

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 flore résistante aux antibiotiques isolée
chez les insectes : cas de l'hôpital Khenchela et
Chelghoum-Elaid-Mila.**

Présenté par :

BOUHEDJAR Ikhlas &BOUCHAREB Ouafa

Soutenu le : 19/06/2017

Devant le jury composé de :

Mr AMIR N.	MCA	Président
Mme GHAROUT A.	MCB	Encadreur
Mme BELHADI K.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016 /2017

Remerciement

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

*Nous remercions notre promotrice Mme **Gharout Alima**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant ce travail, pour leur aide, leurs conseils, ainsi que pour sa gentillesse et sa disponibilité tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nous remercions notre membre de jury Mr **Amir** et Mme **Zenati**, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions*

On remercie particulièrement Mr Boukhalfa

Et au personnels de laboratoire de l'université spécialement Mme Rahmani,

A l'équipe du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Chelghoum l'Aid

A toute l'équipe médicale et paramédicale de la maternité de kenchela

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Enfin nous adressont un sincère remerciement à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail...

*A ma chère **MAMAN** qui m'a donné la vie, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, elle a veillé tout au long de ma vie à m'encourager et à me conseiller.*

*A mon **PÈRE** qui a fait beaucoup d'efforts pour la poursuite de mes études dans de bonnes conditions. J'espère que je serai toujours à la hauteur de ses espérances. « Je vous souhaite tout le bonheur du monde; je vous aime beaucoup »*

*A mes deux adorables frères **WAIL** et **OMAR** ; qui occupent une grande place dans ma vie, je vous souhaite beaucoup de réussite dans vos études.*

*A mes très chères et adorables sœurs **WIDAD** et **IKHLAS**, qui m'ont soutenu moralement et financièrement pendant toutes ces années, je vous souhaite une merveilleuse vie.*

A Tous les membres de ma famille; cousins, cousines, tantes, oncles, et surtout mes grandes mères, que dieu vous comble de santé, et vous donne une longue vie.

*A mes chères amies **IKHLAS**, **CHAIMA**, **IMEN**, **ZAHRA**, **HALA** et **MIMA***

A tous ceux qui sont chers, que dieu les garde.

MERCI À TOUS

WAFÀ

Je dédie ce Mémoire ...

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie
et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu le
garde dans son vaste paradis*

MON PÈRE.

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma
vie et mon bonheur*

MA MÈRE

Qui m'a toujours aidé et encouragé et je l'adore énormément

MA SŒUR SOUMIA

*A ceux qui m'ont toujours aidée, écouté, soutenu et encouragé tout au long de
mon parcours, ceux qui ont toujours été présents pour moi*

Mes très chers frères SALAH et CHAMES AL DINNE

À ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail :

famille DEHIMI

Mes très chères tantes et oncles.

*Aux personnes qui m'ont énormément aidé et Pour leur soutien moral et leurs
sacrifices le long de ma formation.*

Mes chers amis de CHELGHOU M L'ÂÏD, BEJAÏA et BARIKA

IKHLASS

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction	1
<i>Matériel et méthodes</i>	
I. Objectif et présentation de travail.....	6
II. Enrichissement et l'isolement.....	7
II.1. Bactéries à Gram positif	7
II.2. Bactéries à Gram négatif.....	9
II.3. Identification des souches.....	10
III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques.....	12
III.1. Etude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine.....	12
III.2. Détermination des phénotypes de résistance aux β -Lactamines chez les Bacilles Gram négatif.....	13
<i>Résultats</i>	
II. Souches bactériennes	16
III. La recherche des entérocoques résistants à la vancomycine.....	16
IV. Détermination des phénotypes de résistance aux β -Lactamines.....	17
IV.1. Recherche des Bacilles à Gram négatif résistants aux C3G.....	17
IV.2. Recherche des Bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes.....	18
<i>Discussion</i>	22
<i>Conclusion</i>	26
<i>Références bibliographiques</i>	
<i>Annexes</i>	

Liste d'abréviations

AMC : Amoxicilline / Acide clavulanique.

ATB : Antibiotique.

ATM: Aztréonam.

ATCC: American Type Culture Collection.

BGN : Bacilles à Gram Négatif.

BLSE : β -Lactamase à Spectre Elargi (ou Etendu).

BMH : Bouillon Muller Hinton.

CAZ : Ceftazidime.

CIT : Citrate de Simmons.

CIM : Carbapenem Inactivation Method

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

CST : Colistine.

CTX-M : Céfotaximase-Munich

CTX : Céfotaxime.

C3G : Céphalosporine de troisième génération.

C4G : Céphalosporine de quatrième génération.

DD-Test: Double-Disc Test.

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique.

EPH : Etablissement public hospitalier.

EPC : Entérobactérie productrices de carbapénèmes.

EMB: gélose Eosin Methylene Blue.

ERV : Entérocoques résistants à la vancomycine.

ERT: Ertapénème.

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

FEP: Céfépime.

FOX: Céfoxitine.

I : Intermédiaire.

Liste d'abréviations

IND : Indole.

IPM : Imipénème.

KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase.

LAC : Lactose.

MEM: Méropénème.

MAN: Mannitol.

MH: Mueller Hinton.

MOB : Mobilité.

MBL : Métallo- β -lactamase

Nacl : Chlorure de Sodium.

NR : Nitrate Réductase.

NDM: New Delhi métallo- β -lactamase.

OXA-48 : Oxacillinase.

PLP : Protéine liant les Pénicillines

R : Résistant.

RM : Rouge de Méthyle.

S: Sensible.

SHV: Sulfhydryl Variable

TEM: Témocilline.

TSI: Three Sugar and Iron.

Figure 1 : Sites de prélèvement	06
Figure 2 : La disposition des disques d'antibiotique dans le DD-Test	14
Figure 3 : Schéma du test CIM	15
Figure 4 : Image de synergie de la souche <i>Enterobacter sp</i> (E41CI) Sur MH avec et sans Cloxacilline	19
Figure 5 : Test CIM positif pour les souches d' <i>Acinetobacter sp</i> : E12C et E08C	20

Tableau I : Différents prélèvements effectués	6
Tableau II : Galerie biochimique d'identification des bactéries à Gram négatif	10
Tableau III : Aspect des colonies sur Chromagar	11
Tableau IV : Caractéristiques des souches d' <i>Entérocoque</i> résistant à la vancomycine	17
Tableau V : Résultats des CMI des souches d' <i>Entérocoques</i>	18
Tableau VI : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et MH additionné de cloxacilline pour la souche E41CI	19
Tableau VII : Caractéristiques des souches positives	20
Tableau VIII : Résultats de l'antibiogramme pour les souches résistantes aux carbapénèmes	21

Tableau en annexes

Annexe I :

- Composition des milieux de culture.

Annexe II :

- **Tableau (I)** : Interprétation des diamètres critiques des zones d'inhibitions selon les recommandations actualisées du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
- **Tableau (II)** : Caractéristiques des souches isolées sur gélose BEA
- **Tableau(III)** : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et MH additionné de cloxacilline
- **Tableau(IV)** : Résultats d'identification des souches par la galerie biochimique



INTRODUCTION

Au début du 21^{ème} siècle, les maladies infectieuses ont été la principale cause de décès dans le monde mais le succès de la découverte des antibiotiques (ATB) en 1928 par Alexander Fleming a changé la donne (**Kong *et al.*, 2011**).

Les antibiotiques sont des médicaments capables d'entraîner la destruction ou l'arrêt de la multiplication des micro-organismes, empêchant le développement de certaines cultures de bactéries (**Doublet *et al.*, 2012**), leurs cibles d'activité sont des structures moléculaires spécifiquement bactériennes. Elles ont donc une toxicité sélective pour les cellules procaryotes et une toxicité faible pour les cellules eucaryotes (**Avril *et al.*, 2002**).

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle important dans la lutte contre de nombreuses infections et leur développement a révolutionné le traitement des maladies infectieuses. Leur découverte a été l'une des principales causes de l'augmentation spectaculaire de l'espérance de vie moyenne durant le 21^{ème} siècle (**Yim, 2011**). L'utilisation des antibiotiques en tant que médicaments chez l'Homme et l'animal est considérée comme un des progrès majeurs de la médecine car elle a permis de réduire de manière spectaculaire la morbidité et la mortalité de nombreuses maladies infectieuses d'étiologie bactérienne (**Doublet *et al.*, 2012**).

Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois irrationnelle de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier (**Soussy, 2007**). Il est reconnu que l'usage des antibiotiques en production animale exerce une pression de sélection qui favorise l'émergence et la diffusion de bactéries résistantes. Cette pression de sélection peut s'exercer au niveau de la flore bactérienne commensale des animaux, en particulier celle du tube digestif (**Sunde *et al.*, 1998**).

Il existe plusieurs classes d'antibiotiques en usage actuellement, les Bêta-lactamines sont les antibiotiques les plus prescrits. Les B-lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus importante, aussi bien par le nombre et la diversité des molécules utilisables que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. La grande variété de leurs modes d'administration, leur large spectre d'activité antibactérien associé à une action bactéricide, une bonne diffusion tissulaire, une bonne tolérance et un faible nombre d'interactions médicamenteuses expliquent leur popularité et l'importance de leur utilisation, seules ou en associations (**Cavallo *et al.*,**

2004). Leur structure repose sur un cycle β -lactame. En fonction du cycle adjacent, plusieurs familles se distinguent, ce qui explique la diversité des molécules : pénicillines (cycle pénème), céphalosporines (cycle céphème), imipénème (cycle pénème) et les inhibiteurs des β -lactamases (cycle clavame) (Jacoby et Bush, 2005). Leur mécanisme d'action est basé sur la liaison aux PLPs (protéine fixant la pénicilline) et interfèrent avec la synthèse du peptidoglycane (Chemelle, 2013).

Les β -lactamases constituent le principal mécanisme de la résistance naturelle et acquise aux β -lactamines, en particulier chez les bactéries à Gram négatif (Philippon *et al.*, 2006) hydrolysant le pont amide du cycle β -lactame pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (Barrial *et al.*, 2006).

Une classification moléculaire des B-lactamases, impliquant la connaissance de la structure primaire des B-lactamines. Selon Ambler, les bêta-lactamases de classes A, C et D font partie des enzymes à sérine active, c'est-à-dire qui possèdent dans leur site actif une sérine qui intervient dans le mécanisme d'acétylation au cours de l'hydrolyse des Bêta-lactamines. Par contre la classe B inclut les métallobêta-lactamases dont l'activité nécessite la présence d'ions métalliques. Une classification fonctionnelle selon Bush a été proposée en 1989 basée sur le spectre préférentiel des enzymes et la sensibilité des β lactamases aux inhibiteurs (Bush *et al.*, 1995).

Les BLSE ont d'abord été signalé au milieu des années 1980 chez *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* qui hydrolysent les oximino- β -lactames (Bardford, 2001). Les premiers BLSE rapportés de 1985 à 1987 sont des dérivés de SHV et TEM (Bonnet, 2004). Les BLSE de type CTX-M ont émergé dans le monde entier (Mena *et al.*, 2006) et ont été décrites pour la première fois en Allemagne en 1989 chez les entérobactéries (Kariuki *et al.*, 2001). Les souches productrices de BLSE sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamase (acide clavulanique, sulbactam et tazobactam) (Morin *et al.*, 2003). Ces enzymes confèrent des niveaux de résistance variables aux céphalosporines et monobactames mais aucune activité contre les céphamycines et les carbapénèmes (Dhillon et Clark, 2012).

