. **Alberti C, D., , S., Bush, K., Tenover, F.C.** Novel carbapenem-hydrolyzing betalactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, (2001); n°45, p.1151-1161.
4. **Akinjogunla, OJ., Odeyemi, AT., Udoinyang, EP.** Cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*): reservoirs of multi drug resistant (MDR) bacteria in Uyo, Akwa Ibom State. *Sci J Biol Sci*, (2012); vol 1, n°8, p.19–30.
5. **Alrabaa, SF., Nguyen, P., Sanderson, R., Baluch, A., Sandin, RL., Kelker, D., et al.,** Early identification and control of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, originating from contaminated endoscopic equipment. *Am J Infect Control*, (2013); n°41, p.562–564.

B

6. **Bachiri Tous.; Bakour. Sofiane ; Rabia. Ladjouzi ; Leangapichart. Thongpan ; Jean. Marc Rolain ; Touati. Abdelaziz.** Global Antimicrobial Resistance. n° 16.p. 01-24
7. **Batah R, Loucif L, Olaitan AO, Boutefnouchet N, Allag H, Rolain JM.** Outbreak of *Serratia marcescens* Coproducing ArmA and CTX-M-15 Mediated High Levels of Resistance to Aminoglycoside and Extended-Spectrum Beta-Lactamases, Algeria. *Microb Drug Resist*, (2015); n°21, p.470-6.
8. **Belmahdi, M., Bakour, S., Al Bayssari, C., Touati, A., Rolain, JM.** Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. *Jornal of Global antimicrobial resistance*, (2016) ; n°6, p.108-12
9. **Ben Said, L ; Jouini, a ., Klibi, N ., Dziri, R., Alonso, C.A., Boudabous, A et al .,** Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia. *Int J Food Microbiol.* (2015) ; n°203, p.86–92.
10. **Bouraafa, N., Abat C., Loucif, L., Olumuyiwa-Olaitan, A., Bentorki, A. A., Boutefnouche, N., et al.,** Identification of vancomycin susceptible major clones of clinical *Enterococcus* from Algeria. *J Glob Antimicrob Resist* , (2016) ; n°6, p.78-83.
11. **Brisse, S., and Verhoef, J.** Phylogenetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic

- DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping. *Int J Syst Evol Microbiol*, (2001); n°51, p. 915-924.
12. **Brown, C., Alhassan, AN.** Multiple-antibiotic-resistant bacteria from cockroaches trapped from a public hospital and a nearby students' hostel in Accra, Ghana. *Int J Biol Chem Sci*, (2015); n°8, p.1859–1864.
 13. **Bush, K.** The evolution of β -lactamases. in *Antibiotic resistance: origins, evolution, selection, and spread*, John Wiley and son, chichester, (1997); n°207, p.152–166.
 14. **Bush, K.** "Antibacterial drug discovery in the 21st century." *Clinical Microbiology and Infection*, (2004); n°10, p.10-17.
 15. **Bush, K., Jacoby, G.A., and Medeiros, A.A.** A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother*, (1995); vol 39, n°6, p. 1211-1233.
 16. **Bush, K., Jacoby, J.A.** Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob. Agents. Chemother*; (2010); n°54, p. 969-976.
- e*
17. **Cantón R., Akóva M., Carmeli Y., Giske C.G., Glupczynski Y., Gniadkowski M., et al.**, European Network on Carbapenemases. Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect.*, (2012), p.1413-431.
 18. **Coignard, B., Thiolet, J. M., Lacavé, L.** Enquête nationale de prévalence de des infections nosocomiales. *InVS*. (2006); n°51, p.430.
 19. **Cattoir, V., Leclercq, R.** Enterococci resistant to glycopeptides. *Med Sci (Paris)*, (2010), n°26, p. 936-942.
 20. **Cavallo, J.D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E.** Bêtalactamines. *EMC Maladies infectieuses*, (2004); n°1, p.129-202.
 21. **Cereda, F., Sader, H., Jones, R., Sejas, L. A., Zanatta, Y., et al.** Enterococcus faecalis resistant to vancomycin and teicoplanin (VAN A phenotype) isolated from a bone marrow transplanted patient in Brazil. *Braz J Infect*, (2001) ; vol.5, n°1, p.40–6.
 22. **Cetinkaya, Y., Falk, P., Mayhall, C.G.** Vancomycin-resistant enterococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, (2000); n°13, p.686-707.
 23. **Cloarec, A., Rivault, C., Fontaine, F.** Le Guyader A .Cockroaches as carriers of bacteria in multi-family dwellings. *Epidemiology and Infection*, (1992) ; n°109, p.483-490.

Références bibliographiques

24. **Courvalin, P.** Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. *Clin Infect*, (2006); n°42, p.25-34.
25. **Cuzon, G., Naas, T., Truong, H., Villegas, M.V., Wisell, K.T., Carmeli, Y., et al.** Worldwide diversity of *Klebsiella pneumoniae* that produce β -lactamase blaKPC-2gene. *Emerg Infect Dis*, (2010); n°16, p.1349-1356.
26. **Cuzon, G., Naas, T., et Nordmann P.** The réale threat of Klebsella pneumonie Carbapénèmases-producing bacteriae, *Journal of national institutes of health* 2009 ; vol.9, n°4, p.228-36.

