

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 bactérienne résistante aux
antibiotiques isolée chez les insectes :
Bejaia et Mila**

Présenté par : *BELHADJ Yasmina et FARTAS Nada*

Soutenu le : 21 Juin 2017

Devant le jury composé de :

Mme ARKOUB W.	MCB	Présidente
Mme GHAROUT A.	MCB	Encadreur
Mme ZENATI K.	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2016/2017

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

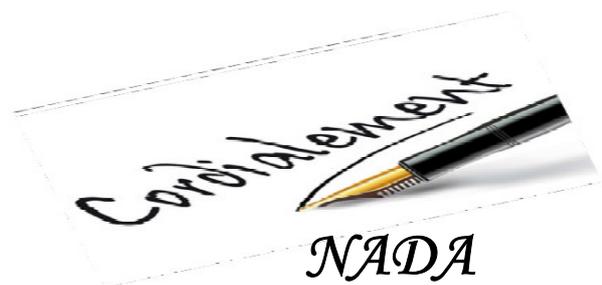
À mes chers parents que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments et mon éternelle gratitude, pour leur patience illimitée, leurs encouragements continus et leurs aides, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices

À ma sœur : Hasna

À mes frères : Said, Mohcen, Yousef et Najad pour leurs soutiens, compréhensions et qui n'ont cessé d'être présents pour moi

*À mes grandes parentes avec mes souhaits de bonheur de santé et de succès et tous les membres de mes familles **Fartas et Khellef***

*À mes amis et amies exceptionnellement : **Nina et Sara** et tous ceux qui me connaissent de loin ou de près.*



Dédicaces

Je dédie ce mémoire

À ma précieuse famille, qui sans elle, je ne serais probablement pas où j'en suis aujourd'hui...

À ma mère, la femme la plus aimante, la plus solidaire et la plus protectrice; aucune parole ne saurait traduire la profondeur de ma gratitude et de mon amour envers toi maman.

À mon père, mon père, l'homme de ma vie... Merci d'être mon papouné chéri, merci d'être comme tu es et merci pour tout le bonheur que tu me procures.

À mes sœurs: Hanane et Souad. Que serait ma vie sans vous deux? Sans vos conseils, sans votre amitié que je n'échangerai pour rien au monde. Merci d'être cette lumière qui éclaire mes sombres moments.

À mes frères: Fouad, oualid et Faiz, je vous serais toujours reconnaissante pour ce que vous êtes et ce que vous faites pour moi.

À ma grand-mère, ma grand-mère: tes douas en sont certainement pour quelque chose pour ce que je suis et où je suis arrivée aujourd'hui.

Mes sentiments les plus distingués vont à mes amies qui malgré la distance m'ont prouvé leur soutien et leur amitié : Imene, Dalila.

À mes amies de toujours. À mon group de K-pop préféré, Exo, vos paroles me soulagent, me bercent et me procurent cette tranquillité recherchée dans le bruit des choses.

Spéciale dédicace à mes petits neveux chéris Rayane, Achoure, Salase et Alicia ainsi qu'à ma tante Khadija ne cesse de me redonner espoir dans l'humanité.

Une spéciale dédicace pour DR TIRACHE et OUAZAR BAHIA.

Un grand merci, pour le grand homme de ma vie Mokrane Toufik.



YASMINA

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude et nos sincères remerciements.

Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la force, la volonté de donner le meilleur de nous-mêmes et le courage de mener ce travail.

Nous remercions notre encadreur « Mme GHAROUT Alima » pour le temps qu'elle nous consacré, ses conseils et la qualité de son suivi durant toute la période de notre recherche.

Nous remercions tous les membres du jury « Mr ARKOUB A, Mme ZENATI K » pour l'examen et l'évaluation de notre travail. Nous vous exprimons toute notre gratitude.

Nous remercions aussi 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.

Nous avons pu aller au bout de notre recherche grâce au soutien de nos familles respectives.

Nous ne pouvons conclure sans avoir remercié l'ensemble des enseignants du département de microbiologie et à tous ceux qui ont aidé de près ou de loin au succès de notre formation.



NADA ET YASMINA

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des annexes

Liste des abréviations

Introduction 1

Matériel et méthodes

I. Présentation de l'étude 7

II. Pré- enrichissement 7

III. Recherche des entérocoques résistant Vancomycine..... 8

III.1.Enrichissement et isolement..... 8

III.2.Caractérisation phénotypiques des entérocoques 8

III.3.Etude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la Vancomycine . 9

III.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI). 9

IV. Recherche des Bacilles à gram négatif 10

V.1.Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération (C3G)..... 10

IV.2.Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes 10

IV.3.Identification..... 10

IV.4.Etude de sensibilité des souches aux antibiotiques..... 10

IV.4.1.Antibiogramme Standard..... 11

IV.4.2. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamine des bacilles à Gram négatif 12

IV.4.2.1. Recherche de la production de BLSE 12

IV.4.2.2. Détermination des phénotypes de résistance aux carbapénèmes des bacilles à Gram négatif. 13

Résultats

I. Souche bactériennes..... 15

II. Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine 15

III. Recherche de bacille à Gram négatif. 17

III.1. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines..... 17

III.1.1. Recherche des BLSE.....	17
III.1.2. Recherche de production de carbapénèmase.....	20

Discussion et conclusion

Discussion et Conclusion	23
---------------------------------------	-----------

Référence bibliographiques

Annexes

Tableau I: les différents prélèvements effectués durant cette étude.	7
Tableau II: Liste des antibiotiques testés et les diamètres d'inhibition édités par le CA-SFM 2013 et CA-SFM, EUCAST, 2017.	11
Tableau III: Répartition des insectes collectés en fonction du taxon ou d'espèce.	15
Tableau IV : Répartition des souches isolées en fonction du taxon ou d'espèces d'insectes.	15
Tableau V: Résultats d'antibiogramme standard de la vancomycine	16
Tableau VI: Résultats de test CMI.	17
Tableau VII : Résultats DD-Test	18
Tableau VIII : Résultats DD-Test avec cloxacilline.	19
Tableau IX: Résultats de test CIM	20
Tableau X: Résultats de l'antibiogrammes.....	22

Figure 01 : disposition des disques dans le DD-Test.	12
Figure 02 : Les étapes du test CIM	13
Figure 03 : Schéma du test Hodge modifié.	14
Figure 04 : Aspect de colonies d' <i>Enterococcus</i> sur milieu BEA.....	16
Figure 05 : Aspect microscopique d' <i>Enterococcus</i>	16
Figure 06 : Image de synergie de la souche <i>K.pneumoniae</i> PR6.....	17
Figure 07 : DD-Test pour la souche <i>K. pneumoniae</i> PR39 avec cloxacilline (à droit et sans cloxacilline à gauche)	20
Figure 08 : Test de CIM positif pour deux souches <i>K. pneumoniae</i> PR14 et <i>K. pneumonie</i> PR21	21

Annexe I : Tableau I : Composition des milieux de culture (g/l d'eau distillée).

Annexe II : Tableau II : Les réactifs utilisés dans cette étude.

Annexe III: Tableau III : Interprétation de l'aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMAgar™ Orientation).

Annexe III : Tableau IV : Galerie biochimique d'identification des souches (les différents tests utilisés le principe, les techniques et les règles d'interprétation des tests effectués dans la galerie biochimique classique).

Annexe IV : Tableau V : Identification des souches d'entérocoques isolées chez les fourmis.

Annexe V : Tableau VI: Résultats des tests d'identifications des bactéries isolées.

AMC: Amoxicilline Clavulanate

AmpC: Céphalosporinase

AMX : Amoxicilline

ATM: Aztréonam

ATCC: American Type Culture Collection

BEA: Bile Esculine Azide de sodium

BMR: Bactéries Multi-Résistantes

BLSE: Bêta-Lactamase à Spectre Etendu

C1G : Céphalosporine de 1^{re} génération.

C2G : Céphalosporine de 2^{ème} génération.

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} génération.

C4G : Céphalosporine de 4^{ème} génération.

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

CIM: Carbapenem inactivation method

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CMY: Active on cephamycins

CTX-M: Active on cefotaxime, first isolated at Munich

CA: *Calliphora sp* Adkar

CAZ: Céftazidime.

CIT: Citrate

CT: *Calliphora sp* Tazmalt

CST: Colistine

CTX: Céfotaxime.

DD-test: Double disc test

DHA: Dhahran

EBLSE: Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu.

EDTA: Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

EMB: gélose Eosine Methylene Bleu

EPC: Entérobactéries Productrices de Carbapénémases

EPH: Etablissement Hospitalière Public

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

ERV: Entérocoque Résistante au Vancomycine

ERT: Ertapénème

GES: Guyana Extended Spectrum β -lactamases

GIM: German imipenemase

H₂S: Hydrogène Sulfuré

I: Intermédiaire

IMI: Imipenem-hydrolyzing β -lactamase

IND: Indole

KES: *klebsiella pneumoniae*.