Les céphalosporinases sont des β -lactamases de classe C (Jacoby, Bush, 2010). Leur spectre d'action inclut les pénicillines, les céphalosporines et les monobactames mais les C4G telle que le céfépime et les carbapénèmes sont habituellement exclues du spectre d'action. Les Céphalosporinases à spectre étendu ont été signalées chez plusieurs

entérobactéries qui confèrent une sensibilité réduite à toutes les céphalosporines y compris les C4G. Ces enzymes sont inhibées par la cloxacilline (**Martinez et al., 2009**).

Les carbapénèmes sont des β -lactamines telles que l'imipénème et l'ertapénème possédant le plus large spectre d'action et la plus grande activité à l'égard des bactéries à Gram positif et Gram négatif. Ils sont utilisés dans le traitement des infections nosocomiales sévères en réanimation et qui constituent un traitement de premier choix (**Wolff et al., 2009**). Malheureusement l'émergence des entérobactéries productrices de carbapénémases EPC menacent l'efficacité de cette classe d'antibiotique, et plusieurs études montrent que la résistance aux carbapénèmes augmentent dans le monde (**Wallace et al., 2011**). Les gènes codants pour ces carbapénémases sont généralement associés à des éléments génétiques mobiles ce qui permet leur dissémination (**Wellington et al., 2013**).

Les carbapénémases de type KPC appartiennent à la classe A d'Ambler. Les types KPC sont les plus fréquentes et les plus menaçantes, qui ont été très largement rapportées dans le monde (**Nordmann et al., 2009**). Ces enzymes ont été très décrites chez *K. pneumoniae* et *E. coli* en Israël et en Grèce (**Leavitt et al., 2010**). Ces enzymes ont la capacité d'hydrolyser toutes les β -lactamines y-compris les carbapénèmes et sont inhibées par le clavulanate et le tazobactame (**Queenan et Bush., 2007**).

Les Métallo- β -lactamase (new Delhi β -lactamase) sont des carbapénémases de classe B. Le NDM-1 est l'un des métallo-bêta-lactamases les plus récemment décrites (**Yong et al., 2009**). Ces enzymes sont capables d'hydrolyser toutes les β -lactamines à l'exception de monobactames (**Horsfall et al., 2007**). Leur activité est inhibée par l'EDTA mais pas par l'acide clavulanique (**Walsh et al., 2005**).

Les carbapénémases de type OXA-48 appartiennent à la classe D d'Ambler, qui décrite tout d'abord chez *K.pneumoniae* en Turquie (**Poirel et al., 2004**), où y plusieurs épidémies d'infections nosocomiales sont associées à ce type de souches. OXA-48 est le type le plus difficile à identifier, elle hydrolyse par contre beaucoup plus les carbapénèmes mais pas les C3G et les monobactames, leur activité n'est pas inhibée par l'EDTA ou l'acide clavulanique (**Walsh et al., 2008**). Chez les Bacilles à Gram négatif non fermentaires, les enzymes de type OXA-23, OXA-24 et OXA-58 sont les plus retrouvés (**Poirel et Nordmann, 2006**).

Les entérocoques sont des streptocoques de groupe D (**Lebreton et al., 2014**). Leur principale source est l'intestin des humaines et des animaux (**Khatab et al., 2015**). Ce sont des cocci à Gram positif, ont une catalase négative, se sont habituellement aéro-anaérobies facultatif (**Fisher et al., 2009**). Ils sont parmi les principaux agents d'infection nosocomial dans les hôpitaux (**Vanhorn et al., 1996**).

Les entérocoques résistants à la vancomycine «VRE» font partie des principaux agents pathogènes nosocomiaux dans le monde (**Getachew et al., 2013**). L'acquisition de VRE a été associée à un séjour hospitalier prolongé et à une durée d'hospitalisation antérieure, à un traitement antibiotique (**Adams et al., 2016**). Le terme VRE comprend plusieurs combinaisons d'espèces bactériennes et des gènes de résistance (**Nilsson, 2012**). Des distinctions peuvent être faites entre une résistance naturelle non transmissible (Van C) et une résistance intrinsèque acquise, dont Van A et Van B, qui sont les plus cliniquement pertinents (**Stinear et al., 2001**).

Les infections nosocomiales constituent un fardeau majeur de la santé publique avec de graves conséquences économiques, qui sont exacerbées par la résistance aux antibiotiques (**OMS, 2002**). Ces infections bactériennes résistantes aux antibiotiques entraînent des taux de mortalité plus élevés pour les patients, des hospitalisations prolongées et une augmentation des coûts des soins de santé (**Hall, 2004**).

Des études réalisées au 19^{ème} siècle ont montré que les insectes ont un rôle important dans la transmission des maladies aux humains (**Soureshjani et al., 2013**). Les cafards sont préoccupants dans l'environnement hospitalier, car ils peuvent servir de réservoirs pour les pathogènes nosocomiaux (**Cloarec et al., 1992**), ils s'alimentent facilement sur les excréments, les expectorations, les déchets et autres détritiques humains, ainsi que sur une variété de produits alimentaires (**Patience et al., 2013**). Les mouches peuvent également jouer un rôle important dans la propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques (**Usui et al., 2013**).

En Algérie, Une seule étude qui a été publiée dans la base des données Pub Med (**Loucif et al., 2016**) concernant la recherche des entérobactéries résistantes aux C3G et aux carbapénèmes chez les cafards.

L'objectif de notre étude est de rechercher des bacilles à Gram négatif producteurs de BLSE et de carbapénémases ainsi que la recherche des entérocoques résistants à la

vancomycine chez les insectes collectés de deux Wilaya Mila et Khenchela, selon la méthodologie suivant :

1. Isolement et identification des Bacilles à Gram négatif résistantes aux C3G, aux carbapénèmes et des entérocoques résistants à la vancomycine.
2. Détermination de leur sensibilité aux antibiotiques par des antibiogrammes standards.
3. Détermination des phénotypes de résistance.



MATERIES

ET

METHODES

I. Objectif et présentation de travail

Le but de cette étude est de cribler des souches des Bacilles à Gram négatif résistants aux C3G et aux carbapénèmes et des souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine chez les insectes. Nous avons réalisé un travail qui comporte deux parties durant la période allant du 20 février au 20 mai 2017. La première partie a consisté en la collecte de 95 insectes « 55 cafards, 20 mouches et 20 fourmis » au niveau de l'EPH de Chelghoum l'Aïd de Mila ainsi que la maternité de Khenchela. La deuxième partie du travail a été réalisée au sein du laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaia.

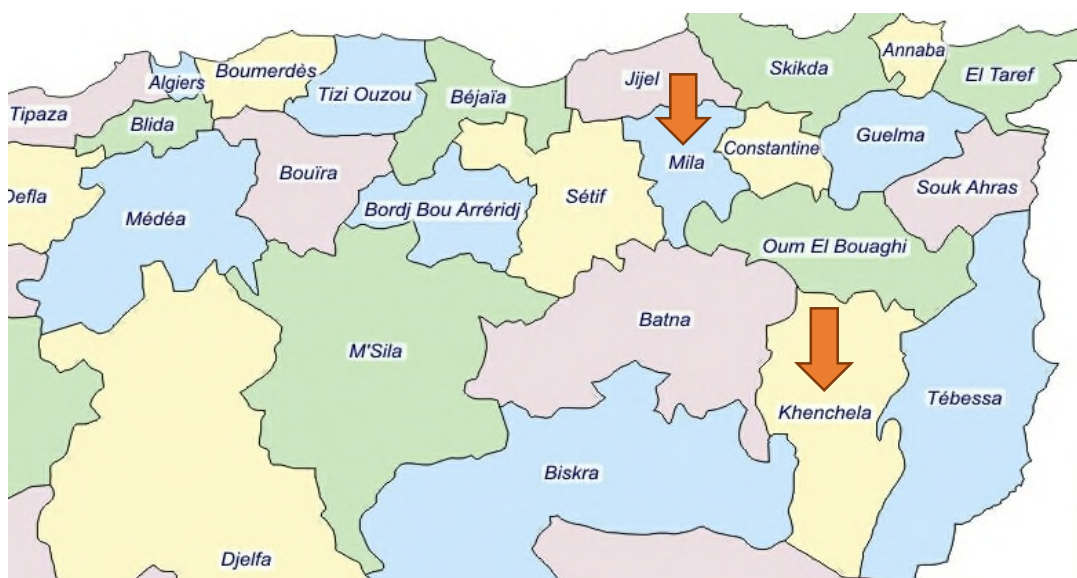


Figure 1: Les sites de prélèvement.

Le tableau suivant (**Tableau I**) résume les différents prélèvements effectués durant cette étude.

Tableau I : Différents prélèvements effectués.

Code	Type de prélèvement	Type D'insectes	Date du prélèvement	Lieu du prélèvement
.E1C à E40C	Cafards	B germanica	22/03/2017	Maternité de Khenchela
E41C à E55C	Cafards	B germanica	29/02/2017	cuisine d'EPH de Chelghoum L'aid
E1M à E20M	Mouches	Musca sp	19/03/2017	différents lieu de d'EPH de Chelghoum L'aid
E1F à E20F	Fourmis	Pheidole sp	23/03/2017	Hémodialyse d'EPH de Chelghoum L'aid
Total			95	

(E) : Echantillon

(C) : Cafard

(M) : mouche

(F) : fourmis

II. Enrichissement et l'isolement

Les prélèvements (mouches, fourmis) ont été enrichis dans le bouillon Trypticase soja (TSB) puis incubés à 37°/24h. Après homogénéisation pendant 2 min au vortex pour éclater l'insecte (étude de la flore interne et externe).

Concernant les cafards, nous avons réalisé deux types de prélèvement : la flore externe et la flore interne selon le protocole de **Loucif en 2016** :

- Immobiliser l'échantillon (cafard) par la congélation à 0°C pendant 10 minutes.
- Imbiber chaque cafard dans 5ml d'une solution de Tween 80 à 0,05%.
- Vortexer vigoureusement pendant 2 minutes. Cette solution est utilisée en tant qu'échantillon du corps externe homogénéisé et incubée à 37°C/24.
- Pour éliminer la contamination du corps externe : mettre le cafard dans l'eau de javel pendant 2 minutes, dans du sérum physiologique stérile pendant 2 min, puis dans de l'éthanol à 70% pendant 5 min et enfin un lavage de chaque échantillon avec de l'eau physiologique stérile.
- Tremper le cafard dans un récipient stérile contenant 5 ml de solution de Tween 80 à 0,05%.
- Broyer le cafard.
- Vortexer vigoureusement pendant 2 minutes, la suspension obtenue est utilisée en tant qu'échantillon du corps interne et incubée à 37°C/24 h.

II.1. Bactéries à Gram positif

II.1.1. Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine

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

II.1.2. Isolement

L'isolement a été réalisé sur gélose bile esculine agar « BEA », à partir d'un bouillon d'enrichissement. 50µl de bouillon Rothe ont été ensemençés sur la gélose BEA additionnée de vancomycine (10 µg/ml) et de colistine (10 µg/ml). L'incubation est réalisée à 37°/24h.