D

27. **Depardieu, F., Podglajen, I., Leclercq, R., Collatz, E., Courvalin, P.** Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression. *Clin Microbiol*, (2007) ; n°20, p.79-114.
28. **Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W., and Jarlier, V.** Phenotypic detection of extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect*, (2008); n°14, p.90-103.

E

29. **El Salabi, A., Walsh, T.R., Chouchani, C.** Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol*, (2013); n°39, p.113-122.
30. **Endimiani, A., Luzzaro, F., Pini, B., Amicosante, G., Rossolini, G.M., and Toniolo, A.Q.** *Pseudomonas aeruginosa* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to expression of the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase. *BMC Infect Dis*, (2006); n°6, p.52-61.

F

31. **Ferech, M., and Coenen, S.** "European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe." *J Antimicrob Chemother*, (2006); vol.58, n°2, p.401-407.
32. **Fisher, J.F., Meroueh, S.O., and Mobashery, S.** Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compelling opportunism, compelling opportunity. *Chem Rev*, (2005); n°105, p.395-424.

G

33. **Ganta, SR., Perumal, S., Pagadala, SR., Samuelsen, O., Spencer, J., Pratt RF et al.** Approaches to the simultaneous inactivation of metallo and serine-betalactamases. *Bioorganic and Medical Chemistry Letters*, (2009); n°19, p.1618–22.

34. **Georgopapadakou, N.H.** Penicillin-binding proteins and bacterial resistance β -lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.* (1993); n°37, p.2045-2053.
35. **Gharout-Sait, A., Touati, A., Benallaoua, S., Guillard, T., Brasme, L., Madoux, J., et al.** CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* (2012); n°6, p.5306-5313.
36. **Gharout-Sait A, Touati, A., Guillard, T., Brasme, L., de Champs C.** Molecular characterization and epidemiology of ceftoxitin resistance among *Enterobacteriaceae* lacking inducible chromosomal ampC genes from hospitalized and non-hospitalized patients in Algeria: description of new sequence type in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Braz J Infect Dis*, (2015) ; vol.1 9, n°(2), p. 187–195
37. **Ghuysen, J.M.** Serine beta-lactamases and penicillin-binding proteins. *Annu Rev.Microbiol.* (1991); n°45, p.37-67.
38. **Gulmez, D., Woodford, N., Palepou, M.F. I., Mushtaq, S., Metan, G., Yakupogullari, Y., et al.** Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapénèmases and outer membrane protein loss. *International Journal of Antimicrobial Agents.* (2008); n°30, p.259-60.

#

39. **Haeggman, S., Löfdahl, S., Paauw, A., Verhoef, J., and Brisse, S.** Diversity and evolution of the class a chromosomal beta-lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* (2004); n°48, p.2400-2408.
40. **Hawkey, M. P., and Livermore, D.M.** Carbapenem antibiotics for serious infections. *BMJ*, (2012), n°344, p.3236.
41. **Helie, P., and R, Higgins.** *Diarrhea associated with Enterococcus faecium in an adult cat.* *J Vet Diagn Invest*, (1999); vol 11, n°5, p. 457-8.

9

42. **Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., et al.** Prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. *Int. J. Antimicrob. Agents*, (2009); n°34, p.340-342.
43. **Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Ramdani-Bougoussa, N., Lounes, S., Bakour, R., et al.** Dissemination of ESBL and Qnr determinants in *Enterobacter cloacae* in Algeria. *J. Antimicrob. Chemother.* (2008); n°62, p.133-136.
44. **Iman, D., Elie Salem, S., Elie, N., Eid, A., Ziad D.** Carriage of beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* among nursing home residents in north Lebanon (2014), p.27.

45. **Ito, H., Arakawa, Y., Ohsuka, S., Wacharotayankun, R., Kato, N., Ohta, M.** Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens*. *Antimicrob Agents Chemother*, (1995); vol.39, n°4, p.824-829.

J

46. **Jacoby, G.A., and Munoz-Price, L.S.** The new β -lactamases. *N Engl J Med*, (2005); n°352, p.380-391.

47. **Jacoby, G.A., and Medeiros, A.A.** More extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, (1991), n°35, p.1697-1704.

48. **Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G., and Philippon, A.** Extended-broad-spectrum β -lactamases conferring transferable resistance to newer β -lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*, (1988); n°10, p.867-878.

K

49. **Kardos, N., Demain, A.L.** Ernst Chain: a great man of science. *Appl Microbiol Biotechnol*, (2013); n°97, p.6613-6622.

50. **Kassiri, H., Kassiri, A., Kazemi, S.** Investigation on American cockroaches medically important bacteria in Khorramshahr hospital, Iran. *Asian Pacific J Trop Dis*, (2014); n°4, p.201-203.

51. **Knothe, H., Shah, P., Krcmery, V., Antal, M., and Mitsuhashi, S.** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, (1983); n°11, p.315-317.

52. **Kuhn, I., et al.** Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant enterococci in animals, humans, and the environment in different European regions. *Appl Environ Microbiol*, (2005); vol.71, n°9, p.5383-90.