MAN: Manitol

MH: Mueller Hinton

MOB: Mobilité

ND: Non déterminer

NDM: New Delhi metallo- β -lactamases

NIT: Nitrate

NT: Non testé

OXA: Oxacillinase

PC: *Psychodidae sp* Chirurgie

PCR : Polymerase Chain Reaction

PG: *Psychodidae sp* Gynécologie

PP: *Psychodidae sp* Pédiatrie

PU: *Psychodidae sp* Urgence

PR : *Phiedole pallidula sp* Résidence

PLP: Protéines Liant les Pénicillines

R: Résistant

RM: Rouge de Méthyle

RN: Nitrate Réductase

S: Sensible

SHV: Sulfhydryl reagent variable

TDA: Tryptophane Désaminase

TEM: Temocilline

TEM: Temoneira

TSB : Trypticase Soja Bouillon

TSI: Triple Sugar and Iron

VAN: Vancomycine

VEB: Vietnam Extended-Spectrum β -lactamase

VIM: Verona integron-encoded metallo- β -lactamases

VP: Voges- Parskauer

INTRODUCTION

La découverte des antibiotiques au début du vingtième siècle a complètement révolutionné l'histoire des pathologies infectieuses d'origine bactérienne. Toutefois, l'usage massif, peu contrôlé et parfois excessif des antibiotiques dans le milieu communautaire ou hospitalier, a des conséquences négatives qui peuvent modifier largement l'écologie microbienne et tend à augmenter le taux de bactéries résistantes (**Canton, 2003**).

Les bactéries à Gram négatif composent une large catégorie de micro-organismes qui sont incapable de retenir une coloration de cristal violet en raison de la structure distinct de leur paroi cellulaire. Parmi ceux-ci, les entérobactéries de même que les bactéries non fermentaires formant deux groupes largement responsables de plusieurs maladies infectieuses (**Laurent et al., 2011**). Les infections causées par ces bactéries constituent une préoccupation majeure dans les hôpitaux et en milieu communautaire en général (**Hindron et al., 2008**). Elles sont souvent responsables d'infections urinaires, pulmonaires, de septicémies mais également d'autres infections intra-abdominales (**Baba Ahmed-Kazi Tani, 2014**).

Malheureusement, l'impact de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif a augmenté à un rythme alarmant au niveau mondial au cours des 20 dernières années (**Nordmann et al, 2011 ; Elsalabi et al., 2013**). C'est particulièrement le cas pour les β -lactamines, principalement utilisées dans le traitement des infections à entérobactéries. Certaines entérobactéries potentiellement pathogènes ; *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* sont devenues résistantes à l'ensemble des molécules de cette classe, y compris les carbapénèmes (**Lepelletrie et al., 2015**).

Les β -lactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibioprophylaxie et en antibiothérapie. Cette utilisation importante résulte de leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité thérapeutique ainsi que le faible coût de certaines molécules (**Georgopapadakon, 1993**). Cependant, les bactéries à Gram négatif hébergent naturellement et ont acquis différents mécanismes limitant leur activité, ces résistances sont liées à une imperméabilité, à un efflux de l'antibiotique, à des modifications des protéines liant à la pénicilline (PLP) ou à la production d'enzymes inactivatrices appelées β -lactamases (**Ruppé et al., 2015**).

Les β -lactamases sont des enzymes bactériennes qui catalysent l'hydrolyse de la liaison amide du cycle β -lactame des β -lactamines, menant à la perte d'un groupement carboxyle (**Bonnet, 2014**). Elles sont nombreuses et hétérogènes, ce qui justifie dans

certaines mesures les problèmes souvent rencontrés dans leur identification (**Vodovar, 2012**).

La diversité des β -lactamases a entraîné de nombreuses tentatives de classification. Deux sont actuellement utilisées : celle d'Amblar qui est fondée sur les propriétés moléculaires, et celle de Bush-Jacoby-Medeiros qui est fondée sur les propriétés fonctionnelles des enzymes (**Ruppé, 2010**). Selon la classification d'Amblar, il est possible de définir phylogénétiquement quatre classes de β -lactamases A, B, C et D ; les protéines de classe A, C et D sont des enzymes à sérine active, tandis que les enzymes appartenant à la classe B sont des métallo-enzymes à zinc. 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. Ce nouveau système de classification fonctionnelle subdivise les β -lactamases en trois groupes possédant une série de sous groupes : le groupe 1 (classe C) des céphalosporinases, le groupe 2 (classe A et D) des inhibiteurs résistants à large spectre, des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et des carbapénémases à sérine ; et le groupe 3 (classe B) réunissant les métallo- β -lactamases (**Bush et Jacoby, 2010**).

Les BLSE sont des β -lactamases qui appartiennent en majorité à la classe A de la classification d'Amblar et 2^{de} de Bush- Jacoby-Medeiros. Certains auteurs considèrent également les β -lactamases des classes D et 2^{de} (de type OXA) comme des BLSE (**Vodovar, 2012**). Elles sont capables de conférer une résistance aux pénicillines, céphalosporines de 1^{ère} génération (C1G), céphalosporines de 2^{ème} génération (C2G) et céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ainsi qu'à l'aztréonam. En revanche, elle ne confère pas de résistance aux céphamycines et carbapénèmes (**Vodovar et al., 2003 ; Paterson et Bonomo, 2005**).

Les premières BLSE ont été mises en évidence en Allemagne et en France en 1984 (**Sirot et al., 1987 ; Anastay et al., 2013**). Elles sont le résultat de mutations génétiques ponctuelles, en particulier TEM ou SHV-1 et ont été décrites initialement chez *K. pneumoniae* (TEM3, SHV-2) (**Nicolas-chanoine, 2012**). Toutefois, le début des années 2000 a été marqué par l'émergence et la dissémination globale d'un nouveau type de BLSE de type CTX-M (**Bonnet, 2004**). Ces enzymes dérivent de céphalosporinases chromosomiques de *Kluyvera sp*, avec 40% d'homologie avec les BLSE TEM et SHV (**Nicolas-chanoine, 2012**). L'émergence rapide de ces souches, principalement chez *E. coli*, consiste en une véritable pandémie mondiale (**Philippon, 2013**).

L'enzyme CTX-M est devenue le type de BLSE la plus fréquente dans le monde entier (**Hasan et al., 2014**). En Algérie, des études ont montré la présence de ces enzymes en milieu hospitalier, communautaire, animaux (animaux d'élevages, compagniers et sauvages) et environnement (eaux) (**Bachiri et al., 2017 ; Belmahdi et al., 2016 ; Gharout-Sait et al., 2012 ; Tafoukt et al., 2017 ; Touati et al., 2010 ; Yanat et al., 2014 ; Yousfi et al., 2015**).

Les enzymes de type AmpC sont des céphalosporinases de classe C, elles hydrolysent préférentiellement les céphalosporines, mais leur spectre d'action inclut aussi les pénicillines, les céphalosporines et les monobactames. Elles peuvent être chromosomiques ou plasmidiques telles que CMY et DHA et elles sont inhibées par la cloxacilline (**Jacoby, 2009**).

Les carbapénèmes sont des antibiotiques appartenant à la famille des β -lactamines qui exercent une activité antibactérienne la plus large. L'imipénème ou le méropénème sont utilisées fréquemment contre les souches productrices de BLSE (**Nordmann et al., 2011**). Cependant, des β -lactamases ayant une activité hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes « les carbapénémases » ont rapidement émergé dans le monde entier (**Fischer et al., 2013**).

Les carbapénémases, telles que GES, KPC et IMI appartenant à la classe A d'Ambler ont une activité sur toutes les β -lactamines et sont partiellement inhibées par l'acide boronique et l'acide clavulanique (**Pitout, 2012**). En Algérie, l'enzyme KPC-3 a été isolée chez une souche de *K. pneumoniae* en 2014 (**Bakour et al., 2014**).

Les carbapénémases, telle que NDM et VIM appartenant à la classe B d'Ambler ayant une activité sur toutes les β -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Les inhibiteurs de β -lactamases de classe A (acide clavulanique et tazobactam) n'affectent pas leur activité *in vitro*, par contre elles sont inhibées par l'EDTA ou l'acide dipicolinique (**Nordmann et al., 2010**). *A. baumannii* est la première souche de NDM-1 identifié en Algérie (**Boulanger et al., 2012**).

Les carbapénémases de classe D d'Ambler ayant une forte activité sur les carbapénèmes mais elle est faible contre les monobactams et les C3G (**Nordmann et al., 2010**). Bien que la plupart des ces enzymes aient été décrites presque uniquement chez *A. baumannii* (OXA-23, OXA-24, OXA-58...), certaines ont été isolées d'entérobactéries,

notamment OXA-48 (**Queenan et al., 2007**). La résistance aux carbapénèmes augmente lors d'association à un défaut de perméabilité et à une BLSE (**Carrër et al., 2010 ; Cuzon et al., 2011**). *E. coli* est la première souche isolée en Algérie (hôpital militaire à Constantine) productrice OXA-48 (**Agabou et al., 2014**).

Les cocci à Gram positif sont fréquemment isolées en bactériologie médicale et jouent un rôle important en pathologie. Ils font partie des flores commensales de la peau et des muqueuses chez l'homme, ce qui pose des problèmes lorsqu'une culture est positive, de distinguer entre une situation pathogène et une contamination de l'échantillon par une bactérie commensale (**Garnier et Denis, 2016**). Les entérocoques sont des bactéries Gram-positives du tractus gastro-intestinal de l'homme et de la plupart des animaux (**Aarestrup et al., 2000**). Les bactéries du genre *Enterococcus* sont aéro-anaérobies facultatives et poussent de manière optimale à 35 °C, mais peuvent tolérer des températures allant de 10 °C à 45 °C (**Byappanahalli et al., 2012**). Ils sont des bactéries ubiquistes présentes dans différentes niches écologiques (**Aarestrup et al., 2002**) ce qui explique leur impact important dans la santé de l'homme (**Sood et al., 2008**).