II.1.3. Caractérisation phénotypiques des entérocoques

a) Critères morphologiques

➤ L'examen macroscopique

Bile esculine agar est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement et l'identification présomptif des entérocoques (**Chuard et Reller, 1998**), qui montre un précipité brunâtre autour des colonies, indiquant ainsi l'hydrolyse de l'esculine. Cette dernière se combine avec des ions ferriques pour produire le complexe noir (**Gajan et al., 2013**).

➤ L'examen microscopique

La coloration de Gram a été réalisée pour différencier entre les bactéries à Gram positif et à Gram négatif. L'aspect microscopique révèlent des formes cellulaires en cocci, en paire et en courte chaînette de couleur violet (**Lebreton et al., 2014**). Les étapes de la coloration de Gram sont :

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame propre.
- Prélever quelques colonies et mélanger avec la goutte d'eau, et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec Bensen.
- Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes.
- Couvrir le lugol pendant 30 secondes.
- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Rincer immédiatement le frottis avec l'alcool en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette.
- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Couvrir avec de la fuschine pendant 30 secondes.
- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope. Les bactéries à Gram positif absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux bactéries à Gram négatif qui apparaissent distinctement rosâtres.

b) Critères physiologiques et biochimiques

➤ Test de catalase

Ce test a pour but de différencier les bactéries à catalase négatif et à catalase positif, par la mise d'une colonie en suspension avec un ou 2 gouttes de solution de

peroxyde d'hydrogène(H_2O_2) sur une lame propre et sèche. Une réaction positive se traduit par une effervescence (**Bartos *et al.*, 2004**).

➤ Croissance en présence de 6,5% de NaCl

Les entérocoques sont tous capables de pousser en milieu hyper salé. Des tubes de bouillon hyper salé sont ensemencés par quelques gouttes de culture bactériennes et incubés à 37°/24h. La croissance est comparée à celle d'un tube témoin sans bactérie, la croissance bactérienne se traduit par l'apparition de troubles (**Aguilar *et al.*, 2014**).

➤ Croissance et résistance à la chaleur sur bouillon nutritif

A partir d'une boîte de BEA positive, on a ensemencé à l'aide d'une anse de platine le bouillon nutritif additionné de Glucose à 10% par quelques colonies. Les tubes ensemencés sont incubés à 60°/30mn puis à 44°/24 h. La présence d'un trouble indique que la souche pousse et résiste à la chaleur (**Terzaghi et Sandine, 1975**).

➤ Test de tellurite de potassium

Pour la différenciation entre *Enterococcus faecalis* et *faecium*, un ensemencement de 0,5 ml de tellurite de potassium additionné de 4,5 ml de bouillon nutritif par quelques gouttes de cultures bactériennes. L'incubation est réalisée à 37°/24 h. La culture positive révélée par la présence des dépôts noirs au fond de tube à essai, constitue la confirmation de la présence d'*E.faecalis* (**Facklam, 1972**).

II.2. Bactéries à Gram négatif

II.2.1. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux C3G

Un enrichissement a été réalisé en ensemencant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du TSB additionné de Cefotaxime (4µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml). L'incubation a été effectuée à 37°C/24h. A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du TSB a été effectué sur la gélose MacConkey additionnée de Cefotaxime (4µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

II.2.2. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes

Un enrichissement a été réalisé en ensemencant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du TSB additionné de méropénème (1µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml). L'incubation a

été effectuée à 37°C/24h. A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du bouillon TSB a été effectué sur la gélose MacConkey additionnée de méropénème (1µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

II.3. Identification des souches

Les souches isolées ont été identifiées en utilisant une mini galerie biochimique classique (TSI, citrate de Simmons, Mannitol Mobilité, Clark et Lubs, Bouillon nitraté, milieux urée/indole, disque ONPG) (Tableau I) (**Denis et al., 2007**).

La composition des différents milieux utilisés durant cette étude est donnée en Annexe I. Le milieu ChromAgar orientation a également été utilisé pour l'identification de certaines souches (**Denis et al., 2007**).

Tableau II : Galerie biochimique d'identification des bactéries à Gram négatif (**Denis et al., 2007**)

Milieu	Mode D'ensemencement	Caractère Recherchés	Résultats
Bouillon nitraté	Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne, et l'incubation est réalisée à 37°C/24h.	-Réduction des Nitrates en Nitrites.	Nitrate réductase+ : virage au rouge du milieu après l'ajout des deux réactifs NR I et NR II. Nitrate réductase- : Virage au jaune du milieu.
TSI	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries serrées, puis le culot par piqûre centrale et l'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h.	-Lactose. -Glucose. -saccharose. -Gaz. -Production d'H ₂ S	Lactose + : virage de la pente au jaune. Saccharose+ : Virage au jaune au milieu de tube. Glucose+ : virage de culot au jaune. Gaz+ : apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose de fond de tube. Production d'H₂S : Noircissement du milieu.

Matériel et Méthodes

Urée-Indole	On ensemence le milieu avec une suspension bactérienne, l'incubation est effectuée à 37°C/24h.	-Uréease. -Indole. -Tryptophane Désaminase	Uréase+ : Virage du milieu au rouge/rose. Indole+ : Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes de réactif de kovacs. TDA : virage du milieu au marron
Clark et Lubs	Ensemencement du milieu par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne, l'incubation est réalisée à 37°C/24h.	-Type fermentaire	Test VP+ : virage au rouge cerise après l'ajout des réactifs VP I et VP II. Test RM+ : Coloration rouge après l'ajout de réactif RM.
Mannitol Mobilité	Ensemencement de la gélose par une piqure centrale et incubation à 37°/24h.	-Mannitol - mobilité	Mannitol+ : jaune Mannitol- : rouge Mobilité+ : formation d'un voile qui diffuse de part et d'autre de la strie d'ensemencement.
Citrate de Simmons	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries longitudinales. L'incubation est réalisée à 37°C/ 24h.	Utilisation du citrate comme seule source de Carbone.	Citrate+ : virage de milieu au bleu et une culture de colonie sur la pente.
Disque ONPG	Mettre le disque dans la suspension bactérienne et incubation à 37°/24H	B-galactosidase	Virage de milieu au jaune

Le milieu ChromAgar orientation a également été utilisé pour l'identification de certaines souches.

Tableau III : Aspect des colonies sur Chromagar (Chromagar Orientation)

Espèce	Couleur de colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
<i>KES-C (Klepsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter)</i>	Colonie bleu vert à bleu avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia</i>	Colonies pâle à beige, cernées d'une auréole ambre à marron

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses blanche opaques
<i>Enterococcus sp</i>	Petites colonies bleu turquoise

III. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

III.1. 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 (VAN) a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2017).

Un ensemencement par écouvillonnage a été effectué sur gélose MH, puis un disque de VAN a été déposé au centre de la boîte. Les souches ayant un diamètre inférieur à 12 mm (pour un disque de VAN de 5 ug) ou inférieur à 16 mm (pour un disque de VAN de 30 ug) sont considérées résistantes (CA-SFM, 2017).

➤ Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des cocci à Gram positif résistants à la vancomycine

La concentration minimale inhibitrice est définie comme étant la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a pas de croissance visible. La détermination de la CMI a été effectuée par la méthode de dilution sur le bouillon MH.

❖ Préparation de microplaque :

La distribution de 50µl de bouillon MH dans chaque cupule d'une microplaque à fond conique stérile à part pour la première colonne où l'on met 100µl à l'aide de la micropipette. Dans la cupule contenant 100µl de BMH, on y ajoute un volume de solution d'antibiotique pour une concentration finale de 256µg/ml.

❖ Dilutions

Bien mélanger la solution avec le BMH à l'aide de la micropipette et prélever 50µl de ce mélange et l'ajouter à la cupule adjacente et ainsi de suite jusqu'à l'avant dernière cupule et jeter les 50µl restant. La dernière cupule (cupule 12) ne contenant pas

d'antibiotique (uniquement MHB) servira de témoin négatif pour le contrôle de l'inoculum.

❖ Préparation de l'inoculum

Les suspensions bactériennes sont préparées dans du BMH, inoculation de 50µl de la suspension dans chaque cupule à commencer par la colonne ne contenant pas d'antibiotique (témoin négatif) jusqu'à la cupule contenant la concentration d'antibiotique la plus élevée (cupule 1) dans le sens inverse de la dilution, les microplaques sont incubées à 37°C/24h

❖ La lecture

D'abord vérifier s'il y a de croissance dans la cupule témoin (présence de culot), la CMI étant la plus faible concentration où il n'y a plus de croissance.

III.2. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines chez les Bacilles à Gram négatif

III.2.1. Recherche de la production de BLSE

- **Test de synergie**

La production d'une BLSE a été recherchée chez les souches ayant poussées sur la gélose MacConkey additionnée de Céfotaxime.

Nous avons utilisé le DD-test qui consiste à placer des disques de céfotaxime (30 ug) et de céftazidime (20 µg) à une distance de 20 mm centre à centre et d'un disque contenant de l'acide clavulanique-amoxicilline (ex : amoxicilline / acide clavulanique). La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie. L'augmentation de la zone d'inhibition entre le disque d'Augmentin et les disques de céphalosporines indique la production probable d'une BLSE (**Figure1**) (**Jarlier *et al.*, 1988**). Des disques de céfoxitine (30 ug) et d'imipénème (10 ug) ont été également testés sur la même boîte.

- **Test de synergie sur gélose MH additionnée de cloxacilline**

La cloxacilline (Orbénine®), est un inhibiteur des céphalosporinases de la classe C d'Amber chromosomiques ou plasmidique. En cas de présence de ces enzymes, les

diamètres autour des disques de C3G très diminués peuvent masquer les images de synergies évocatrices de BLSE entre des disques de C3G et d'acide clavulanique.

Dans ce cas, le test de synergie est refait en utilisant la gélose MH additionnée de cloxacilline (250 ug/l) afin d'inhiber l'activité céphalosporinase.

La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE seule ou associée à une céphalosporinase.

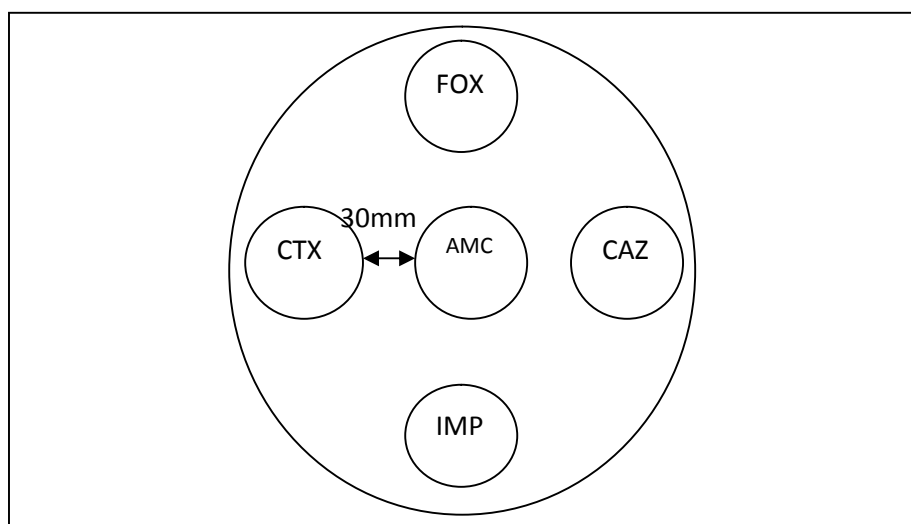


Figure 2 : Disposition des disques d'antibiotique dans le DD-Test

III.2.2. Recherche de la production de carbapénèmases

➤ Test de CIM (carbapenem inactivation method)

Un nouveau test phénotypique, appelé la méthode d'inactivation de Carbapénème (CIM), a été développé pour détecter l'activité carbapénémase chez les bactéries à Gram négatif.