53. **Koplan, J.P., Thacker, S.B., and Lezin, N.A.** Epidemiology in the 21st century: calculation, communication, and intervention. *Am J Public Health*, (1999); n°89, p.1153-1155.

54. **Kutrup, B.** Cockroach infestation in some hospitals in Trabzon, Turkey. *Turk J Zool*, (2003); n°27, p.73-77.

L

55. **Lagha N, Abdelouahid DE, Hassaine H, Robin F, Bonnet R.** First characterization of CTX-M-15 and DHA-1 β -lactamases among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Laghouat Hospital, Algeria. *Afr J Microbiol Res*. 2014; n°8: p.1221-7.

56. www.Lahey.com

57. **Leclerq, R., Courvalin, P.** Resistance to glycopeptides in enterococci. *Clin Infect*, (1997); n°24, p.545-56.
58. **Macovei, L., and Ludek, Zurek.** Ecology of Antibiotic Resistance Genes: Characterization of Enterococci from Houseflies Collected in Food Settings. vol. 72, n°. 6, p. 4030.
59. **Livermore, D. M.** Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med*, (2012); n°27, p.128–142.
60. **Livermore, D.M.** "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." *Clin Microbiol Rev*, (1995); vol.8, n°4, p. 557-584.
61. **Lotfi, Loucif a.b., Djamila, Gacemi-Kirane, c., Zineb, Cherak, a., Naima, Chamlal, a., Nadia, Grainat., et al.** First Report of German Cockroaches (*Blattella germanica*) as Reservoirs of CTX-M-15 Extended-Spectrum- β -Lactamase- and OX-48 Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Batna University Hospital, Algeria. (2016); vol.60, n° 10, p. 6377-6378.
62. **Lyytikäinen, O., Kanerva, M., Agthe, N., Möttönen, T., Ruutu, P.** Healthcare-associated infections in Finnish acute care hospitals: a national prevalence survey. *J Hosp Infect*, (2008); n°69, p.288-294.

M

63. **Mascaretti, O.A.** Bacteria versus antibacterial agents; an integrated approach. *Journal of American society for microbiology*, (2003); p. 420.
64. **Medeiros, A.A.** β -lactamases. *Bnt. Med. Buli*, (1984); n°40, p.18-27.
65. **Meradi, L., Djahoudi, A., Abdi, A., Bouchakour, M., Perrier Gros Claude, J.D., et al.** Qnr and aac (6')-Ib-cr types quinolone resistance among *Enterobacteriaceae* isolated in Annaba, Algeria. *Pathol. Biol. (Paris)*, (2011); n°59, p.e73-e78.
66. **Menasria, T., Moussa, F., El-Hamza, S., Tine, S., Megri, R., Chenchouni, H.** Bacterial load of German cockroach (*Blattella germanica*) found in hospital environment. *Pathog Glob Health*, (2014); n°108, p.141–147.
67. **Messai, Y., Iabadene, H., Benhassine, T., Alouache, S., Tazir, M., Gautier, V., et al.** Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathol. Biol. (Paris)*, (2008); vol.5, n°6, p.319-325.
68. **Mezhoud, H., Boyen, F., Touazi, LH., Garmyn, A., Moula, N., Smet, A et al.** Extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* in broiler breeding roosters: Presence in the reproductive tract and effect on sperm motility, (2015) ; n°.11 ; p. 159:205.

69. **Mohamed Amine, Lazrak., Ghita, El Bardai., Soumia, Jaafour., Nadia, Kabbali., Mohamed, Arrayhani., et Tarik Sqalli Houssaini.** Profile of nosocomial urinary tract infection in a nephrology ward, (2014); vol.19, n°59, p.4835.

N

70. **Naas, T., Lezzar, A., Bentchouala, C., Smati, F., Scheftel, J.M., Monteil, H., et al.** Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Senftenberg isolates producing CTX-M beta-lactamases from Constantine, Algeria. *J Antimicrob Chemother*, (2005); n°56, p.439-440.
71. **Naas, T., Poirel, L., Nordmann, P.** Minor extended-spectrum b-lactamases. *Clin Microbiol Infect*, (2008); n°14, p. 42–52.
72. **Naas, T., Lezzar, A., Bentchouala, C., Smati, F., Scheftel, J.M., et al.** Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Senftenberg isolates producing CTX-M beta-lactamases from Constantine, Algeria. *J Antimicrob Chemother*, (2005); n°56, p.439-440.
73. **Nanninga, N.** Cell division and peptidoglycan assembly in *Escherichia coli*. *Mol Microbiol*, (1991); n°5, p.791-795.
74. **Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil., et al.** Prevalence and characterization of extended spectrum beta-lactamases in *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* group bacteria, in Algeria. *Med. Mal Infect*, (2012); n°42, p.20-29.
75. **Nelson, J., Vamathevan, B., Tran, J., Upton, T., Hansen, J., Shetty, H., et al.** Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Science*, (2003); n°299, p. 2071-2074.
76. **Neuwirth, C., Siébor, E., Duez, JM., Péchinot, A., Kazmierczak, A.** Imipenem resistance in clinical isolates of *Proteus mirabilis* associated with alterations in penicillin-binding proteins. *J Antimicrob Chemother*, (1995); n°36, p.335-42.
77. **Nikaido, 1998., Masuda et al.** Nikaido H, Basina M, Nguyen V, Rosenberg EY. Multidrug efflux pump AcrAB of *Salmonella typhimurium* excretes only those beta-lactam antibiotics containing lipophilic side chains. *J Bacteriol.* (1998); n°180, p. 4686-92.
78. **Nordmann, P., Naas, T., and Poirel, L.** Global Spread of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. *EID Journal*, (2011); n°17, p.1781-1789.