Parmi 54 espèce de genre *Enterococcus* (**Parte, 2014**), *E. faecalis* et *E. faecium* semblent être les plus détectées dans le tractus intestinal de l'homme et des animaux et aussi ubiquistes dans l'environnement (**Byappanahalli et al., 2012**).

Les entérocoques sont des bactéries commensales anciennes qui ont récemment apparu comme cause d'infections résistantes aux antibiotiques dans le milieu hospitalier (**Daria et al., 2017**). Ils sont intrinsèquement résistants à un nombre important d'antibiotiques comme les aminosides, quinolones et C3G. En outre, ils ont la capacité de développer et d'acquérir des gènes de résistances aux glycopeptides, tétracyclines et macrolides (**Clewell et al., 2002**), par le transfert des éléments génétiques mobiles (tels que des plasmides ou transposons), ou par échange ou mutations chromosomiques, ce qui pose un défi dans le traitement des maladies infectieuses (**Hegstad et al., 2010**).

La résistance au glycopeptide, en particulier à la vancomycine, un glycopeptide qui représente l'une des dernières lignes de défense contre de nombreuses bactéries à Gram positif multi-résistantes (**Moscoso et al., 2011**). Cette résistance acquise est médiée par divers mécanismes, dont le génotype *vanA* est le plus fréquemment rencontré (**Gilmore, 2002**). L'accroissement des infections à entérocoques dans les hôpitaux et les *Enterococcus*

résistants à la vancomycine (ERV) isolés chez l'homme, les animaux et dans l'alimentation a constitué un problème de santé publique (**Min-Chan Kim et al., 2017**).

Les bactéries résistantes aux antibiotiques et les bactéries productrices d'antibiotiques se retrouvent généralement dans tous les écosystèmes (**Albrechtova et al., 2014**). Habituellement, la faune sauvage n'est pas exposée aux antibiotiques utilisés en cliniques (**Martinez, 2009**) mais actuellement, il 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**).

Les insectes sont présents partout, colonisent chaque milieu, et représentent à eux seuls les deux tiers du règne animal.

La classe des insectes fait partie de l'embranchement des arthropodes, qui présentent la particularité d'avoir un corps composé de segments articulés et protégé par un squelette externe (cuticule), mais les insectes se distinguent par : Un corps composé de trois parties (tête, thorax et abdomen), une paire d'antennes, trois paires de pattes et des ailes (le plus souvent). (**Laurentiaux, 1758**).

Les insectes ont été connus comme des vecteurs mécaniques dans la propagation de maladies infectieuses telles que le choléra, la shigellose, la salmonellose et les infections de la peau (**Nazari et al., 2017**). Cependant, l'utilisation intensive d'antibiotiques, en particulier en tant que promoteurs de croissance, dans l'industrie animale a entraîné une grande pression pour l'évolution et la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques dans l'environnement alimentaire des animaux (**Spellberg et al., 2011**). Ces antibiotiques sont faiblement absorbés dans le tractus digestif des animaux et sont donc libérés dans l'environnement dans les matières fécales animales et dans les urines (**Looft et al., 2012 ; Zhu et al., 2013**), au même temps, les déchets organiques dans les installations de production animale et aux alentours constituent un excellent habitat pour le développement d'insectes (**Gore et al., 2004**).

Les insectes comme les mouches domestiques et les cafards allemands ont un grand potentiel pour disséminer les bactéries de leur matière fécale en raison de leur habitat, de leur mouvement, de leur mode d'alimentation, de leur forte attraction pour la nourriture humaine et de leur nature synanthropique (**Graczyk et al., 2001 ; Zurek et Gorham,**

2008). En effet, les mouches synanthropes ont été impliquées dans la diffusion rapide de bactéries résistantes aux antibiotiques dans la biosphère. Ces mouches portent de manière stable un nombre considérable de bactéries qui présentent une résistance à divers antibiotiques (Wei *et al.*, 2016).

Le premier rapport sur le potentiel des mouches à acquérir des souches d'*Escherichia coli* résistantes aux antibiotiques provenant d'animaux vivants (porcins et bovins) a été publié en 1990 par Marshall *et al* en 1990.

En Algérie, l'étude de Loucif *et al* en 2016 rapporte la production de BLSE de type CTX-15 et les carbapénèmases de type OXA-48 chez les cafards allemands (*Blattella germanica*) à l'hôpital de Batna.

C'est dans cette optique que nous avons entrepris ce travail sur la recherche de BMR chez des insectes isolées en milieu hospitalier et communautaire. Pour cela nous avons adopté la démarche suivante:

- Isolement et identification d'une collection d'entérobactérie résistantes aux β -lactamines et des d'entérocoques résistants à la vancomycine à partir de différentes insectes (fourmis, mouches et moustiques) et dans divers environnements (EPH Mila, résidence universitaire Pépinière de Bejaia, poulaillers d'Adkar et Tazmalt).
- Détermination des phénotypes de résistances vis-à-vis des β -lactamines.

**MATERIEL ET
METHODES**

I. Présentation d'étude

Dans le but de cribler des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques (β -lactamines et vancomycine) chez les insectes, nous avons réalisé dans ce travail qui comporte deux parties durant une période allant du **20/02/2017** au **10/05/2017**.

La première partie du travail s'est déroulée au niveau de deux hôpitaux : EPH de Mila « les frères Maghlaoui » et EPH d'Akbou « Akloul Ali » et en milieu communautaire : la résidence universitaire la pépinière de Bejaia et 2 poulaillers : Tazmalt et Adkar. Cette partie a consisté en la collecte d'insectes (moustiques, mouches et fourmis).

La deuxième partie du travail s'est effectuée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaia. Le tableau suivant résume les différents prélèvements réalisés durant cette étude.

L'identification des insectes a été réalisée par l'équipe du laboratoire Zoologie (LZA) en se basant sur des critères morphologiques.

Tableau I : Les différents prélèvements effectués durant cette étude

Insectes	Espèce ou Taxon	Région	Site de prélèvement		Code	N°	Date de prélèvement
Moustique	<i>Psychodidae sp</i>	Mila	EPH Mila :		P	Total	12/02/2017
			Chirurgie		PC	10	
			Gynécologie		PG	10	
			Pédiatrie		PP	10	
			Urgence		PU	10	
Mouche	<i>Calliphora sp</i>	Bejaia	Poulaillers	Tazmalt	CT	10	20/03/2017
				Adkar	CA	20	
Fourmi	<i>Pheidole pallidula</i>	Bejaia	Résidence pépinière de Bejaia Bloc A 5eme étage		PR	45	03/04/2017

II. Pré-enrichissement

Chaque échantillon a été enrichi dans 5 ml de bouillon Trypticase Soja (TSB) et incubé à 37°C/24h, après une homogénéisation pendant 02 min avec le vortex pour éclater l'insecte (étude de la flore totale).

III. Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine

III.1. Enrichissement et isolement

Un enrichissement a été réalisé en ensemençant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du Bouillon Rothe additionné de vancomycine (10µg/ml) et de colistine (10µg/ml), servant à sélectionner les souches d'ERV et d'éliminer les souches à Gram négatif. L'incubation a été effectuée à 37°C/24h. A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du bouillon Rothe a été effectué sur la gélose Bile Esculine Azide de sodium (BEA) additionnée de vancomycine (10µg/ml) et de colistine (10µg/ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

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

III.2. Caractérisation phénotypiques des entérocoques

a) Test de catalase

Sur une lame propre et sèche, prélever quelques colonies et les déposer à l'aide d'une pipette Pasteur, puis une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) a été ajoutée. Une réaction positive se traduit par une effervescence (Bartos *et al.*, 2004).

b) Examen microscopique (Coloration de Gram)

La coloration de Gram met en évidence la propriété de la paroi bactérienne et permet de distinguer et classer rapidement les bactéries présentes dans un produit ou un milieu tant sur le type que sur la forme. Les entérocoques apparaissent sous forme de cocci à Gram positif (couleur violette) regroupés en diplocoques ou en courtes chaînettes.

c) Croissance sur un Bouillon hyper-salé

Les entérocoques sont tous capables de se développer en milieu hyper-salé (6,5% de NaCl) contrairement aux streptocoques. Des tubes de Bouillon hypersalé ont été ensemencés puis incubés à 37°C/24h. La présence d'un trouble dans le tube indique un test positif (Schleifer et Kilpper-Balz, 1984).

d) Croissance et résistance à la chaleur

La majorité des entérocoques sont capables de pousser sous des températures allant de 10 à 45°C, certaines espèces peuvent survivre à une température de 60°C pendant 30 min et incubation à 45°C pendant 24h (**Terzaghi et Sandine, 1975**).