Pour effectuer ce test, une suspension bactérienne a été réalisée en suspendant une ose de bactéries dans 500 µl d'eau physiologique stérile dans des tubes eppendorfs. Ensuite, un disque de méropénème (10 ug) est introduit dans la suspension et incubé pendant au moins 2 h à 37°C. Ce test est réalisé également pour un témoin négatif et un témoin positif (*K.pneumoniae* : KPC). Après incubation, le disque est retiré de la suspension à l'aide d'une anse de platine, placé sur une gélose MH préalablement inoculée avec une souche d'*E. Coli* (ATCC 25922) sensible aux antibiotiques et ensuite incubée à 37°C. Si la souche bactérienne produit une carbapénémase, le méropénème sera inactivé (**Figure 2**) (Zwaluw *et al.*, 2015).

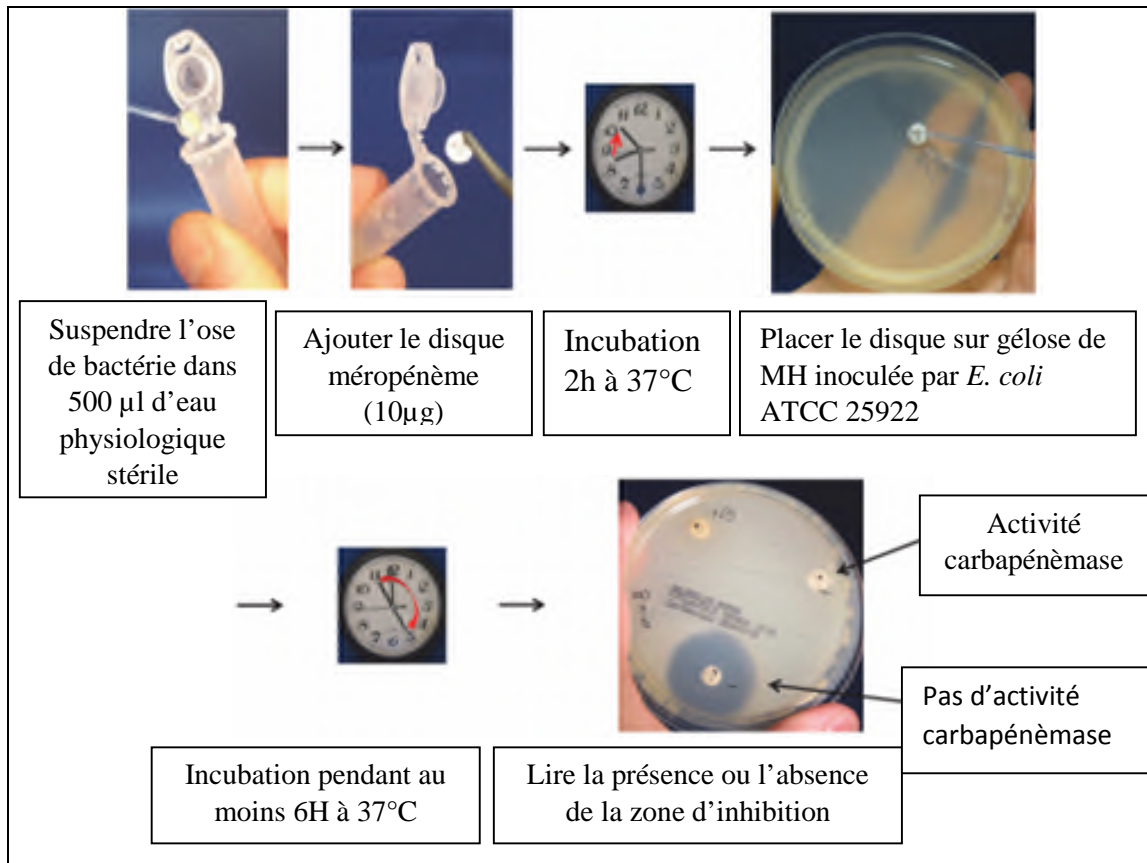


Figure 3 : Schéma du test CIM (Van der Zwaluw *et al.*, 2015)

➤ Etude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

13 souches ont été testées vis-à-vis des carbapénèmes (Imipénème, ertapénème, méropénème), ainsi que la témocilline. L'interprétation a été établie en suivant les recommandations du CA-SFM 2013 et CA-SFM 2017.



RESULTATS

I. Souches bactériennes

143 souches ont été isolées incluant 57 souches (39,86%) sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime, 15 souches (10,48%) sur gélose Mac Conkey additionnée de méropénème et 50 souches (34,96%) sur gélose BEA additionnée de vancomycine.

II. Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine

Parmi les 50 souches testées par l'antibiogramme standard vis-à-vis de la vancomycine, 36 souches (72%) ont été retrouvées résistantes et 14 souches (18%) ont été retrouvées sensibles. Les caractéristiques de l'ensemble des souches testées sont données dans le tableau II (annexe II). Le tableau suivant résume les caractéristiques des souches résistantes.

Tableau IV : Caractéristiques des souches d'entérocoques résistants à la vancomycine

Nombre total	Isolement Sur BEA	Coloration de Gram	Catalase	bouillon hyper salé	résistance à la chaleur	T de tellurite de potassium	Diamètre de Vanco	ChromAgar	espèce
17	+	+	-	+	+	+	06 (R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
19	+	+	-	+	+	-	06 (R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>

(R) : résistante

(T) : test

(-) : négative

(+) : positive

➤ Détermination de la CMI pour les VRE

Les CMI ont été réalisées sur 14 Souches (14,73%) d'entérocoques isolées sur BEA additionnée de VAN. Les résultats obtenus sont rapportés dans le **tableau V**.

Tableau V : Résultats des CMI des souches d'*Entérocoques*

Code	Type d'insectes	Espèce	CMI (mg/l)	Interprétation
E41CI	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus faecalis</i>	= 0,5	S
E44CI	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 0,5	S
E48CI	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus faecalis</i>	=1	S
E26C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 0,5	S

E27C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 1	S
E28C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 2	S
E30C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 1	S
E31C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 4	S
E32C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 0,5	S
E33C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 1	S
E34C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 1	S
E29C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	= 8	R
E5M	Mouche : Musca sp	<i>Enterococcus faecalis</i>	= 256	R
E35C	Cafard : B germanica	<i>Enterococcus sp</i>	=16	R

R : Résistante, **CI** : cafard interne, **C** : cafard, **M** : mouche, **CMI** : concentration minimale inhibitrice **S** : Sensible.

Les résultats obtenus montrent la présence de 3 souches résistantes : E35C et E29C qui sont isolées chez le cafard à la Maternité de Khenchela, et la souche E5M isolée chez les mouches de l'EPH de Mila.

Remarque : Chez les autres souches (12) le témoin négatif (témoin de culture sans antibiotiques) n'a pas poussé.

III. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines

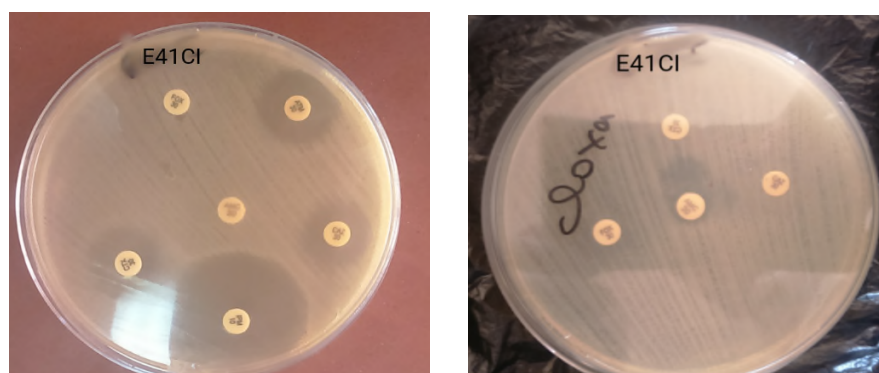
III.1. Recherche des bacilles à Gram négatif résistants aux C3G

➤ DD-test

Parmi 57 souches testées, aucune image de synergie n'a pu être observée sur gélose MH.

➤ DD-test avec cloxacilline

Parmi les 57 souches testées, une image de synergie a été détectée chez une seule souche E41CI (*Enterobacter sp*), indiquant ainsi la production probable de BLSE (**Figure 3**). Cette souche est isolée au niveau de la flore interne de cafard collecté dans la cuisine de l'EPH de Chelghoum Laid. Mila.



CTX : Céfotaxime CAZ : Céfotazidime FOX : Céfoxitine AMC : Amoxicilline /Acide clavulanique

Figure 3 : Image de synergie de la souche *Enterobacter sp* (E41CI) Sur MH avec et sans cloxacilline.

Le tableau ci-dessous donne les résultats du DD Test avec et sans cloxacilline.

Tableau VI: Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et MH additionné de cloxacilline pour la souche E41 CI.

code	espèce	Diamètre	Antibiotique						synergie	phénotype de résistance
			AMC	CTX	CAZ	IMP	FOX	ATM		
E41cI	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	06 (R)	10(R)	10(R)	30(S)	06 (R)	20(R)	-	BLSE+AmpC naturel
		MH+CLOX	08 (R)	06(R)	06(R)	NT	06 (R)	NT	+	
		≠ (mm)	2	4	4	/	0	/	/	

CI : cafard interne, M : mouche, S : sensible, R : résistance, E : échantillon, NT : no testé, AMC : amoxicilline+acide clavulanique, FOX : Céfoxitine, ATM : Aztréonam, IMP : imipénème, CAZ : céftazidime, CTX : céfotaxime

La résistance à la céfoxitine peut être expliquée par la qualité de l'antibiotique testé. En effet, nous avons testé la FOX de marque BIO-analyse ayant expirée en Février 2017.

III.2. Recherche des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes

➤ Test CIM

Ce test a été réalisé chez 15 souches. Les résultats montrent que parmi ces souches, 02 souches (*Acinetobacter sp* E12C et *Acinetobacter sp* E08C) sont positives (**Figure7**), ce

qui signifie qu'elles sont résistantes au méropénème par production probable de carbapénémase (**Tableau VII**). Ces souches ont été isolées de la flore externe des cafards collectées au niveau de la Maternité de Khenchela.

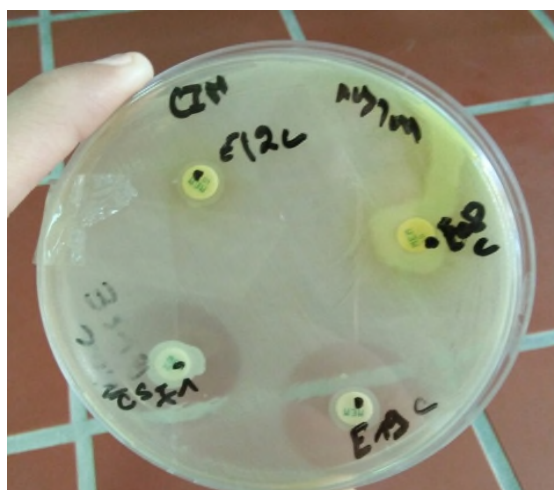


Figure 4 : Test CIM positif pour les souches E12C d'*Acinetobacter sp* et E08C d'*Acinetobacter sp*.