O

79. **Ogier, J. C., Serror, P.** Safety assessment of dairy microorganisms: the *Enterococcus* genus. *Int J Food Microbiol*, (2008); n°126, p.291–301.

80. **Oliva, GR., Diaz, C., Fuentes, GO., Martinez, MD., Fernandez, C., Cordovi, R., Lago, PM., Herrera, N.** *Blatella germanica* as a possible cockroach vector of microorganisms in a hospital J Hosp Infect, (2010); n°74, p.93–95.
81. **Oteo, J., Perez-Vazquez, M., and Campos, J.** Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Di*, (2010); n°23, p.320-326.
- P**
82. **Pai, H. H., W. C. Chen, and C. F. Peng.** Cockroaches as potential vectors of nosocomial infections. *Infect. Control Hosp. Epidemiol*, (2004); n°25, p.979–984.
83. **Palmore, TN., Henderson, DK.** Managing transmission of carbapenem- resistant *Enterobacteriaceae* in healthcare settings: a view from the trenches. *Clin Infect Dis*, (2013); n°57, p.1593–1599.
84. **Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M.A., Bonomo, R.A.** Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrob Agents Chemother*, (2011); n°55, p.4943-4960.
85. **Paterson, D.L., Bonomo, R.A.** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *CMR*, (2005); n°18, p.657-686.
86. **Paulsen, I.T.L., Banerjee, G. S., Myers, K. E., Nelson, R., Seshadri, T. D., Read, D.E. et al.** *Microbiologic* 3e éd., De Boeck Université, Bruxelles, (2010); 1088 pages.
87. **Petridis, M., M. Bagdassarian, M. K. Waldor, and E. Walker.** Horizontal transfer of Shiga toxin and antibiotic resistance genes among *Escherichia coli* strains in house fly (Diptera: Muscidae) gut. *J. Med. Entomol*, (2006); n°43, p.288–295.
88. **Philippon, A., Arlet, G.** β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! *Ann Biol Clin*, (2006) ; vol.64, n°1, p.37-51.
89. **Philippon, A., Arlet, G., and Jacoby, G.A.** Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, (2002); n°46, p.1-11.
90. **Philippon A** .Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). *Immuno-Anal et Biol Spe*, (2013) ; p. 28,287.
91. **Pitout, JD., Hanson, ND., Church, DL., Laupland, KB.** Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended-spectrum β -lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M Genes. *Clin Infect Dis*, (2004); n°38, p. 1736-41.
92. **Poirel, L., Pitout, JD et Nordmann, P.** Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiology*, (2007), n°2, p.501-12.
93. **Pressel, M.A., et al.** *Vancomycin for multi-drug resistant Enterococcus faecium cholangiohepatitis in a cat.* *J Feline Med Surg*, (2005); vol.7, n°5, p.317-21.

Q

94. **Queenan, AM ., et Bush, K.** Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clinical Microbiology Review*, (2007); n°20, p.440-58.

R

95. **Rall, N., Andremont, A., Armand-Lefèvre, L.** Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse? *Journal des Antinfectieux*, doi:10.1016/j.antinf, (2011) ; vol.03, n°005.
96. **Ramdani-Bouguessa, N., Mendonca, N., Leitao, J., Ferreira, E., Tazir, M., and Canica, M.** CTX-M-3 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a hospital in Algiers, Algeria. *J Clin Microbiol*, (2006); n°44, p.4584-4586.
97. **Rodriguez-Villalobos, H., and Struelens, M.J.** Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Rev Réanimation*, (2006); vol.15, n°3, 205–213.

S

98. **Saitou, K., Furuhashi, K., Kawakami, Y., Fukuyama, M.** Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from cockroaches captured in hospitals in Japan, and their antibiotic susceptibility. *Biocontrol Sci*, (2009); n°14, p.155–159.
99. **Sava, I.G., E. Heikens., and J. Huebner.** *Pathogenesis and immunity in enterococcal infections*. *Clin Microbiol Infect*, (2010) ; vol., n°6, p. 533-40.
100. **Schwaber, M.J., and Carmeli, Y.** Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, (2007); n°60, p. 913-920.
101. **Stratton, C.W.** Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Leb Med J*, (2000), n°48, p.186-198.

T

102. **Tafoukt, R. ; Taouati, A. ; Leangapichart, T. ; Bakour, S. ; Relain, J.M.** Characterisation of OXA-48-Like producing *Escherichia coli* from river water in Algeria. *Jornal of water research*. 2017. Doi 10.1016/j.waters.2017.04.073.
103. **Tilahun, B., Worku, B., Tachbele, E., Terefe, S., Kloos, H., Legesse, W.** High load of multi-drug resistant nosocomial neonatal pathogens carried by cockroaches in a neonatal intensive care unit at Tikur Anbessa specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. *Antimicrob Resist Infect Control*, (2012); n°1, p.12.