A partir d'une boîte de BEA positive, on a ensemencé à l'aide d'une anse de platine stérile quelques colonies dans un volume de 5 ml de TSB additionné de glucose à 10%. Les tubes ensemencés ont été incubés à 60°C/30min, puis à 44°C/24h. La présence d'un trouble dans le tube indique que la souche pousse et résiste à la chaleur.

e) Croissance en présence de tellurite de potassium.

E. faecalis est la seule espèce des entérocoques qui a la capacité de réduire le tellurite de potassium en tellure.

Dans des tubes à essai contenant 4,5ml de TSB et 0,5 de tellurite de potassium dilué à 1/250 (1ml de tellurite de potassium est dilué dans 249 ml d'eau distillée), on a ensemencé quelques colonies. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h, la présence d'un trouble indique que le test est positif (**Facklam, 1972**).

III.3. Etude de la sensibilité des souches d'entérocoque vis-à-vis de la vancomycine

La sensibilité des souches 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 la 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 5µg) ou inférieur à 16mm (pour un disque de VAN de 30µg) sont considérées résistantes (**CA-SFM, 2017**).

III.3.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La détermination de la CMI vis-à-vis de la vancomycine (VAN) a été réalisée en milieu liquide pour les souches d'entérocoques isolées sur (BEA). Un volume de 50 µl du bouillon Muller Hinton (MHB) a été distribué dans chaque cupule, puis 50 µl de VAN a été ajouté dans la deuxième cupule (la première cupule servira de témoin négatif pour le contrôle de l'inoculum) et bien mélangé la solution avec la micropipette. Ensuite, prélever 50 µl pour le mélanger avec la cupule adjacente et ainsi de suite jusqu'à la dernière cupule et jeter les 50 µl restant (de la cupule 2 à 12) afin d'obtenir des dilutions allant de 256 à 0,25 mg/l de VAN. Enfin, 50 µl de la suspension bactérienne préparée dans le bouillon

BMH a été ajouté dans chaque cupule en partant de la cupule la moins concentrée vers la plus concentrée. Incuber à 37°C/24h.

IV. Recherche de bacilles à Gram négatif

IV.1. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération (C3G)

A partir du bouillon du pré-enrichissement, un enrichissement a été réalisé en ajoutant 40µl du bouillon TSB dans 160 µl de TSB additionné de céftazidime (4 µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml) servant à éliminer les Gram positif. L'incubation a été réalisée à 37°C/24h. A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du TSB a été effectué sur la gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime (4 µg/ml) et de vancomycine (32 µg/ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

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

IV.3. Identification

Les souches sélectionnées ont été identifiées en utilisant une mini-galerie biochimique (Milieux Urée/Indole, TSI, Citrate Simmons, Clark et Lubs, Bouillon nitraté, Mannitol- mobilité). L'identification de certaines souches a été confirmée en utilisant le milieu Chromagar-orientation. Les milieux de cultures utilisés au cours de ce travail, les réactifs et la lecture du milieu Chromagar orientation et la galerie biochimique classique sont rapportés respectivement dans l'annexe I, II, III et IV.

IV.4. Etude de sensibilité des souches aux antibiotiques

Nous avons testé la sensibilité des bacilles à Gram négatif isolés vis-à-vis de différents β-lactamines, par la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton, selon les recommandations du comité Français de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CA-SFM, 2013 et CA-SFM, 2017**).

IV.4.1. AntibioGramme Standard

a) **Milieu** : Nous avons utilisé la gélose Muller Hinton. Après l'avoir coulée dont l'épaisseur est de 4 mm, les boîtes sont bien séchées avant de les utiliser.

b) **Inoculum** : L'inoculum doit être préparé à partir d'une culture de 18 à 24 h. 3 à 5 colonies bien isolées sont déchargées dans 5 ml d'eau physiologique stérile.

c) **Ensemencement** : L'ensemencement de la suspension bactérienne est effectué par écouvillonnage en stries serrées. Puis, les disques d'antibiotiques à tester sont déposés à la surface de la gélose, à l'aide d'une pince stérile. Enfin, l'incubation de boîtes à 37°C /24 h. La listes des antibiotiques à testées est donnée dans le tableau II.

Tableau II: Liste des antibiotiques testés et les diamètres d'inhibition édités par le CA-SFM 2013 et CA-SFM 2017.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Marque	Diamètre critiques (mg/l)	
					≥ S	< R
β-lactamines	Amoxicilline+ Acide clavulanique	AMC	20/10	SPINREACT HIMEDIA®	21	16
	Céfoxitine	FOX/CX	30	Bio-Analyse HEMIDIA® SPINREACT	19	19
	Céfotaxime	CTX	30	CYPRESS DIAGNOSTIC SPINREACT	26	23
	Céftazidime	CAZ	30	CYPRESS DIAGNOSTIC SPINREACT	26	21
	Méropénème	MEM	10	Bio-Rade CYPRESS DIAGNOSTIC	22	15
	Imipénème	IMP	10	CYPRESS DIAGNOSTIC	22	16
	Ertapénème	ERT	10	Bio-Rad	28	26
	Aztréonam	ATM	10	CYPRESS DIAGNOSTIC	27	21
	Témocilline	TEM	10	Bio-Rad	20	20
Polymyxines	Colistine	CST	50	Bio-Rad	15	15

d) **Lectures** : Après incubation, les différents diamètres des zones d'inhibition sont mesurés, l'interprétation en Résistant (R), Intermédiaire (I), ou Sensible (S), selon une comparaison avec les diamètres critiques étudiés par le Comité Français de

l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013 et CA-SFM 2017).

IV.4.2. Détermination des phénotypes de résistance aux β -lactamines de bacilles à Gram négatif

IV.4.2.1. Recherche de la production de BLSE

Les BLSE ont été recherchées chez toutes les souches isolées sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime.

a. DD-Test (ou test de synergie)

La production d'une β -lactamase à Spectre Étendu a été détectée par le test de synergie (DD-test) qui repose sur la mise en évidence d'une image de synergie entre le disque d'AMC (amoxicilline 20 μ g /acide clavulanique 10 μ g) et les C3G (céfotaxime : CTX, céftazidime : CAZ). Les disques de CTX (30 μ g), CAZ (30 μ g) ont été placés à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'AMC (Jarlier *et al.*, 1988). D'autres β -lactamines dont les carbapénèmes (Imipénème : IMP (10 μ g) ou Méropénème : (10 μ g)), de Céfoxitine : Fox (30 μ g) et Aztréonam : ATM (10 μ g) ont été testés sur la même boîte pour certaines souches (Figure 1).

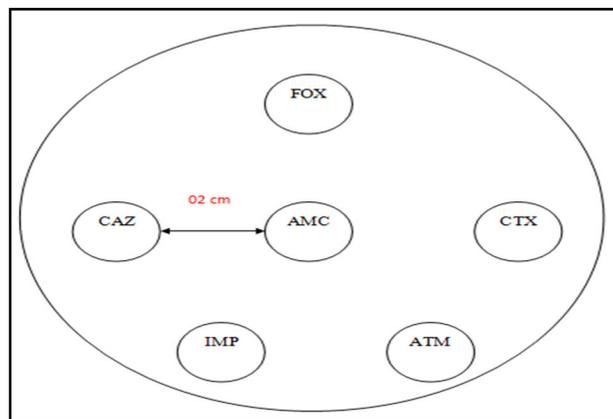


Figure 01 : Disposition des disques dans le DD-Test

b. Test de synergie sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline.

Chez les souches naturellement productrices de céphalosporinases et chez les souches productrices de céphalosporinases plasmidiques, la présence d'une BLSE peut être masquée du fait de l'induction de la céphalosporinase par l'acide clavulanique. Ces

souches ont été testées vis-à-vis du céfotaxime et céftazidime en utilisant la gélose MH additionnée de cloxacilline (250 µg/ml). La présence d'une BLSE est détectée par une comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline (Drieux *et al.*, 2008).

IV.4.2.2. Détermination des phénotypes de résistance aux carbapénèmes des bacilles à Gram négatif

a. Test CIM (carbapenem inactivation method)

Un nouveau test phénotypique, appelé la méthode d'inactivation de carbapénèmes (CIM) a été utilisé pour détecter les activités carbapénémases chez les bacilles à Gram négatif (Figure 2). Un disque de méropénème (10µg) est introduit dans trois tubes Eppendorf contenant des suspensions bactériennes (500 µl d'eau physiologique avec quelques colonies) de la souche à tester, *E. coli* ATCC 25922 sensible (témoin négatif) et une souche productrice de KPC/NDM (témoin positif). Les tubes sont incubés à 37°C/2h. Au terme de la période d'incubation, les disques de méropénème sont placés sur une boîte de gélose MH ensemencée par *E. coli* ATCC 25922. L'incubation est effectuée à 37°C/24h. Si la souche bactérienne est productrice de carbapénémase, le disque de méropénème (MEM) va être inactivé du fait de l'activité carbapénémase (pas de zone d'inhibition autour de l'antibiotique). Une zone d'inhibition est observée en cas d'absence de carbapénémase (Van der Zwaluw *et al.*, 2015).