Tableau VII: Caractéristiques des souches positives

Code	Espèce d'insectes	Date de prélèvement	Site de prélèvement	MEM (10ug)	Espèce bactérienne	Interprétation
E12C	<i>B. germanica</i>	22/03/2017	Maternité de Khenchela	06 (R)	<i>Acinetobacter sp</i>	Production de carbapénémases
E08C	<i>B. germanica</i>	22/03/2017	Maternité de Khenchela	06 (R)	<i>Acinetobacter sp</i>	Production de carbapénémases

R : Résistante **E :** Echantillon **MEM :** Méropénème **ex :** externe

➤ **Antibiogramme standard**

Un antibiogramme standard est réalisé pour 15 souches isolées chez les cafards de la Maternité de Khenchela. Parmi ces souches, 13 sont retrouvées résistantes ou intermédiaires vis-à-vis des carbapénèmes tels que l'imipénème (IMP), ertapénème (ERT), et méropénème

(MEM), ainsi que la Témocilline (TEM) de la famille Carboxypénicilline (**Tableau VIII**). Deux souches sont retrouvées sensibles aux antibiotiques testés.

Tableau VIII: Résultats de l'antibiogramme pour les souches résistantes aux carbapénèmes

Code	Espèce bactérienne	MEM (10ug)	IMP (10ug)	ERT (10ug)	TEM (30ug)
E08C	<i>Acinetobacter sp</i>	07 (R)	06 (R)	09 (R)	06 (R)
E12C	<i>Acinetobacter sp</i>	07 (R)	06 (R)	09 (R)	06 (R)
E26C	<i>Acinetobacter sp</i>	06 (R)	06 (R)	06 (R)	06 (R)
E27C	<i>Acinetobacter sp</i>	06 (R)	06 (R)	06 (R)	06 (R)
E28C	<i>Acinetobacter sp</i>	14 (R)	13 (R)	26 (I)	14 (R)
E29C	<i>Acinetobacter sp</i>	15 (R)	08 (R)	14 (R)	06 (R)
E30C	<i>Acinetobacter sp</i>	15 (R)	06 (R)	18 (R)	06 (R)
E20C	<i>Enterobacter sp</i>	06 (R)	15 (R)	06 (R)	06 (R)
E21C	<i>Enterobacter sp</i>	06 (R)	06 (R)	06 (R)	06 (R)
E32C	<i>Enterobacter sp</i>	18 (I)	13 (R)	14 (R)	06 (R)
E23C	<i>Klebsiella sp</i>	06 (R)	21 (I)	06 (R)	06 (R)
E24C	<i>Klebsiella sp</i>	06 (R)	14 (R)	06 (R)	06 (R)
E31C	<i>Pseudomonas sp</i>	14 (R)	12 (R)	11 (R)	06 (R)

R : Résistant, **S** : Sensible, **I** : Intermédiaire, **MEM** : Méropénème, **IMP** : Imipénème,
ERT : Ertapénème, **TEM** : Témocilline, **E** : Echantillon, **C** : Cafard



DISCUSSION

Les insectes sauvages peuvent servir de réservoirs et vecteurs de bactéries résistantes aux antibiotiques appartenant à plusieurs espèces qui ont une importance vétérinaire et médicale. En raison de leur mobilité fréquente et la facilité avec laquelle ils prennent la nourriture à partir de différents environnements. Les insectes sont considérés comme des bio indicateurs environnementaux importants et des vecteurs de résistance aux antibiotiques chez les bactéries (**Mahmudur et al., 2015**).

L'émergence et la dissémination rapide de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries est maintenant une préoccupation mondiale. La résistance aux antibiotiques acquise par les bactéries dans un écosystème donné, peut facilement être transférée entre les organismes dans différents écosystèmes. Ceci, à son tour, est responsable de l'épidémie à grande échelle de bactéries multirésistantes. Maintenant, il est évident que les bactéries résistantes se trouvent dans les différents compartiments de l'environnement en raison d'une mauvaise utilisation, d'une sur-utilisation des antibiotiques ainsi que d'infrastructures de soins de santé non adaptés (**Mahmudur et al., 2015**).

Habituellement, la faune sauvage n'est pas exposée aux antibiotiques (**Martinez, 2009**). Mais actuellement, y a un nombre important de voies d'expositions qui pourraient entraîner la résistance chez la faune sauvage (**Santos et al., 2013**). Ainsi, la convergence entre les habitats, le contact des animaux sauvages avec d'autres animaux domestiques ou avec les humains a conduit à une augmentation de l'échange des déterminants génétiques de la résistance entre leurs microbiotes (**Sousa et al., 2014**).

En raison de leur présence diversifiée dans différentes niches écologiques et leur facilité à ramasser les bactéries humaines et environnementales, les insectes pourraient agir comme des miroirs des activités humaines. Ils reflètent la situation de la résistance aux antibiotiques d'une manière plus large que beaucoup d'autres animaux (**Badrul, 2013**).

Dans cette étude, nous avons isolé 3 souches d'*entérocoques* résistantes à la vancomycine chez les mouches (*Musca sp*) et les cafards (*B germanica*).

Une étude similaire a été réalisée par **Macrovei et al en 2006** a montré que les mouches domestiques (*Musca domestica*) portent une grande population d'*entérocoques*

résistants à plusieurs antibiotiques y compris la vancomycine. Une autre étude réalisée par **Patience et al** en **2013**, ont rapporté une prévalence de 5% d'ERV isolées chez des cafards collectés au niveau de l'hôpital de Ghana.

Les entérocoques, en particulier *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis*, sont des micro-organismes multi résistantes d'importants en raison de l'émergence des souches résistantes aux antibiotiques (**Kühn et al., 2000., Linden et al.,1999**).

Les entérocoques résistants aux antibiotiques ont été associés de plus en plus aux infections nosocomiales. Ces bactéries sont dangereuses de part de leur multi résistance naturelle à de nombreuses familles d'antibiotiques aggravée ces dernières années par l'émergence des souches résistantes aux glycopeptides (**Courvalin, 2006**).

On attribue cette émergence à l'utilisation massive de la vancomycine dans les traitements des infections à *Clostridium difficile* à partir de 1984 (**Rice, 2001**). Les entérocoques ont évolué de façon à acquérir de la résistance à chacun de ces antibiotiques de façon croisée, soit par l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques codés par des plasmides ou des transposons provenant d'autres microorganismes, soit par des mutations spontanées leur donnant ainsi un niveau de résistance plus élevée (**Kak et al., 2002**).

Le mécanisme de résistance développé par les entérocoques à l'égard des glycopeptides est une modification de la cible de l'antibiotique au niveau du 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 peptidoglycane de faible affinité et dans l'élimination du D-ala-D-ala (**Courvalin, 2006 ; Cattoir et Leclercq, 2010 ; Xu et al. 2010**).

Une étude effectuée par **Ghosh et al en 2011** a caractérisé des entérocoques isolés des matières fécales de chiens hospitalisés aux soins intensifs d'un hôpital vétérinaire afin d'évaluer leur capacité de causer des infections nosocomiales et zoonotiques. Les deux espèces représentées étaient *E. faecalis* et *E. faecium*. Cette étude a montré la résistance de ses souches à plusieurs antibiotiques à l'exception de la vancomycine.

Ainsi, 8 types de résistance acquise ont été caractérisés : Van A, Van B, Van D, Van G, Van L, Van M, Van N (**Depardieu et al., 2007; Cattoir et Leclercq, 2010; Xu et al., 2010, Lebreton et al., 2011**). Parmi ceux-ci, les trois variantes les plus communes sont les types de VanA, B et C avec *E. faecium* portant le génotype *VanA* comme combinaison la plus commune (**Werner et al., 2008**). Notre travail montre un échantillon de mouche (E5M) porte une souche d'*E. faecalis* résistante à haut niveau à la vancomycine avec une CMI supérieur à 256 µg/ml.

Les bacilles à Gram négatif sont des bactéries fréquemment isolées dans les laboratoires de bactériologie (**Bao et al., 2013**), et sont responsables de nombreuses infections communautaires et nosocomiales notamment les infections urinaires, les gastro-entérites sévères et respiratoires...etc (**Gueye, 2007**).

Le microbiote intestinal est le réservoir majeur de bactéries résistantes aux antibiotiques, qui peut être enrichi par des bactéries multirésistantes comme les entérobactéries productrices de BLSE (**Ruppé et al., 2013**). La plupart des entérobactéries étant des souches de colonisation, sans indications de traitement constituent dès lors un important réservoir de BMR (**Mayoral et al., 2010**).

Jusque dans les années 2000, la diffusion des E-BLSE concernait essentiellement le milieu hospitalier. A ce titre, en raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion hors de l'hôpital, du caractère aisément transférable des mécanismes de résistance impliqués, ces BMR font l'objet de programmes nationaux de surveillance dans plusieurs pays (**Guillet, 2010**).

L'Algérie est maintenant connue parmi les pays méditerranéens connus pour être affectés par la propagation des BLSE de type CTX-M-15. Des études réalisées chez les insectes incluant les cafards ont rapporté la présence des enzymes BLSE de type CTX-M-15 (**Loucif et al., 2016**).

Plusieurs études dans le monde ont rapporté la présence des bactéries productrices de carbapénémase notamment chez les bacille à Gram négatif chez les animaux et dans l'environnement (**Fischer et al., 2012, 2013; Guerra, 2013; Wang et al., 2012; Woodford et al., 2014; Zhang et al., 2013**). En Béjaia, ces enzymes ont été détectés dans le milieu environnement aquatique, animaux sauvage, domestique (**Yousfi et al., 2016; Bachiri et al., 2016; Tafouket et al., 2017**), environnemental (**Zenati et al., 2016**).

La dissémination des carbapénèmases pose problème notamment à cause de la présence de ces enzymes sur des éléments génétiques transférables, ce qui facilite leur dissémination (**Caratolli, 2013**).

Au cours de notre étude, nous avons retrouvé 02 souches d'*Acinetobacter sp* productrices de carbapénèmases. En Algérie, l'étude de Loucif et al a réalisée sur 12 cafards, a montré la présence d'une souche d'*E.cloacae* productrice d'une carbapénèmases de type OXA-48. Concernant la résistance aux carbapénèmes chez *A.baumannii*, en Algérie plusieurs études rapportent la présence d'enzymes de type OXA dont les OXA-23 (**Bakour et al., 2015**, **Zenati et al., 2016**).



REFERENCES

Le développement de la résistance aux antibiotiques est un problème global qui doit nécessiter des actions de recherche, de surveillance, d'éducation destinées à développer un usage prudent de cette classe thérapeutique essentielle pour les médecins et les vétérinaires. L'usage de ces médicaments vétérinaires doit s'effectuer dans un contexte de maîtrise des infections bactériennes en élevage et suppose une prescription basée sur un diagnostic vétérinaire prenant en compte les évolutions locales en matière de résistance aux antibiotiques. Les insectes peuvent servir des vecteurs des bactéries résistance aux antibiotiques, qui occupent un espace important au niveau des hôpitaux Algérien.