Références bibliographiques

104. **Top, J., Willems, R., Bonten, M.** Emergence of CC17 *Enterococcus faecium*: from commensal to hospital-adapted pathogen. *FEMS Immunol Med Microbiol*, (2007); n°52, p.297 – 308.
105. **Touati, A., Benallaoua, S., Forte, D., Madoux, J., Brasme, L., de Champs C.** First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of Enterobacteriaceae in Béjaia, Algeria. *Int J Antimicrob Agents*, (2006); n°27, p.397-402.
106. **Touati, A., Benallaoua, S., Gharout, A., Amar AA., Le Magrex Debar, E., Brasme, L., et al .** First report of CTX-M-15 in *Salmonella enterica* serotype Kedougou recovered from an Algerian hospital. *Pediatr Infect Dis J*, (2008); n°27, p.479-80.
107. **Tumbarello, M., Spanu, T., Sanguinetti, M., Citton, R., Montuori, E., Leone, F., et al.** Bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*: risk factors, molecular epidemiology, and clinical outcome. *Antimicrob Agents Chemother*, (2006), vol.50, n°2, p.498-504.

V

108. **Van der Zwaluw, K., de Haan, A., Pluister, GN., Bootsma, HJ., de Neeling, A.J., Schouls LM.** The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One*, (2015); vol.10, n°0123690.
109. **Vander-Stichele, R.H., Elseviers, M.M., Ferech, M., Blot, S., Goossens, H., and European Surveillance of Antibiotic Consumption (ESAC) Project Group.** "Hospital consumption of antibiotics in 15 European countries: results of the ESAC Retrospective Data Collection (1997-2002)". *J Antimicrob Chemother*, (2006); n°58.1, p.159-167.
110. **Vodovar, D., et al.** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *Rev Med Interne*. (2012) ; vol.34, n°11, p.687-693.

W

111. **Walsh, TR., Toleman, MA., Poirel, L et Nordmann, P.** Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm?. *Clinical Microbiology Reviews*, (2005); n°18, p.306-325.
112. **Woodford, N., Turton, J.F., Livermore, D.M.** Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev*, (2011); n°35, p.736-755.

X

113. **Xu, X., Lin, D., Yan, G., Ye, X., Wu, S., Guo, Y., et al.** vanM, a new glycopeptide resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*, (2010); n°54, p.4643-4647.
- 114.

Y

115. **Yanat Betitra ; Vinuesa Teresa ; Vinas.Miguel ; Touati Abdelaziz.** Determinants of quinolone resistance in *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract infection in Bejaia, Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. n° 10, p. 462-467.
116. **Yaici. Lydia ; Morisa. Haenni ; Estela Sara ; Wafa Boudehouche ; Abdelaziz Touati.** bla_{NDM-5} carrying IncX3 plasmid in *Escherichia coli* ST1284 isolated from raw milk collected in a dairy farm in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* Advance Access.2016. n°10, p. 160.
117. **Yong, D., Toleman, M.A., Giske, C.G., Cho, H.S., Sundman, K., Lee, K., et al.** Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla*(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother*, (2009); vol.53, n°12, p.5046-5054.

Annexes

Annexe I :

Tableau I : composition des milieux de culture utilisé durant cette étude.

Gélose	composition	Gélose	composition
Mac Conkey	Peptone de caséine17 g Peptone de viande 3 g Lactose 10 g Mélange de sels biliaires 1.5 g Chlorure de sodium 5 g Rouge neutre..... 0.03 g PH=7,3 ± 2	TSI	Extrait de viande de boeuf 3 g Etrait de levure 3 g Peptone trypsique 20 g Chlorure de sodium 5 g Citrate ferrique 0.3 g Thiosulfate de sodium..... 0.3 g Lactose 10 g Glucose 1 g Saccharose 10 g PH=7,4 ± 2
Mueller Hinton	Infusion de viande de boeuf..... 3 g Hydrolysate de caséin.....17.5 g Amidon 1.5 g Agar 17 g PH=7,4 ± 2	BEA	Tryptone.....17 g Peptone pepsique de viande3 g Extrait autolytique de levure.....5 g Bile de boeuf bactériologi.....10 g Chlorure de sodium..... 5 g Esculine1 g Citrate ferrique ammoniacal0,5 g Azide de sodium0,15 g Agar agar bactériologique.....13 g PH=7,1 ± 2
EMB	Peptone pancréatique de gélatine..... 10g Lactose 10,0 g Phosphate dipotassique 2,0 g Eosine Y 0,4 g Bleu de méthylène 65 mg Agar agar bactériolo..... 15 g PH=7 ± 2	Citrate De Simmons	Sulfate de magnésium 0.2g Phosphate monoammonique 1g Phosphate bipotassique 1g Chlorure de sodium 5g Citrate de sodium 2g Bleu de bromothymol 0.08g Agar 15g PH= 7.1 ± 2