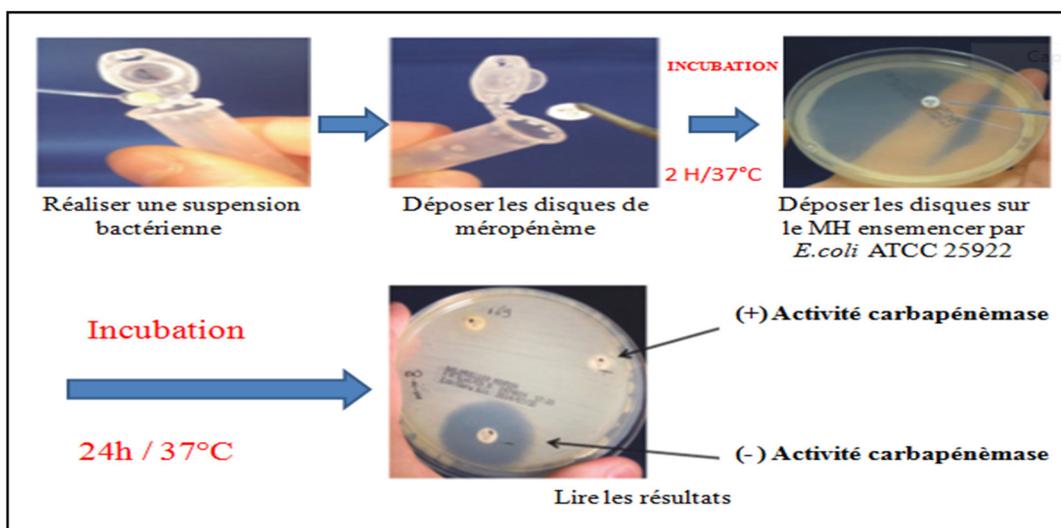


Figure 02 : Etapes du test CIM (Van der Zwaluw *et al.*, 2015).

b. Test de Hodge modifié

Sur une boîte de la gélose Mac Conkey préalablement ensemencée par une souche de référence d'*E. coli* ATCC 25922, déposer un disque d'imipénème (IMP 10µg) au centre de la boîte. Ensuite, la souche à tester est ensemencée sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'imipénème jusqu'au bord de la boîte en présence d'un témoin positif : *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase (KPC) et d'un témoin négatif *E. coli* ATCC 25922 (Figure 3). Après 24h d'incubation à 37°C, la production d'une carbapénémase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee *et al.*, 2001).

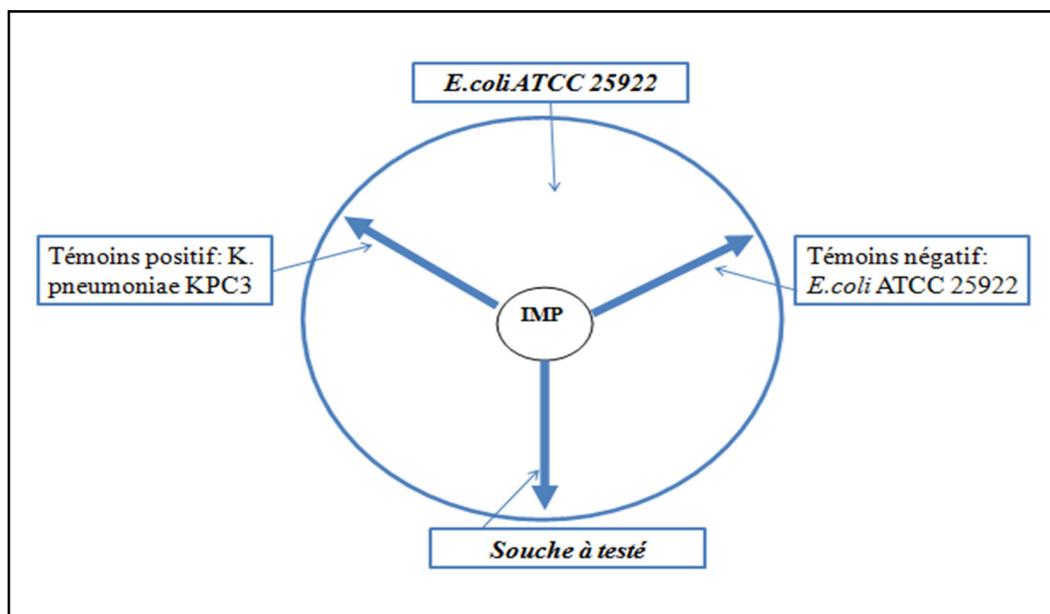


Figure 03 : Schéma du test Hodge modifié

c. Etude de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

Toutes les souches positives au test CIM (résistantes ou intermédiaires au méropénème) ont été testées vis-à-vis de carbapénèmes (imipénème, méropénème, ertapénème), de la témocilline et aussi de la colistine. L'interprétation a été établie en suivant les recommandations du CA-SFM, 2013 et CA-SFM, 2017.

RESULTATS

I. Souche bactériennes

Au cours de cette étude, un total de 115 insectes ont été collectés dans différents environnements.

Le tableau suivant donne la répartition des insectes en fonction du taxon ou d'espèce.

Tableau III: Répartition des insectes collectés en fonction du taxon ou d'espèce.

Le taxon ou l'espèce d'insectes/code	Fourmis : <i>Pheidole pallidula</i> (PR)	Moustiques : <i>Psychodidae sp</i> (P)	Mouche: <i>Calliphora sp</i>		Total
			(CA)	(CT)	
Le nombre	45 (39.13%)	40 (34.78%)	20 (17,39%)	10 (8,70%)	115 (100%)

51 souches ont été isolées incluant 24 souches sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime, 20 souches sur gélose Mac Conkey additionnée de méropénème. 7 souches ont été isolées sur gélose BEA additionnée de vancomycine.

La répartition de ces souches par espèce d'insectes est montrée dans le tableau suivant.

Tableau IV : Répartition des souches isolées en fonction du taxon ou d'espèces d'insectes.

	Mac +CAZ	Mac+MEM	BEA+VAN	Total
<i>Pheidole pallidula</i>	10	19	07	36
<i>Calliphora sp</i>	Tazmalt	00	00	00
	Adkar	05	00	05
<i>Psychodidae sp</i>	09	01	00	10
Total	24 (47,06 %)	20 (39,21%)	07 (13,72%)	51 (100%)

II. Recherche des entérocoques résistants à la vancomycine

L'identification des entérocoques a été faite sur la base de l'aspect des colonies sur gélose BEA (figure 4), ainsi que leurs aspects microscopiques après la coloration de Gram (figure 5) et le test de catalase. L'identification a été basée encore sur les tests classiques comprenant la croissance sur bouillon hypersalé, la résistance à un traitement thermique de 60°C pendant 30 min et la résistance au tellurite de potassium pour *E. faecalis* et l'isolement sur milieu Chromagar d'Orientation. Le tableau I en annexe VI résume les résultats d'identification.



Figure 04 : Aspect de colonies d'*Enterococcus* sur milieu BEA



Figure 05 : Aspect microscopique d'*Enterococcus*

De ce fait, au cours de cette étude, nous avons isolé et identifié 7 souches d'entérocoques dont 2 seraient *E. faecalis*.

L'étude de sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine par la méthode d'antibiogramme standard a été effectuée chez 7 souches. Les résultats obtenus sont dans le tableau suivant.

Tableau V: Résultats d'antibiogramme standard vis-à-vis de la vancomycine

Code	PR 7	PR18	PR26	PR28	PR30	PR39	PR40
Diamètre (mm) critique	30	29	17	6	17	11	19
	/S	/S	/S	/R	/S	/R	/S

S : Sensible. R : Résistant

Nous avons testé les CMI de deux (2) souches d'*E. faecalis* isolées vis-à-vis de la vancomycine (VAN).

Nous avons retenu les souches ayant des CMI > 4 µg/ml selon les recommandations du CA-SFM, 2017. Les valeurs de CMI sont respectivement 16 µg/ml et 64 µg/ml pour les souches PR28 et PR39. Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau VI: Résultats de CMI

Code	Espèces	Concentration vancomycine (µg/ml)										
		256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25
PR28	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PR39	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+

(+) : Croissance. (-): pas de croissance.

III. Recherche de bacilles à Gram négatif

L'identification des entérobactéries a été faite sur la base de l'aspect des colonies sur le milieu Chromagar d'orientation et les tests biochimiques (Annexe V).

III.1. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines

III.1.1. Recherche des BLSE

❖ DD-Test (test de synergie)

Le DD-test effectué sur gélose Mueller-Hinton a révélé la présence d'une image de synergie chez 12 (12/24) souches d'entérobactéries résistantes aux C3G (Tableau VII), indiquant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches (Figure 06).

La répartition de ces souches en fonction de l'espèce montre que *K. pneumoniae* est la plus isolée (7 souches), suivi par *E. coli* (4 souches) et seulement une souche de *Serratia marcescens* a été isolée. Ainsi, la répartition selon le site d'isolement montre que la majeure partie de ces souches sont d'origine communautaire (7 souches) contre 4 souches d'origine hospitalière. Le service de la chirurgie et d'urgence sont les plus exposés (2 souches).