A notre connaissance, peu de rapports concernant les souches multirésistantes aux antibiotiques isolées chez les insectes du milieu hospitalier en Algérie comme celui rapporté par *loucif et al* en 2016 . Dans ce sens cette étude mérite d'être approfondie et complétés par :

- L'étude d'un grand nombre et différents types d'insectes de différentes régions.
- Caractérisation moléculaire des gènes impliqués dans la résistance.
- L'étude d'un plus grand nombre de souches.

A

Adams, DJ., Eberly, MD., Goudie, A. (2016). Rising Vancomycin-Resistant Enterococcus Infections in Hospitalized Children in the United States. *Hosp Pediatr.* 6:404–411.

Aguilar-galvez, A., Duboi-Duphin, R, R, R, R., Destain, J., Compos, D., Thonart, Ph., (2012), Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie ,67.

Avril, J-L., Fauchère J-L., (2002). Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. P : 141.

B

Bachiri, T., Bakour, S., Ladjouzi, R., Thongpan, L., Rolain, J.M., Touati, A. High rates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria.

Bakour, S., Garcia, V., Loucif, L., Brunel, J.M., Gharout-Sait, A., Touati, A., Rolain, J.M. (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbes New Infect.* 10 (7), 89-93.

Bartos, M., Falkinham, J D., parlik, I. (2004), Mycobacterial catalases, peroxidases, and superoxidized is mutases and their effects on virulence and ionized-susceptibility in mycobacteria, 161-170.

Bao, L., Peng, R., Ren, X., Ma, R., Li, J et Wang, Y. (2013). Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics. *Pakistan Journal of Medical Sciences.* 29: 135–139

Barrial, K., Scotet, J., (2006). Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif : Perspectives d'évolution ; DES Bactériologie. P:2. 129-202.

Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:1-14.

Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:933-951.

Bush, K., Jacoby, G.A., et Medeiros, A.A. (1995). functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39, 1211-1233.

Bush, K., Jacoby, A. (2010), Updated functional classification of β -lactamases 969-976.

C

Cattoir, V., Leclercq, R. (2010). Enterococci resistant to glycopeptides. *Med Sci (Paris)* 26, 936-942

Cavallo, J-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., Garrabé, E. (2004). *Betalactamin.* EMC Maladies infectieuses. 1 : 129-202. 16.

Chuard, C., Reller, L.B. (1998). Test de bilite et d'esculine pour l'identification présumptive des entérocoques et des streptocoques: effets de la concentration de la bile, de la technique d'inoculation et du temps d'incubation. *J Clin Microbiol.* 36 (4): 1135-1136.

Courvalin, P. (2006). Vancomycin-resistance in Gram positive cocci. *Clin Infect* 42(1), S25–34.

D

Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., et al. (2007). Bactériologie médicale. Ellipses. 2ème Edition. 573p.

Depardieu, F., Podglajen, I., Leclercq, R., Collatz, E., Courvalin, P. (2007). Modes and modulations of antibioticresistancegene expression. *Clin Microbiol***20**, 79-114.

Dhillon, RH., et Clark ,J. (2012).ESBLs: A Clear and Present Danger. Cit. Care ResPract ; 2012: 625170.

Doosti, A ., Pourabbas, M ., Arshi, A ., Chehelgerdi, M et Kabiri, H. (2015) .Gènes TEM et SHV dans *Klebsiella pneumoniae* isolés des cafards et leur profil de résistance antimicrobienne. Osong Public Health Res Perspect ; 6 (1): 3-8.

Doublet, B., Bousquet-Mélou, A., Madec, J.Y. (2012). Le concept « One Health » en antibiorésistance et les flux de gènes Innovations Agronomiques 24, 79-90.

E

Elouennass, M., Sahnoun, I., Zrara, A., Bajjou, T., Elhamzaoui, S. (2008). Epidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002- 2005). Médecine et maladies infectieuses. 38: 18-24.

F

Facklam, R.R. (1972).Recognition of group D *streptococcal* species of humain origin by biochemical and physiological tests. Applied Microbiol, 23-1131-9.

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

Fischer, J., Rodriguez, I., Schmoger, S., et al.(2013) .*Salmonella entericasub sp. enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. J Antimicrob Chemother; 68: 478–80.

Fisher, K1., Phillips, C. (2009).The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. 026385.

G

Gajan, E.B ., Shirmohammadi, A ., Aghazadeh, M ., Alizadeh, M ., Deljavan, A S ., et Ahmadpour, F. (2013). Antibiotic Resistance in *Enterococcus faecalis* Isolated from Hospitalized Patients. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects. 7 (2): 102-104.Doi: 10.5681 / joddd.2013.018.

Getachew, Y., Hassan, L., Zakaria, Z., Abdul Aziz, S.(2013). Genetic variability of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolates from humans, chickens, and pigs in Malaysia.ppl Environ Microbiol ;79(15):4528-33.

Ghosh, A., S.E. Dowd, and L. Zurek,(2011).Dogs leaving the ICU carry a very large multi-drug resistant enterococcal population with capacity for biofilm formation and horizontal gene transfer. PLoS One. 6(7): p. e22451.

Guerra, B. (2013). An emerging problem for public health: carbapenemase producing microorganisms are also present in food producing animals, their environment and wild birds. In: Abstracts of the 5th Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and Environnement, ARAE, Ghent, Belgium. p. 8.

Gueye, O. (2007). Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles a Gram négatif. Thèse doctorat. Université cheikh AntaDiop de Daka. 120p.

 \mathcal{H}

Hall BG. (2004). Prévoir l'évolution des gènes de résistance aux antibiotiques .Nat. Rev. Microbiol. 2 : 430-435.

Horsfall, LE., Garau, G., Liénard BMR., Dideberg, O., Schofield, CL., Frère JM., et Galleni, M. (2007). Competitive inhibitors of CphA Metallo- β -Lactamase in *Aeromonas hydrophila*. Antimicrob Agents Chemother . 51 (6): 2136-2142.

 \mathcal{J}

Jacoby, GA., Bush, K. (2005). Beta-lactams nomenclature. J. Clin Microbiol. 43(12):6220.

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

 \mathcal{K}

Kak, V., and Chow, J.W. (2002). Acquired Antibiotic Resistances in *Enterococci*, in the *enterococci*: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance, M.S. Gilmore, Editor. ASM Press: Washington DC. p. 355-384.

Kariuki, S., Corkill, G., Revathi, R., Musoke, and Hart, C. A. (2001). Molecular characterization of a novel plasmid-encoded cefotaximase (CTX-M-12) found in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Kenya. Antimicrob. Agents Chemother. 45:2141-2143.

Khattab, MS., Ebeid, HM. (2015). Isolation and Identification of *Enterococcus Faecium* and *Enterococcus Cecorum* from Bovine Rumen Using Modern Techniques . J Anim Pro Adv, 5(2): 606-610.

Kühn, I., A. Iversen, LG Burman, B. Olsson-Liljequist, A. Franklin, M. Finn, F. Aarestrup, AM Seyfarth, AR Blanch, H. Taylor, J. Caplin, MA Moreno, L Dominguez et R. Möllby.(2000). L'épidémiologie et l'écologie des entérocoques, avec une référence particulière aux souches de résistance aux antibiotiques chez les animaux, les humains et l'environnement. Exemple de projet en cours dans le cadre du programme de recherche européen. *Int. J. Antimicrob. Agents* 14: 337-342.

ℒ

Leavitt, A., Chmelnitsky, I., Ofek I. (2010). Plasmid pKqIL encoding KPC-3 and TEM-1 confers carbapenem resistance in an extremely drug-resistant epidemic *Klebsiella pneumoniae* strain. *J Antimicrob Chemother*;65:243-8.

Lebreton, F., Depardieu, F., Bourdon, N., Fines-Guyon, M., Berger, P., Camiade, S., Leclercq, R., Courvalin, P., Cattoir, V. (2011). D-Ala-d-SerVanN-type transferable Vancomycin resistance in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Ch*55, 4606–4612.

Lebreton, F., willems, R., Gilmore, M. (2014), *Enterococcus* Diversity, Origins in Nature, and Gut Colonization,59.

Loucif, L., Gasemi, D. J., Cherak, Z., Chamlal, N., Grainat, N., Rolain, J. (2016). First Report of German Cockroaches (*Blattella germanica*) as Reservoirs of CTX-M-15 Extended-Spectrum-Lactamase- and OXA-48 Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Batna University Hospital, Algeria, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 60 , 6377-6380.

M

Mahmudur., Mufti., et Badrul.(2015) . Antimicrobial resistant and ESBL-producing *Escherichia coli* in different ecological niches in Bangladesh. Infection Ecology and Epidemiology. 5: 26712.

Martinez J. L., Baquero. F ., et Alvarez-Ortega.C. (2009). Ecology and evolution of antibiotic resistance. Environ Microbiol Rep. 1,469-76.

Martínez, R., Poirel, L., Nordmann, P.(2009). Extended-spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*.Antimicrob Agents Chemother. ;53(5):1766-71.

Mayoral, G., Ferreyra, M., Eden, A., Gueudet, P., Miquel, C., et Lecaillon, E. (2010).Evolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération de 2000 à 2008 au centre hospitalier de Perpignan. Pathologie Biologie. 58 : 7-10.

Mena, A., Plasencia,V., García, L., Hidalgo, O., Ayestarán, JI., Alberti, S., et al. (2006). Characterization of a Large Outbreak by CTX-M-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* and Mechanisms Leading to In Vivo Carbapenem Resistance Development Microbiology 1749-57.

N

Nordmann, P., Cuzon, G., Naas, T. (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis ; 9:228-36.

Nilsson O., PhD, DVM, BScVet. Pathology. (2012).Vancomycin resistant enterococci in farm animals – occurrence and importance.Infect Ecol Epidemiol. 2: 10.3402

O

OMS. (2002). Prévention des infections nosocomiales. Guide Pratique.

P

Patel, R. (2003). Impact clinique des entérocoques résistant à la vancomycine. *Le Journal de la chimiothérapie antimicrobienne*; 51: iii, 13-21.

Patience B. Quarcoo T., Donkor ES., Simon K. Attah SK., Duedu KO., et al. (2013). Microbial transport of cockroaches in a tertiary care hospital in Ghana .*Environ Health Insights* .7: 59-66.

Philippon, A., Arlet, G., (2006). Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clock work ; *Ann Biol Clin (Paris)*, 64 (1): 37-51.

Poirel, L., Nordmann, P. (2006). Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes. *Antibiotiques*. Edition Masson. 8 (2) : 100-107.

Poirel, L., Heritier, C., Tolun, V., Nordmann, P.(2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* **48**: 15–22.

Q

Queenan, AM., Bush, K.(2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*; 20:440-58.

R

Rice, L.B. (2001). Emergence of vancomycin-resistant enterococci. *Emerg Infect* **7**:183-187.

Ruppé, E., Andremont, A. (2013). Le microbiote intestinal est l'avenir de la multirésistance bactérienne. *Journal des Anti-infectieux*. **15**, 166-177.

S

SANDERS, P., BOUSQUET-MELOU, A., CHAUVIN, C., TOUTAIN, P.L. (2011). Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique *INRA Prod. Anim.* **24** (2), 199-204.

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

Soussy, C-J. (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. P: 21-46.