<p>Urée Indole</p>	<p>L-tryptophane3 g Phosphate monopotassique 1 g Phosphate bipotassique 1 g Chlorure de sodium 5 g Urée 20 g PH=7 ± 2</p>	<p>Tryptic- ase soja</p>	<p>Peptone trypsique de caséine.....17 g Peptone papainique de soja 3 g Chlorure de sodium5 g Phosphate bipotassique2 g PH=7.3 ± 2</p>
<p>Clark Lubs</p>	<p>Peptone trypsique de viande 5 g Phosphate bipotassique 5 g Glucose 6 g PH=7 ± 2</p>	<p>Bouillon nutritif</p>	<p>Peptone 10g Chlorure de sodium 5g Extrait de viande 5g PH = 7,2± 2</p>
<p>Mannitol Mobilité</p>	<p>Peptone 20g Nitrate de potassi..... 1g Mannitol 2g Rouge de phénol 0,04g PH =8,1</p>	<p>Bouillon nitraté</p>	<p>Bouillon nutritif 1L Nitrate de potassium 1g</p>
<p>Eau peptonée</p>	<p>Peptone exempte d'indole.....15g Chlorure de sodium5g PH =7,2± 2</p>	<p>Milieu Urée Indole</p>	<p>L-tryptophane3g Phosphate monopotassique1g Phosphate bipotassique1g Chlorure de sodium 5g Urée 20g Alcool à 9510ml Rouge de phénol 0,025g PH= 7</p>

Tableau II : les milieux de culture utilisés durant cette étude.

Gélose Mueller-Hinton	Réalisation des antibiogrammes.
Gélose nutritive	conservation des souches isolées.
Gélose EMB	Isolement des entérobactéries.
Gélose Hektoen	Isolement des entérobactéries.
Mac Conkey	L'isolement des entérobactéries.
Bouillon Trypticase Soja	Enrichissement et culture des microorganismes.
BEA	Isolement des entérocoques.
VRBL	Isolement des entérobactéries et repiquage.

Tableau III : les réactifs utilisés durant cette étude.

Réactifs	Utilisation
NRI et NRII	Révélation du nitrate réductase
La poudre de zinc	Confirmation du test du nitrate réductase
Réactif de Kovacs	Mettre en évidence la production de l'indole
VPI et VPII	Révélation de la formation d'acétoïne
RM (Rouge de méthyle)	Révélation de la formation d'acides mixtes

Annexe II : identification des souches isolées durant cette étude.

Tableau I : Résultat d'identification des souches productrice de BLSE

Code	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Man	Mob	VP	RM	NR	CS	EPEI	Urée	IND	TDA	Espèce	Agar-Chrom-
Cop1	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	NT	NT	NT	<i>E. coli</i>	Colonies Rose à pourpre
Cop4	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	NT	NT	NT	<i>E. coli</i>	Colonies Rose à pourpre
Cop5	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	NT	NT	NT	<i>E. coli</i>	Colonies Rose à pourpre
Uri3	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	NT	NT	NT	<i>E. coli</i>	Colonies Rose à pourpre
Uri4	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	NT	NT	NT	<i>E. coli</i>	Colonies Rose à pourpre
Uri5	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	NT	NT	NT	<i>E. coli</i>	Colonies Rose à pourpre
Cop10	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Enterobacter sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
I3	+	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	<i>Enterobacter sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
I15	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies bleu vert à bleues

Tableau II: Résultat d'identification des souches productrice de BLSE après le test de cloxacilline.

Code	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Man	Mob	VP	RM	NR	CS	EPEI	URE	IND	TDA	Espèce	Chrom-agar
I23	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies bleu vert à bleues
I31	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	<i>Enterobacter Sp</i>	Colonies bleu vert à bleues

Tableau III: Résultat d'identification de souches résistantes aux C3G après test de cloxacilline

Code	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Man	Mob	VP	RM	NR	CS	EPEI	URE	IND	TDA	Espèce	Chrom-Agar
Cop 10	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Enterobacter sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
I 3	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Enterobacter sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
I 15	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies bleu vert à bleues
I 23	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies bleu vert à bleues
I 31	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Enterobacter sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
I 20	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	<i>BGNF</i>	Colonies Pales à beiges
I 30	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	<i>Proteus Mirabilis</i>	Colonies Pales à beiges

Annexes

I 33	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	<i>Serratia</i> <i>sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
F 1	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	<i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
C 6	+	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella</i> <i>sp</i>	Colonies bleu vert à bleues
C 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Acinetobacter</i> <i>sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
C 8	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Pseudomonas</i> <i>sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches brunâtres
C 10	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Yersinia</i> <i>Sp</i>	NT
C 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>BGN NF</i>	NT
C 12-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>BGN NF</i>	NT
C 13	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	<i>BGN NF</i>	NT
C 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Acinetobacter</i> <i>sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
C 15	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Acinetobacter</i> <i>sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches Opaque
C 9	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>BGN NF</i> <i>KES</i>	Colonies bleu vert à bleues

Tableau IV: Résultat d'identification de souches sensibles aux C3G après DD-test avec cloxacilline (250 µg/ml).