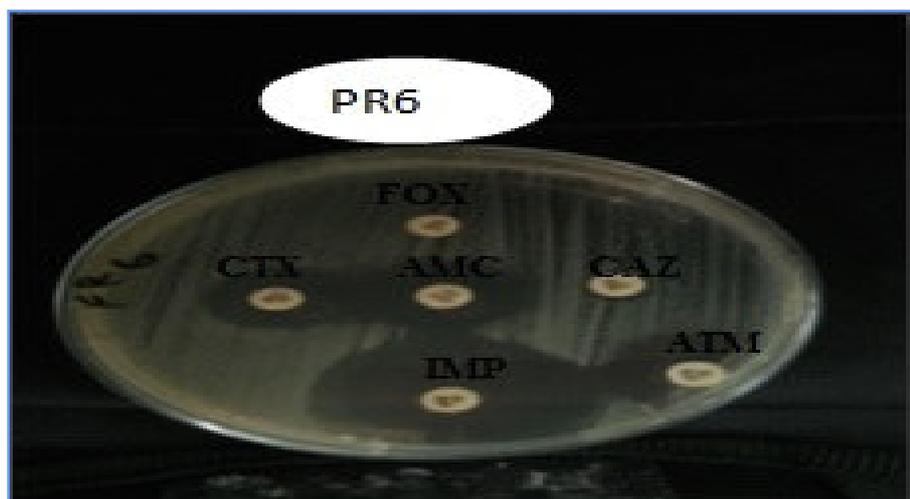


Figure 06: Image de synergie de la souche *K. pneumoniae* PR6

Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant.

Tableau VII : Résultats DD-Test

Insecte	Code	Espèce	AMC	CAZ	CTX	FOX	IMP	MEM	ATM	Synergie	Phénotype
Moustiques	PC2	<i>K. pneumoniae</i>	10/R	6/R	6/R	6/R	27/S	NT	11/R	Absence	ND
	PC4	<i>E. coli</i>	8/R	6/R	6/R	6/R	NT	21/I	NT	Absence	ND
	PC5	<i>E. coli</i>	11/R	6/R	12/R	6/R	25/S	NT	NT	Absence	ND
	PG12	<i>E. coli</i>	7/R	6/R	6/R	6/R	NT	20/I	NT	Absence	ND
	PP25	<i>E. coli</i>	30/S	10/R	18/R	6/R	NT	35/S	NT	Présence	BLSE
	PP29	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	6/R	6/R	6/R	NT	25/S	NT	Absence	ND
	PP30	<i>E. coli</i>	25/S	6/R	14/R	6/R	NT	30/S	NT	Présence	BLSE
	PU34	<i>K. pneumoniae</i>	15/R	8/R	10/R	9/R	NT	25/S	NT	Présence	BLSE
Fourmis	PR3	<i>K. pneumoniae</i>	19/I	10/R	16/R	6/R	32/S	NT	24/I	Présence	BLSE
	PR4	<i>K. pneumoniae</i>	9/R	6/R	11/R	6/R	NT	24/S	24/I	Absence	ND
	PR5	<i>K. pneumoniae</i>	20/I	10/R	14/R	6/R	38/S	NT	24/I	Présence	BLSE
	PR6	<i>K. pneumoniae</i>	14/R	6/R	16/R	6/R	32/S	NT	12/R	Présence	BLSE
	PR7	<i>S. marcescens</i>	20/I	16/R	16/R	6/R	18/I	NT	21/R	Présence	BLSE
	PR8	<i>K. pneumoniae</i>	14/R	6/R	16/R	6/R	18/I	NT	22/I	Absence	ND
	PR21	<i>K. pneumoniae</i>	16/R	6/R	13/R	28/S	35/S	NT	NT	Présence	BLSE
	PR26	<i>E. coli</i>	6/R	12/R	12/R	24/S	32/S	NT	NT	Présence	BLSE
	PR32	<i>K. pneumoniae</i>	8/R	6/R	6/R	19/S	NT	22/S	NT	Absence	ND
	PR39	<i>K. pneumoniae</i>	14/R	6/R	8/R	21/S	NT	26/S	NT	Absence	ND
mouches	CA7	<i>E. coli</i>	6/R	6/R	6/R	6/R	NT	29/S	NT	Absence	ND
	CA8	<i>E. coli</i>	6/R	6/R	6/R	6/R	NT	30/S	NT	Absence	ND
	CA14	<i>K. pneumoniae</i>	18/I	8/R	17/R	9/R	NT	26/S	NT	Présence	BLSE
	CA15	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	6/R	6/R	6/R	NT	26/S	NT	Absence	ND
	CA17	<i>E. coli</i>	15/R	9/R	18/R	16/R	NT	26/S	NT	Présence	BLSE

❖ **DD-Test sur gélose Muller-Hinton additionnée de cloxacilline**

La présence de l'activité céphalosporinase (chromosomique ou plasmidique) peut masquer l'image de synergie. Un DD-Test sur gélose Muller Hinton additionnée de cloxacilline à une concentration de 250 µg/ml a été réalisée. Le test a été effectué chez 12 souches d'entérobactéries résistantes aux C3G avec absence d'image de synergie. Les résultats obtenus ont montré la présence d'une image de synergie chez 4 souches révélant la présence probable d'une BLSE (Figure 07). 2 souches de *K. pneumoniae* présentaient une récupération de la zone d'inhibition rendant compte de la présence possible d'une céphalosporinase plasmidique. Le phénotype de 6 souches restantes n'a pas été déterminé.

Tableau VIII : Résultats DD-Test avec cloxacilline.

Insectes	Codes	Espèce	Gélose	AMC	CAZ	CTX	FOX	Synergie	Phénotype
Moustiques	PC 2	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	10/R	6/R	6/R	6/R	-	AmpC plasmidique
			Sur MH+CLX	10,5/R	31/S	33/S	6/R	-	
			≠ (mm)	-0,5	-25	-27			
	PC 4	<i>E. coli</i>	Sur MH	8/R	6/R	6/R	6/R	-	BLSE
			Sur MH+CLX	16/I	12/R	6/R	23/S	+	
			≠ (mm)	-8	-6	0	-17		
	PC 5	<i>E. coli</i>	Sur MH	11/R	6/R	12/R	6/R	-	BLSE
			Sur MH+CLX	10/R	9/R	12/R	6/R	+	
			≠ (mm)	1	-3	0	0		
	PG 12	<i>E. coli</i>	Sur MH	7/R	6/R	6/R	6/R	-	ND
			Sur MH+CLX	6/R	6/R	6/R	6/R	-	
			≠ (mm)	1	0	0	0		
PP29	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	6/R	6/R	6/R	6/R	-	ND	
		Sur MH+CLX	6/R	6/R	6/R	6/R	-		
		≠ (mm)	0	0	0	0			
Fourmis	PR04	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	9/R	6/R	11/R	6/R	-	AmpC Plasmidique
			Sur MH+CLX	20/I	6/R	6/R	22/S	-	
			≠ (mm)	-11	0	5	-16		
	PR 08	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	14/R	6/R	16/R	6/R	-	ND
			Sur MH+CLX	6/R	6/R	6/R	6/R	-	
			≠ (mm)	8	0	8	0		
	PR 32	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	8/R	6/R	6/R	19/S	-	BLSE
			Sur MH+CLX	15/R	11/R	6/R	20/S	+	
			≠ (mm)	-7	-5	0	-1		
	PR 39	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	14/R	6/R	8/R	21/S	-	BLSE
			Sur MH+CLX	22/S	10/R	6/R	20/S	+	
			≠ (mm)	-8	-4	2	1		
Mouches	CA 07	<i>E. coli</i>	Sur MH	6/R	6/R	6/R	6/R	-	ND
			Sur MH+CLX	6/R	6/R	6/R	6/R	-	
			≠ (mm)	0	0	0	0		
	CA 08	<i>E. coli</i>	Sur MH	6/R	6/R	6/R	6/R	-	ND
			Sur MH+CLX	6/R	6/R	6/R	6/R	-	
			≠ (mm)	0	0	0	0		
	CA 15	<i>K. pneumoniae</i>	Sur MH	6/R	6/R	6/R	6/R	-	ND
			Sur MH+CLX	6/R	6/R	6/R	6/R	-	
			≠ (mm)	0	0	0	0		

Remarque : Nous avons testé chez certaines souches la FOX de marque Bioanalyse et qu'a expirée en février 2017.

La figure suivante donne un exemple d'une image de récupération de la zone d'inhibition chez la souche *K. pneumoniae* PR39 isolées chez des fourmis au niveau de la résidence universitaire Pépinière de Bejaia.

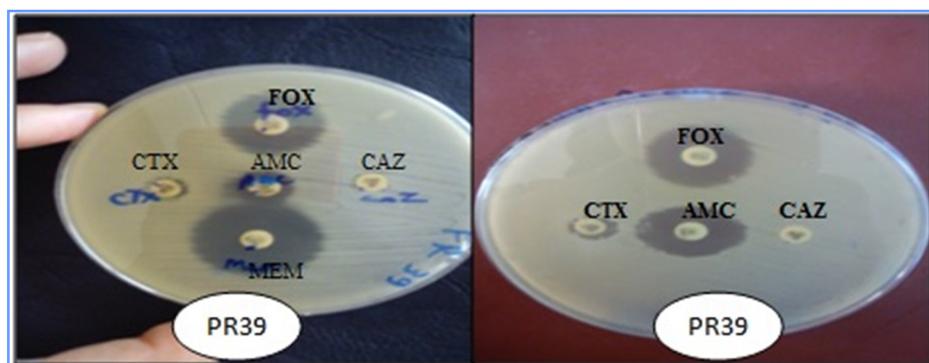


Figure 07 : DD-test pour la souche *K. pneumoniae* PR39 avec cloxacilline (à droite) et sans cloxacilline (à gauche)

III.1.2 Recherche de production de carbapénèmase

❖ Test CIM

Le test a été effectué chez 20 souches. 3 souches présentaient l'absence de la zone d'inhibition autour le disque de méropénème (MEM). Le diamètre de méropénème était intermédiaire (15-22 mm) chez 3 autres souches. Le tableau suivant résume les résultats du test CIM.