Stinear TP., Olden DC., Johnson PD., Davies JK., Grayson ML.(2001). Locus de résistance à la vanB entérocoque dans les bactéries anaérobies dans les selles humaines. *Lancette*; **357** : 855-856

Soureshjani HE., Doosti A.(2013). Examination methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) prevalence in cockroaches from hospital in Chaharmahal-va-Bakhtiari province, Iran by polymerase chain reaction (PCR) *Acad J.* **5**(7):324–329.

Sunde, M., Fossum, M., Solberg, A., and Sorum, H. (1998). Antibiotic resistance in *Escherichia coli* of the normal intestinal flora of swine. *Microb Drug Resist*, **4**:289-99.

T

Tafoukt, R., Touati, A., Leangapichart, T., Bakour, S., Rolain, J.M.

(2017), Characterization of OXA-48-like-producing *Enterobacteriaceae* isolated from river water in Algeria.

Terzaghi, B.E. Sandine, W.E. (1975). Improved medium for lactis *streptococcus* and bacteriophage. *Applied microbiology*. 29,807-813.

U

Usui M., Iwasa T., Fukuda A., Sato T., Okubo T., Tamura Y. (2013). Le rôle des mouches dans la propagation du gène de la β -lactamase à large spectre provenant du bétail. *Microb. Résistance aux drogues*. 19 : 415-420.

V

Van der Zwaluw, K., Haan, A., Pluister G.N., Bootsma, H.J., Neeling, A.J., Schouls, L.M. (2015). 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* 10(3): e0123690. journal.pone.0123690.

Vanhorn, KG., CHERYL, A., GEDRIS., et RODNEY, KM. (1996). Selective Isolation of Vancomycin-Resistant *Enterococci*. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, p. 924–927.

W

Wallace, P., Endimani, A., Taracila, M., Bonomo, R.A. (2011). Carbapenems: past, present and future 4943-4960.

Walsh, TR., Toleman, MA., Poirel, L., Nordmann P.(2005). Metallo- β -lactamases: the quiet before the storm? *ClinMicrobiolRev*;18:306 -325.

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

Wang, Y., Wu, C., Zhang, Q., Qi, J., Liu, H., Wang, Y., He, T., Ma, L., Lai, J., Shen, Z., Liu, Y., and Shen, J. (2012). Identification of New Delhi metallo betalactamase 1 in *Acinetobacter lwoffii* of food animal origin. *PloS One* 7, e37152.

Werner, G., Coque, T.M., Hammerum, A.M., Hope, R., Hryniewicz, W., Johnson, A et al. (2008). Émergence et propagation de la résistance à la vancomycine chez les entérocoques en Europe. *Euro Surveill*; 13 (47-48).

Wolff, M., Joly-Guilou, M.J., Pajot, O. (2009). Les Carbapénèmes , 199-208.

Woodford, N., Wareham, D.W., Guerra, B., and Teale, C. (2014). Non Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *J. Antimicrob. Chemother* 69: 287–291.

X

Xu, X., Lin, D., Yan, G., Ye, X., Wu, S., Guo, Y., Zhu, D., Hu, F., Zhang, Y., Wang F., Jacoby, G. A., Wang, M. (2010). VanM, a new glycopeptides resistance gene cluster found in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Ch* 54, 4643-4647.

Y

Yim, G. (2011). L'Attaque des superbactéries: Résistance aux antibiotiques. The Science Creative Quarterly. Issue Six. Lapsus Nivium.

Yong, D., Toleman, MA., Giske, CG., (2009). 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;53:5046-54.

Yousfi, M., Touati, A., Mairi, A., Brasme, L., Gharout-Sait, A., Guillard, T., and De Champs, C. (2016). Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria. MICROBIAL DRUG RESISTANCE Volume 00, Number 00.

Z

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

Zenati, k., Touati, A., Bakour, S., Salehi, F., Rolain, JM. (2016). Caraceterization of NDM-1 and OXA-23 producing *A.baumannii* isolates from in animate surface in a hospital environnement in Algeria. J.Hosp infect. (1), 19-26.



ANNEXE



Annexes

*ANNEXE I***Composition des milieux de culture****Gélose Mac Conkey**

Peptone de caséine	17g
Peptone de viande	3g
Lactose	10g
Mélange de sels biliaires	1.5g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	0.03g

PH 7.3**Gélose Mueller Hinton**

Infusion de viande de boeuf.....	3g
Hydrolysate de caséine.....	17.5 g
Amidon	1.5 g
Agar	17g

PH 7,4**Gélose BEA**

Casein enzymic hydrolysate.....	17,0 g
Proteose piptone.....	3,0 g
Beefexrat	5,0 g

Oxgall.....	10,0g
Sodium chloride.....	5,0g
Agar	15,0 g
Esculine.....	1,0g
ferric ammonium citrate.....	0,5g
Soduimazide	0,15g

PH 7,1ou 7,2

EMB

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

PH7,1

Gélose nutritif

extrait de viande.....	1g
extrait de levure.....	2,5g
peptone	5g
chlorure de sodium.....	5g
Agar	15 g

PH 7

Bouillon nutritif

Peptone.....	10g
Chlorure de sodium.....	.05g
Extrait de viande.....	.05g

PH 7,2

Bouillon de Rothe

Peptone de caséine	20g
Extrait de viande	1,5g
Glucose	04g
Chlorure de sodium.....	04g
Phosphate dipotassique.....	2,7g
Phosphate monopotassique.....	2,7g
Azide de sodium.....	0,2g

PH 6,9

Bouillon Trypticase soja

Peptone trypsique de caséine	17 g
Peptone papainique de soja	3 g
Chlorure de sodium	5 g
Phosphate bipotassique	2 g

pH 7.3

Gélose TSI

Extrait de viande de boeuf	3 g
Extrait de levure	3 g
Peptone tryptique.....	20 g
Chlorure de sodium	5 g
Citrate ferrique	0.3g
Thiosulfate de sodium	0.3 g
Lactose	10 g
Glucose	1 g
Saccharose	10 g

PH 7.4**Milieu 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**Milieu Urée-Indole**

L-tryptophane	3 g
Phosphate monopotassique	1 g
Phosphate bipotassique	1 g

Chlorure de sodium	5g
Urée	20 g

PH7

Milieu Clark-Lubs

Peptone trypsique de viande	5 g
Phosphate bipotassique.....	5 g
Glucose	6 g

PH7

bouillon nitraté

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

PH 7,6-7,8

Composition des réactifs utilisés :

NRI :

Acide sulfanilique.....	0,8ml
Acide acétique.....	5N 100ml

NRII :

Diméthylamine.....	0,6ml
Acide acétique	5N 100ml

Réactif Kovacs :

p-diméthylamine benz aldéhyde.....10ml
acide chloridrique.....50ml
alcool amylique.....150ml

➤ **VPI :**

a-naphtol6g
alcool à 90°100ml

➤ **VPII :**

NaOH 4N

Rouge de méthyle(RM) :

Rouge de méthyle0,5g
Alcool éthylique à 60%100m

Tableau (1):Interprétation des diamètres critiques des zones d'inhibitions selon les recommandations actualisées du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.

Antibiotique	Abréviation	Marque d'ATB	Charge de disque	Diamètre critique	
				≥S	<R
Amoxicilline/AC. Clavulanique	AMC	CYPRESS	30µg	21	16
Céfoxitine	FOX	HIMEDIA+ CYPRESS	30µg	19	19
Ceftazidime	CAZ	HIMEDIA+ CYPRESS	30µg	26	21
Céfotaxime	CTX	HIMEDIA+ CYPRESS	30µg	26	23
Aztréonam	ATM	HIMEDIA+ CYPRESS	30µg	27	21
Imipénème	IMP	HIMEDIA	10µg	22	16
Méropénème	MEM	BIORAD	10µg	22	15
Ertapénème	ERT	BIORAD	10µg	28	26
Témocilline	TEM	BIORAD	30µg	20	20

Tableau (2) : caractéristiques des souches isolées sur gélose BEA

code	isolement sur BEA	coloration de gram	catalase	hyer salé	résistance à la chaleur	test de tellurite	diamètre de Van	Chromagar	espèce
E13C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E14C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E17C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E19C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E08C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E26C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E27C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E28C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E29C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E30C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E31C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E32C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E33C	+	+	+	-	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E34C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E35C	+	+	+	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E41CI	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E42CEX	+	+	-	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E43CI	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E44CI	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E44CEX	+	+	-	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E45CI	+	+	-	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E47CI	+	+	-	+	+	-	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus sp</i>
E48CI	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E48CEX	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E1M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>

Annexe

E2M	+	+	-	+	-	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E3M	+	+	-	+	-	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E4M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E5M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E6M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E8M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E9M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E10M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E12M	+	+	-	+	+	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E13M	+	+	-	+	-	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>
E14M	+	+	-	+	-	+	6(R)	Bleu turquoise	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tableau(3) : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH et MH additionné de cloxacilline

code	espèce	Diamètre	Antibiotique						synergie	phénotype
			AMC	CTX	CAZ	IMP	FOX	ATM		
E41cI	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	06 (R)	10(R)	10(R)	30(S)	06 (R)	20(R)	-	BLSE+AmpC chromosomique
		MH+CLOX	08 (R)	06(R)	06(R)	NT	06 (R)	NT	+	
		≠ (mm)	02	04	04		00			
E42cI	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	10 (R)	11(R)	12(R)	28(S)	06 (R)	14(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	14(R)	15(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	03	03		00			
E43cI	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	06(R)	16(R)	06(R)	24(S)	06 (R)	21(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	11(R)	16(R)	08(R)	NT	11(R)	NT	-	
		≠ (mm)	05	00	02		05			
E44cI	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	06(R)	15(R)	08(R)	26(S)	06 (R)	18(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	17(I)	20(R)	15(R)	NT	16(R)	NT	-	
		≠ (mm)	11	05	07		10			
E44cEX	<i>Hafniae sp</i>	Sur MH	06(R)	20(R)	22(I)	30(S)	06 (R)	28(S)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	11(R)	20(R)	24(I)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	05	00	03		00			
E46cI	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	06(R)	15(R)	17(R)	32(S)	6 (R)	16(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	32(S)	26(S)	31(S)	NT	30(S)	NT	-	
		≠ (mm)	26	11	14		24			
E47cI	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	06(R)	20(R)	18(R)	30(S)	06 (R)	20(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	19(I)	23(I)	24(I)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	13	03	06		00			
E48cEX	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	06(R)	06(R)	06(R)	20(I)	12 (R)	06(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	18(I)	18(R)	18(I)	NT	16(R)	NT	-	
		≠ (mm)	12	12	12		04			