Code	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Man	Mob	VP	RM	NR	CS	EPEI	URE	IND	TDA	Espèce	Chrom Agar
I20	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	<i>BGNF</i>	Colonies Pales à beiges
I21	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	<i>Pseudomona s spp</i>	Colonies Muqueuse Blanches brunâtres
I25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
I27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
I28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
I26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
I29	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Colonies bleu vert à bleues
I30	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>	Colonies Pales à beiges
I32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
I34	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	<i>BGNF</i>	NT

I35	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	<i>Proteus mirabilis</i>	Colonies Pales à beiges
I36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
I37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque

Tableau IV : Résultat d'identification des souches productrice de carbapénèmase

Code	Glu	Lac	H ₂ S	Gaz	Man	Mob	VP	RM	NR	CS	EPPI	URE	IND	TDA	Espèce	Chrom-agar
F1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	<i>Acinetobacter sp</i>	Colonies Muqueuse Blanches opaque
C6	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Colonies bleu vert à bleues

Annexes III: Prélèvements réalisées au cours de cette étude.

Tableau I : Prélèvements rectaux et urinaires

Code	Type de prélèvement	Date de Prélèvement	Hôpital	Service	Isolement Sur Mac +CAZ +Van	Isolement Sur Mac +Méro +Van	Isolement Sur BEA +Col +Van
Cop _B 1	rectal	07/03/2017	KH-A, Bejaia	Réanimation	-	-	-
Cop _B 2	rectal	07/03/2017	KH-A, Bejaia	Réanimation	+	-	-
Cop _B 3	rectal	07/03/2017	KH-A, Bejaia	Réanimation	-	-	-
Cop _B 4	rectal	07/03/2017	KH-A, Bejaia	Réanimation	+	-	-
Cop _B 5	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Orthopédie	+	+	-
Cop _B 6	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Orthopédie	+	+	-
Cop _B 7	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Orthopédie	+	-	-
Cop _B 8	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Orthopédie	+	+	-
Cop _B 9	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Orthopédie	+	-	-
Cop _B 10	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Orthopédie	+	-	-
Cop _B 11	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Réanimation	+	+	+
Cop _B 12	rectal	08/03/2017	KH-A, Bejaia	Réanimation	+	+	+
Cop _A 1	rectal	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	+	-
Cop _A 2	rectal	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	+	-
Cop _A 3	rectal	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	+
Cop _A 4	rectal	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	+	-
Cop _A 5	rectal	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	+	-
Cop _A 6	rectal	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Cop _A 7	rectal	20/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
Cop _A 8	rectal	20/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
Cop _A 9	rectal	20/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
Cop _A 10	rectal	20/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
Uri1	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Uri2	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Uri3	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Uri4	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Uri5	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Uri6	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	+	-	-
Uri7	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
Uri8	urinaire	19/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-

I43	<i>Neria sp</i>	20/02/2017	Arris-2, Batna	Hémodialyse	-	-	-
-----	-----------------	------------	----------------	-------------	---	---	---

Tableau III : Les prélèvements réalisés au cours de cette étude : insecte de type cafard.

Code	Espèce	Date de prélèvement	Hôpital	Service	Isolement Sur Mac +CAZ +Van	Isolement Sur Mac +Méro +Van	Isolement Sur BEA +Col +Van
C1	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C2	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
C3	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
C4	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
C5	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
C6	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	+	+
C7	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C8	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C9	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	+	-
C10	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C11	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C12	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C13	<i>Liboptera decipiens</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-
C8ex	<i>Blatte Américaine</i>	20/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
C9 int	<i>Blatte Américaine</i>	20/02/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C10 int	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+

C11 int	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C12 int	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C13 int	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C14 int	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C15 int	<i>Blatte Américaine</i>	6/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C16int	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C9 ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C10 ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
C11 ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C12 ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	-
C13ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2,Batna	Pédiatrie	-	-	+
C14 ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+
C15ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2,Batna	Pédiatrie	-	-	+
C16ex	<i>Blatte Américaine</i>	16/04/2017	Arris-2, Batna	Pédiatrie	-	-	+

Tableau IV : Les prélèvements réalisés au cours de cette étude : insecte de type fourmis

Code	Espèce	Date de prélèvement	Hôpital	Service	Isolement Sur Mac +CAZ +Van	Isolemen Sur Mac +Méro +Van	Isolement Sur BEA +Col +Van
F1	<i>Formicidés</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	+	-	-

Annexes

	<i>Pharaonis</i>						
F2	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
F3	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
F4	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
F5	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	22/04/2017	Tar-O, Bejaia	Maternité	-	-	-
F6	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	07/04/2017	Arris-2, Batna	Laboratoire	-	-	-
F7	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	07/04/2017	Arris-2, Batna	Laboratoire	-	-	-
F8	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	07/04/2017	Arris-2, Batna	Laboratoire	-	-	-
F9	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	07/04/2017	Arris-2, Batna	Laboratoire	-	-	-
F10	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	07/04/2017	Arris-2, Batna	Laboratoire	-	-	-
F11	<i>Formicidés</i> <i>Pharaonis</i>	07/04/2017	Arris-2, Bata	Laboratoire	-	-	-