Tableau IX: Résultats du test CIM.

Code	Diamètre (mm)	Interprétation
PC2	23	S
PR11	23	S
PR14	06	R
PR15	23	S
PR21	06	R
PR23	21	S
PR24	21	S
PR25	21	S
PR26	23	S
PR29	23	S
PR31	23	S
PR32	23	S
PR34	19	I
PR35	23	S

PR36	23	S
PR39	11	R
PR40	19	I
PR41	20	S
PR43	19	I
PR44	20	S
<i>E. coli</i> ATCC 25 922 T(-)	23	S
NDM (T+)	06	R

La figure suivante donne un exemple de test CIM positif chez les souches *K. pneumoniae* PR14 et *K. pneumoniae* PR21 isolées chez des fourmis au niveau de la résidence universitaire Pépinière de Bejaia.

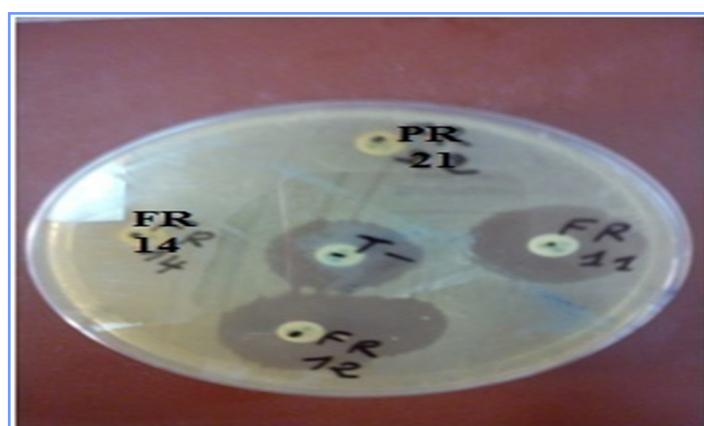


Figure 08: Test de CIM positif pour deux souches *K. pneumoniae* PR14 et *K. pneumoniae* PR21

❖ Test de Hodge

Le test a été effectué chez 3/20 souches isolées chez les fourmis : FR34, FR40 et FR43 ayant une zone d'inhibition diminuée autour le disque de méropénème. Aucune image de trèfle n'a été observée.

❖ Sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

Toutes les souches testées ont été résistantes à l'imipénème, l'ertapénème et au témocilline. Pour le méropénème, les résultats varient entre résistant et intermédiaire. Deux souches seulement ont été testées vis-à-vis de la colistine présentaient une sensibilité à celle-ci. Les résultats de l'antibiogramme sont montrés dans le tableau suivant.

Tableau X: Résultats de l'antibiogramme

Code	Espèces	Diamètre (mm)						
		IMP	MEM	ERT	TEM	CST	Test CIM	Test Hodge
PR14	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	13/R	13/R	8/R	18/S	+	NT
PR21	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	14/R	16/R	11/R	19/S	+	NT
PR34	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	19/I	11/R	7/R	NT	-	-
PR39	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	17/I	14/R	7/R	NT	+	NT
PR40	<i>P. mirabilis</i>	6/R	11/R	11/R	9/R	NT	-	-
PR43	<i>K. pneumoniae</i>	6/R	19/I	10/R	6/R	NT	-	-

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les insectes 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 bioindicateurs environnementaux importants et des vecteurs de résistance aux antibiotiques chez les bactéries (**Mahmudur et al., 2015**). Ils reflètent la situation de la résistance aux antibiotiques d'une manière plus large que beaucoup d'autres animaux (**Badrul, 2013**). Le premier rapport sur le potentiel d'acquisition de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli* chez les mouches provenant d'animaux vivants (porcins et bovins) a été publié par **Marshall et al** en 1990.

Le but de notre étude était de cribler des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamases et d'entérocoques résistantes à la vancomycine chez les insectes (Mouches : *Calliphora sp*, fourmis : *Pheidole Pallidula* et moustiques : *Psychodidea sp*) au niveau de différents environnements (hospitalier et communautaire) dans deux wilayas : Bejaia et Mila. La taille de notre échantillon est relativement petite, 115 insectes ont été collectés, 45 proviennent des fourmis (*Pheidole Pallidula*) de résidence universitaire « Pépinière », 30 mouches (*Calliphora sp*) proviennent de 02 poulaillers (Adkar et Tazmalt) de Bejaia et 40 moustiques (*Psychodidea sp*) proviennent d'EPH Mila.

Nous avons sélectionné 21 souches d'entérobactéries résistantes aux β -lactamines dont 16 productrices de BLSE, 02 AmpC et 03 EPC. 02 souches d'entérocoques sont résistantes à la vancomycine.

Parmi les souches d'entérobactéries productrices de BLSE, AmpC et carbapénèmases, 21 souches ont été identifiées comme *K. pneumoniae* (14) suivie d'*E. coli* (06) et une souche de *Serratia marcescens*. Durant cette étude 16 souches d'entérobactéries sont probablement productrices de BLSE : 02 souches étaient isolées chez les mouches (*Calliphora sp*), 06 souches chez les moustiques (*Psychoda sp*) et 08 souches chez les fourmis (*Pheidol pallidula*).

En Algérie, **Loucif et al., 2016** ont rapporté la détection de CTX-M-15 chez des entérobactéries isolées des cafards au niveau du CHU de Batna. Ce type de BLSE est le plus isolées en Algérie (**Loucif et al., 2016**).

La présence fréquente d'*E. coli* productrice de BLSE/AmpC a été rapportée en Espagne chez des mouches domestiques (*Musca domestica*) isolées à partir des Poulaillers

(Solà *et al.*, 2015) et en Allemagne chez des insectes collectés à partir des régions urbains et rurales (Schaumburg *et al.*, 2016). L'étude rapportée par Doosti *et al.* en 2015, effectuée sur 250 échantillons de cafards prélevés dans divers hôpitaux iraniens, a montré la production de BLSE de type TEM et SHV chez 47 souches de *K. pneumoniae*.

Nous résultats ont rapporté 03 souches probablement productrices des carbapénémases. L'étude de Silva *et al.*, 2010 (Portugal) et celles de Perovis *et al.*, 2010-2012 (Afrique du Sud) ont montré l'absence de souches résistantes aux carbapénèmes chez les insecte. Cependant, Ranjbara *et al.*., 2015 ont montré dans leur étude l'isolement des souches de *K. pneumoniae* productrices des carbapénémases.

En Algérie, l'étude de Loucif *et al.* réalisée sur 12 cafards (*B. germanica*) a montré la présence de carbapénémase de type OXA-48 chez *E. cloacae*. Ce type de carbapénémase a été rapporté en milieu clinique, environnement aquatique et animaux de compagnie en Algérie (Agabou *et al.*, 2014 ; Aggoune *et al.*, 2014, Yousfi *et al.*, 2016 ; Tafouk *et al.*, 2017).

Les *Enterococcus* ont été signalés comme des réservoirs pour les gènes de résistance aux antibiotiques (Devriese *et al.*, 1992), ils font partie de la flore commensale des humains, des animaux et des insectes, mais sont également des agents pathogènes opportunistes importants (Camargo *et al.*, 2008) qui possèdent souvent plusieurs facteurs de virulence et une résistance aux antibiotiques multiples, y compris la vancomycine (Cetinkaya *et al.*, 2000).

La résistance acquise à la vancomycine est due à l'expression par la bactérie d'un opéron de résistance (opéron *Van*) qui code pour 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 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. Ahmad *et al.*, 2011, ont comparé les entérocoques des mouches domestiques (restaurants), des cafards allemands et des fèces de porcs provenant de deux élevages porcins commerciaux au Kansas et en Caroline du Nord. La majorité (97%) des mouches étaient positives pour les entérocoques dont *Enterococcus*

faecalis était l'espèce la plus abondante (Macovei et Zurek, 2006). Les entérocoques résistants aux antibiotiques ont également été isolés à partir des moustiques (*Coléoptères*) retrouvés dans des silos de stockage de céréales d'aliment de bétail (Channaiah et al., 2010). Tarinee et al en 2014, ont étudié la résistance aux antibiotiques d'*Enterococcus sp* isolés de *Musca domestica* et *Chrysomya megacephala* à Ubon Ratchathani, les isolats présentaient une sensibilité à la vancomycine. Aussi, Ageel et al., 2011 ont recherché les ERV chez les cafards et aucune souche résistante à la vancomycine n'a été retrouvée.

A notre connaissance, en Algérie aucune étude sur les ERV ont été réalisés chez les souches isolées des insectes, ils y a que des d'études sur les souches cliniques. Cette étude a montré l'isolement de 2 souches d'entérocoques résistantes à la vancomycine isolés chez les fourmis (*Pheidole pallidula*).