E1M	NT	Sur MH	14(R)	24(I)	18(I)	23(S)	06 (R)	22(I)	-	?????????
		MH+CLOX	16(I)	25(I)	21(I)	NT	09(R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	00	00		03			
E2M ₁	<i>Citrobacter sp</i>	Sur MH	16(I)	22(I)	09(R)	20(I)	15 (R)	15(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	17(I)	22(I)	19(R)	NT	26(S)	NT	-	
		≠ (mm)	01	00	10		11			
E2M ₂	<i>Proteus vulgaris</i>	Sur MH	16(I)	08(R)	10(R)	20(I)	16 (R)	19(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	16(I)	10(R)	14(R)	NT	20(S)	NT	-	
		≠ (mm)	00	02	02		04			
E3M	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	14(R)	20(R)	23(I)	33(S)	06 (R)	17(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	18(R)	23(I)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	02	00		00			
E4M	<i>Proteus vulgaris</i>	Sur MH	16(I)	18(R)	27(S)	40(S)	06 (R)	24(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	17(I)	19(I)	27(S)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	01	00		00			
E5M	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	17(I)	18(R)	10(R)	30(S)	06 (R)	27(S)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	19(I)	18(R)	17(R)	NT	15(R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	00	07		09			
E6M	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	20(I)	24(I)	20(R)	24(S)	11 (R)	27(S)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	20(I)	25(I)	17(R)	NT	20(S)	NT	-	
		≠ (mm)	00	01	03		09			
E7M	<i>Proteus mirabilis</i>	Sur MH	14(R)	18(R)	19(I)	19(I)	11 (R)	31(S)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	19(I)	19(I)	20(I)	NT	17(R)	NT	-	
		≠ (mm)	05	01	01		06			
E8M	NT	Sur MH	24(S)	23(I)	25(I)	40(S)	6 (R)	17	-	?????????????
		MH+CLOX	23(S)	19(I)	24(I)	NT	6 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	04	01		00			
E9M	<i>Pseudomonas sp</i>	Sur MH	06(R)	16(R)	18(R)	33(S)	06 (R)	22(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	17(R)	18(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	06	01	00					

Annexe

E10M	<i>Raoutella terrigena</i>	Sur MH	06(R)	13(R)	06(R)	22(S)	06 (R)	08(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	12(R)	14(R)	10(R)	NT	09(R)	NT	-	
		≠ (mm)	06	01	04		03			
E11M	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	12(R)	16(R)	21(I)	33(S)	06 (R)	23(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	17(R)	21(I)	NT	06(R)	NT		
		≠ (mm)	00	01	00		00			
E13M	<i>Proteus vulgaris</i>	Sur MH	20(I)	22(I)	20(I)	37(S)	06 (R)	20(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	19(I)	20(R)	21(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	02	01		00			
E1F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	07(R)	18(R)	18(R)	31(S)	06 (R)	20(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	13(R)	15(R)	15(R)	NT	08(R)	NT	-	
		≠ (mm)	06	03	05		02			
E2F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	12(R)	15(R)	15(R)	27(S)	06 (R)	17(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	19(R)	17(R)	NT	08(R)	NT	-	
		≠ (mm)	00	04	02		02			
E3F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	12(2)	17(R)	19(R)	30(S)	06 (R)	20(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	17(R)	16(R)	NT	08(R)	NT	-	
		≠ (mm)	00	00	03		02			
E4F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	15(R)	15(R)	17(R)	30(S)	06 (R)	18(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	17(R)	17(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	03	02	00		00			
E5F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	19(I)	20(R)	18(R)	30(S)	06 (R)	23(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	19(I)	16(R)	16(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	00	04	02		00			
E7F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	08(R)	17(R)	20(R)	35(S)	06 (R)	20(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	08(R)	18(R)	15(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	00	01	05		00			

Annexe

E8F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	08(R)	17(R)	15(R)	30(S)	06 (R)	21(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	08(R)	17(R)	19(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	00	00	04		00			
E9F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	12(R)	18(R)	18(R)	31(S)	06 (R)	18(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12(R)	16(R)	19(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	00	02	01		00			
E10F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	20(I)	19(R)	16(R)	30(S)	06 (R)	17(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	10(R)	20(R)	18(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)								
E11F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	10(R)	17(R)	18(R)	35(S)	06 (R)	24(I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	11(R)	18(R)	18(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	01	00		00			
E12F	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	12(R)	20(R)	18(R)	30(S)	06 (R)	18(R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	13(R)	18(R)	18(R)	NT	06(R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	02	00		00			
E1C INT	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	15 (R)	20 (R)	22 (I)	28 (S)	06 (R)	16 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12 (R)	21 (R)	20 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	03	01	02		00			
E2C INT	<i>klebsiella sp</i>	Sur MH	20 (I)	25 (I)	25 (I)	24 (S)	06 (R)	20 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	15 (R)	22 (R)	22 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	05	03	03		00			
E3C INT	<i>klebsiella sp</i>	Sur MH	15 (R)	25 (I)	27 (S)	24 (S)	06 (R)	12 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	16 (I)	22 (R)	20 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	03	07		00			
E4C INT	<i>proteus vulgaris</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	06 (R)	30 (S)	06 (R)	17 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	09 (R)	12 (R)	09 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	03	06	03		00			
E7C INT	<i>Citrobacter sp</i>	Sur MH	18 (I)	25 (I)	20 (R)	28 (S)	06 (R)	23 (I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	16 (I)	22 (R)	19 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	03	01		00			

Annexe

E9C INT	<i>Citrobacter sp</i>	Sur MH	16 (I)	23 (I)	20 (R)	30 (S)	06 (R)	21 (I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	15 (R)	21 (R)	19 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	02	01		00			
E10C INT	<i>Citrobacter sp</i>	Sur MH	15 (R)	23 (I)	20 (R)	23 (S)	06 (R)	26 (I)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12 (R)	20 (R)	16 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	03	03	04		00			
E1C EX	<i>klebsiella sp</i>	Sur MH	13 (R)	12 (R)	20 (R)	26 (S)	25 (S)	17 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	15 (R)	14 (R)	20 (R)	NT	16 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	02	00		09			
E2C EX	<i>klebsiella sp</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	06 (R)	25 (S)	06 (R)	06 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	15 (R)	20 (R)	18 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	09	14	06		00			
E3C EX	<i>Pseudomonas sp</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	06 (R)	28 (S)	06 (R)	06 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	09 (R)	10 (R)	06 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	03	04	00		00			
E4C EX	<i>Pseudomonas sp</i>	Sur MH	32 (S)	25 (I)	15 (R)	30 (S)	06 (R)	10 (R)	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	25 (S)	23 (R)	18 (R)	NT	06 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	07	02	03		00			
E11C	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	06 (R)	24 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	14 (R)	20 (R)	18 (R)	NT	11(R)	NT	-	
		≠ (mm)	08	14	12		05			
E12C	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	06 (R)	30 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	20 (I)	25 (I)	20 (R)	NT	18 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	14	19	14		12			
E13C	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	10 (R)	25 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	11 (R)	13 (R)	14 (R)	NT	19 (I)	NT	-	
		≠ (mm)	05	07	04		13			
E14C	<i>Proteus vulgari</i>	Sur MH	06 (R)	06 (R)	06 (R)	24 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	12 (R)	12 (R)	10 (R)	NT	09 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	06	06	04		03			

Annexe

E15C	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	21 (S)	30 (S)	26 (S)	27 (S)	09 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	23 (S)	31 (S)	29 (S)	NT	11 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	02	01	03		02			
E16C	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	20 (I)	12 (R)	22 (I)	24 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	19 (I)	16 (R)	24 (I)	NT	16 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	04	02		10			
E17C	<i>Pseudomonas sp</i>	Sur MH	25 (S)	25 (I)	06 (R)	27 (S)	12 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	22 (S)	23 (I)	09 (R)	NT	16 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	03	02	03		04			
E19C	<i>Pseudomonas sp</i>	Sur MH	30 (S)	22 (R)	06 (R)	30 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	25 (S)	20 (R)	10 (R)	NT	18 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	05	02	04		12			
E08C	<i>Acinetobacter sp</i>	Sur MH	21 (S)	13 (R)	06 (R)	32 (S)	06 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	22 (S)	10 (R)	18 (R)	30 (S)	10 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	01	03	12	02	04			
E20C	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	12 (R)	08 (R)	12 (R)	24 (S)	22 (S)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	14 (R)	09 (R)	11 (R)	NT	21 (S)	NT	-	
		≠ (mm)	02	01	01		01			
E21C	<i>Enterobacter sp</i>	Sur MH	10 (R)	07 (R)	10 (R)	28 (S)	18 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	14 (R)	06 (R)	14 (R)	NT	12 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	04	01	04		06			
E22C	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	11 (R)	06 (R)	06 (R)	32 (S)	21 (S)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	10 (R)	06 (R)	06 (R)	NT	20 (S)	NT	-	
		≠ (mm)	01	00	00		01			
E23C	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	11 (R)	09 (R)	07 (R)	27 (S)	20 (S)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	09 (R)	09 (R)	06 (R)	NT	22 (S)	NT	-	
		≠ (mm)	02	00	01		02			

Annexe

E24C	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	10 (R)	07 (R)	10 (R)	23 (S)	20 (S)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	13 (R)	11 (R)	15 (R)	NT	21 (S)	NT	-	
		≠ (mm)	03	04	05		01			
E25C	<i>Klebsiella sp</i>	Sur MH	11 (R)	09 (R)	10 (R)	30 (S)	17 (R)	NT	-	hyperproduction d'une cephalosporinase plasmidique
		MH+CLOX	16 (I)	12 (R)	20 (R)	NT	18 (R)	NT	-	
		≠ (mm)	05	03	10		01			

Résumé

L'objectif de cette étude était l'isolement et l'identification des bactéries multirésistantes aux antibiotiques : Bacilles à Gram négatif résistants résistant aux C3G et aux carbapénèmes et des entérocoques résistants à la vancomycine à partir de différents types d'insectes (cafards (*B germanica*), mouches (*Musca sp*), et fourmis (*Pheidole sp*)).

Un total de 95 échantillons a été collecté au niveau de l'EPH de Chelghoum al aid Mila et la maternité de Khenchela. Après l'isolement des souches sur gélose Mac Conkey et BEA, leur sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose de MH.

Les phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été déterminés par l'utilisation des tests phénotypiques y compris DD test, DD test avec cloxacilline, test CIM et test de Hodge modifié. Pour les entérocoques, des caractérisations phénotypiques et des CMI ont été réalisés.

Au total, la caractérisation phénotypique de la résistance des souches de BGN a montré qu'une seule souche d'*Enterobacter sp* était productrice de BLSE, et deux souches d'*Acinetobacter sp* produisaient probablement de carbapénémases. Egaleme nt nos résultats montrent que 3 souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine avec des CMI > 4 μ g/ml.

Les insectes peuvent servir des vecteurs des bactéries multirésistantes aux antibiotiques au milieu hospitalier.

Mots clés : insectes, entérobactérie, entérocoque, résistance aux antibiotiques.

Abstrat

The aim of this study was isolation and identification of antibiotic-resistant bacteria: 3rd generation cephalosporin resistant and carbapenem Gram-negative bacilli and vancomycin-resistant enterococci from different types of insects (cockroaches: *B germanica*), flies (*Musca sp*), and ants (*Pheidole sp*).

95 samples were collected at the Chehghoum al aid Mila hospital and maternity wards Khenchela hospital. After the isolation on Mac Conkey agar and BEA agar strains, their susceptibility to antibiotics was determined by diffusion method.

β -lactam resistance phenotypes were determined by phenotypic tests including DD test, DD test with cloxacillin, CIM test and modified Hodge test. For enterococci, phenotypic characterizations and MICs were performed. In total, phenotypic characterization showed that one strain of *Enterobacter sp* was x ESBL producing, and two strains of *Acinetobacter sp* probably produced carbapenemases.

Our results also show that 3 strains of enterococci resistant to vancomycin with MICs > 4 μ g/ml.

Insects can serve as vectors of multidrug-resistant antibiotic bacteria in the hospital setting.

Key words: insects, Enterobacteriaceae, enterococci, antibiotics resistance