Annexe IV : Les antibiotiques testés

Antibiotiques	Abréviations	Charge (µg)	La marque	Familles	Diamètres Critiques (EUCAST 2013,2017).	
					S≥	R<
Amoxicilline-acide clavulanique	AMC	20/10	Cypress diagnostic	β-lactamines	21	16
Céfoxitine	FOX	30	Cypress diagnostic Bioanalyse Oxoid		19	19
Aztréonam	ATM	30	Cypress diagnostic		27	21
Céfotaxime	CTX	30	Cypress diagnostic		26	23
Céftazidime	CAZ	30	Cypress diagnostic		26	21
Imipénème	IMP	10	Cypress diagnostic		22	16
Méropénème	MEM	10	Cypress diagnostic Biorad		22	16
Ertapénème	ERT	10	Cypress diagnostic Biorad		25	22
vancomycine	VA	30	Bioanalyse		Glycopeptides	17
vancomycine	VA	05	Biorad	Glycopeptides	12	12

Annexe V : Coloration de Gram

Réalisation du frottis

- Placer une goutte d'eau distillée sur la lame.
- Prélever stérilement les bactéries à partir des boîtes de Pétri.
- Emulsionner le prélèvement dans la goutte d'eau.
- Etaler sur la lame par un mouvement de va et vient.

- Le frottis doit être invisible à l'œil ; et l'étalement doit être homogène.
- Fixer à la chaleur ; passer la lame 3fois dans la flamme du bec bunsen, le frottis étant situé du côté opposé à la flamme, ensuite laisser la lame refroidir.
- Le frottis doit être parfaitement sec.

Coloration du frottis

- Recouvrir le frottis fixé de violet de gentiane, laissé agir 1min.
- Egoutter le colorant.
- Sans laver ; recouvrir avec la solution de Lugol ; laisser agir 30secondes.
- Egoutter le colorant.
- Recouvrir à nouveau avec la solution de Lugol ; laisser agir 20secondes.
- Egoutter et laver la lame abondamment à l'eau.
- Bien égoutter la lame.
- Décolorer le frottis avec l'alcool/acétone 10 20secondes.
- Laver abondamment à l'eau.
- Recouvrir avec la solution de fuschine ; laisser agir 1min.
- Laver à l'eau
- Sécher et observer à l'immersion x100.

Résumé

Objectif : La dissémination mondiale de bactéries multirésistantes représente une menace de santé publique majeure dans l'environnement hospitalier. Le but de cette étude était de rechercher des bactéries productrices de BLSE, de carbapénèmases et aussi des ERV dans l'environnement hospitalier, isolées de prélèvements pathologiques et chez les insectes au niveau de l'hôpital de Bejaia et de Batna.

Méthodes : Un total de 125 prélèvements incluant 85 insectes et 40 prélèvements pathologiques ont été réalisés au niveau de CHU de Bejaia et de l'EPH de Arris-2 Batna. Après l'isolement et l'identification, les phénotypes de résistance aux antibiotiques ont été déterminés par l'utilisation des tests phénotypiques incluant le DD-test, test à la cloxacilline et test CIM. La détermination de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis la vancomycine est réalisée par la méthode de diffusion sur gélose MH puis l'identification par une série de tests classiques et les CMI des souches résistantes ont été déterminées.

Résultats : Sur un total des 125 souches isolées, la production probable de BLSE était déterminée chez 8 souches de prélèvement pathologiques : 7 souches de *E. coli* et une souche d'*Enterobacter sp.*, et 4 souches isolées chez les insectes de type moustique. La résistance aux C3G par la production d'AmpC plasmidique était détectée chez 4 souches isolées chez les moustiques et cafards: 2 souches *K. pneumoniae* et 2 souche *P. mirabilis*. Le test CIM a montré un résultat positif chez la souche isolées chez les insectes indiquant ainsi la production probable d'une carbapénémase. La résistance vis-à-vis de la vancomycine des entérocoques était déterminée chez 2 souches *E. faecalis* isolées chez les moustiques.

Conclusion : Les insectes en milieu hospitalier servent de vecteur et de réservoir de bactéries multirésistantes.

Mots-clés : Résistance aux antibiotiques, Insectes, Entero-coques, Bacilles à Gram négatif, milieu hospitalier.

Abstract

Background: Emergence and distribution of multi-drug resistant (MDR) bacteria in the hospital is a major public health. The study was aimed to describe Gram negative bacteria producing ESBL, carbapenemases and also VRE in the hospital environment isolated from pathological samples and insects at the hospital of Bejaia and Batna.

Method: A total of 125 samples including 85 insects and 40 pathological samples were collected at Bejaia University Hospital and Arris 2 Batna Hospital. After identification, the phenotypes of resistance to β -lactams were determined by phenotypic tests including DD-test, cloxacillin test and CIM test. The antimicrobial susceptibility of enterococci to vancomycin were determined by the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar and MICs of the resistant strains were determined.

Result: Out of a total of 125 strains isolated, the probable production of ESBL was found in 8 strains of pathological samples: 7 strains of *E. coli* and one strain of *Enterobacter sp.*, and 4 strains isolated in mosquito insects. The presence of plasmidic AmpC was detected in 4 strains isolated from mosquitoes and cockroaches : 2 strains *K. pneumonia* and 2 strains *P. mirabilis*. The CIM test showed a positive result in strain isolated from insects indicating the probable production of a carbapenemase. Vancomycin resistance enterococci were found in 2 strains *Enterococcus faecalis* isolated from mosquitoes.

Conclusion: Insects in hospitals serves as vector and reservoir of multiresistant bacteria.

Keywords: antibiotic resistance, insect, enterococci, BGN, hospital.