En conclusion, il semblerait que les bactéries multi-résistantes soient largement distribuées dans différents écosystèmes. Bien que les insectes ne soient pas en contact naturel avec des antibiotiques, ces insectes peuvent être colonisés par des bactéries résistantes et peuvent être considérées comme un réservoir de souches d'entérobactéries multi-résistantes productrices de BLSE, d'EPC et d'*Enterococcus* résistants à la vancomycine. Ainsi, ces insectes peuvent jouer un rôle d'épandeurs dans la diffusion généralisée de gènes de résistance aux antibiotiques. Celle-ci est devenue une menace majeure pour la santé humaine et animale partout dans le monde. Par conséquent, il est important d'analyser l'épidémiologie et les mécanismes d'émergence et de la propagation de la résistance aux antibiotiques en raison de l'importance croissante des maladies zoonotiques. Egalement d'autres études devraient être effectuées pour mieux comprendre le rôle de ces insectes dans la propagation de la résistance en milieu communautaire et aussi hospitalier

En perspective, les résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et méritent d'être approfondis et complétés par :

- L'étude d'un grand nombre d'espèces endémiques en Algérie et d'autres régions afin d'avoir une situation plus précise sur la résistance aux antibiotiques chez les insectes.
- L'étude d'un plus grand nombre de souches.
- Caractérisation moléculaire des gènes impliqués dans la résistance (PCR et séquençage).
- L'étude de certains facteurs de risque comme l'impact de l'environnement (hospitalier et communautaire) dans l'acquisition de souches résistantes.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Aarestrup FM, Agero Y, Gerner-Smidt P, Madsen M, Jensen LB. (2000).** Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **37**: 127–137.
 2. **Ahmad A, Ghosh A, Schal C, Zurek L. (2011).** Insects in confined swine operations carry a large antibiotic resistant and potentially virulent enterococcal community. *BMC Microbiol.* 11:23. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-11-23>.
 3. **Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, Z., et al. (2014).** First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* **33**:1641–1646.
 4. **Aqeel Ahmad1., Anuradha Ghosh., Coby Schal., Ludek Zurek .(2011).** Insects in confined swine operations carry a large antibiotic resistant and potentially virulent enterococcal community.
 5. **Anastay M, Lagier E, Blanc V, Chardon H. (2013).** Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les Enterobactéries dans un hôpital du sud de la France, 1999–2007. *Pathologie Biologie.* **61**, 38–43.
 6. **Baba Ahmed-Kazi Tani Z, Arlet G. (2014).** News of antibiotic resistance among Gram-negative bacilli in Algeria. *Pathol Biol.* **62**:169-78.
 7. **Bachiri, T., Bakour, S., Ladjouzi, R., Thongpan, et al . (High rates of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria.**
 8. **Bakour, S., Garcia, V., Loucif, L., Brunel, J.M., Gharout-Sait, A., Touati, A., et al. (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.
 9. **Bonnet R. (2004).** Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; **48**:1-14.
 10. **Bartos, M., Falkinham, J D., Parlik, I. (2004),** Mycobacterial catalases, peroxidases, and superoxide dismutases and their effects on virulence and ionized-susceptibility in mycobacteria, 161-170.
-

11. **Belmahdi M, Bakour S, Al Bayssari C, Touati A, Rolain JM. (2016).** Molecular characterisation of extended-spectrum β -lactamase- and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. DOI: **10.2016/j.jqra.2016.04.006.**
 12. **Boulangier, A., Naas, T., Fortineau, N., et al. (2012).** NDM-1-Producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*. vol.56no.4:2214-2215.
 13. **Bush K, Jacoby GA. (2010).** Updated functional classification of beta lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; **54**:969-76.
 14. **Byappanahalli, M-N., Nevers, M-B., Korajkic, A., et al. (2012).** *Enterococci* in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 76, no. 4, 685–706.
 15. **Cattoir, V., Leclercq, R. (2010).** *Enterococci* resistant to glycopeptides. *Med Sci (Paris)* 26, 936-942.
 16. **Canton R., Coque T, and Baquero F. (2003).** Multi-resistant Gram-negative bacilli: from epidemics to endemics. **16**: 315.
 17. **Carrër A., Poirel L., Yilmaz M et al. (2010).** Spread of OXA-48-encoding plasmid in Turkey and beyond. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 1369-73.
 18. **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.
 19. **Clewell DB, Dunny GM (2002)** Conjugation and genetic exchange in *Enterococci*, 265–300. In: Gilmore MS (ed) *The Enterococci: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistance*. ASM, Washington D.C., USA.
 20. **Channaiah LH, Subramanyam B., McKinney LJ., Zurek L. (2010).** Stored-product insects carry antibiotic-resistant and potentially virulent entero-cocci. *FEMS Microbiol. Ecol.* **74**:464 – 471.
 21. **Cetinkaya, Y., Falk, P., Mayhall, C.G. (2000).** Vancomycin-resistant enterococci. *Clin Microbiol. Rev*, 13, 686-707 5. 5(2008).
 22. **Cuzon G., Ouanich J., Gondret R, Naas T., Nordmann P. (2011).** Outbreak of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; **55**: 2420-3.
-

23. **Courvalin, P.** (2006). Vancomycin-resistance in Gram positive cocci. *Clin Infect* 42(1), S25–34.
 24. **Denis, F., Ploy, M.C., Martin, C., et al.** (2007). Bactériologie médicale. Ellipses. 2ème Edition. 573p.
 25. **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.
 26. **El Salabi A., Walsh T.R., Chouchani C.** (2013). Extended spectrum β -lactamases, carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol.*; **39**: 113-122.
 27. **Facklam, R.R.** (1972). Recognition of group D *streptococcal* species of human origin by biochemical and physiological tests. *Applied Microbiol*, **23**-1131-9.
 28. **Fischer, J., Rodriguez, I., Schmogger, S., et al.** (2013). *Salmonella enteric sub sp. enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from live stock farms. *J Antimicrob Chemother*; **68**: 478–80.
 29. **Garnier F., Denis F.** (2011). Cocci à Gram positif IN. Bactériologie médicale. Edition Masson, Paris p 6.
 30. **Georgopapadakou N.H.** (1993). Penicillin-binding proteins and bacterial resistance β -lactams. *Antimicrob. Agents Chemother.*; **37**: 2045-2053.
 31. **Gharout-Sait, A., Touati, A., Benallaoua, S., et al.** (2012). CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* .**6**: 5306-5313.
 32. **Gilmore, M.S.** (2002) .The *Enterococci*: pathogenesis, molecular biology, and antibiotic resistanc. Washington, DC, UDA: ASM Press.
 33. **Girlich D, Poirel L et Nordman P.** (2011). Value of the Modified Test for Detection of Emerging Carba penemases in Etérobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology* .**50**:477-479.
 34. **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.
 35. **Gore JC., Zurek L, Santangelo RG, Stringham SM, Watson DM, Schal C.** (2004). Water solutions of boric acid and sugar for management of German cockroach populations in livestock production systems. *J. Econ. Entomol.* **97**:715–720.
-

36. **Graczyk TK., Knight R., Gilman RH., Cranfield MR.** (2001). The role of non-biting flies in the epidemiology of human infectious diseases. *Microbes Infect.* **3**:231–235.
 37. **Guerra, B.** (2013). An emerging problem for public health: carbapenemase producing microorganisms are also present in food producing animals, their environment and wild birds. In: Abstracts of the 5th Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and Environment, ARAE, Ghent, Belgium. p. 8.
 38. **Hasan, B., Islam, K., Ahsan, M., et al.** (2014). Fecal carriage of multi-drug resistant and Extended spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in household pigeons, Bangladesh. *Vet. Microbiol.* **168**:221–224.
 39. **Hegstad, K., Mikalsen, T., Coque, T.M., et al.** (2010). Mobile429 genetic elements and their contribution to the emergence of antimicrobial resistant 430 *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *Clin Microbiol Infect* **16**: 541–554.
 40. **Hendrickx, A.P., Willems, R.J., Bonten, M.J., et al.** (2009). LPxTG surface proteins of *Enterococci*. *Trends Microbiol.* **17**, 423–430.doi: **10.1016/j.tim.2009.06.004**.
 41. **Hidron A.I., Edwards J.R., Patel J., Horan T.C., Sievert D.M., Pollock D.A., et al. Participating National Healthcare Safety Network Facilities.** (2008). NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*; **29**: 996-1011. [Erratum, *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; **30**: 107.]
 42. **Jacoby G-A.** (2009). AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* **22**, 161-82.
 43. **Jarlier, V., Nicolas, M.H., Fournier, G., et al.** (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.
 44. **Laurent C., Rodriguez-Villalobos H., Rost F., Strale H., Vincent J.L., Deplano A et al.** (2008). Intensive care unit outbreak of extended-spectrum betalactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* controlled by cohorting patients and reinforcing infection control measures. *Infect Control Hosp Epidemiol.*; **29**: 517-524.
 45. **Laurentiaux D.** (1758). *Insecta* Linné. Paris.
-

46. **Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, et al.** (2010). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *Journal of Microbiological Methods*. 83, 149-152.
 47. **Looft T., Johnson TA., Allen HK., Bayles DO., Alt DP., Stedtfeld RD.** (2012). In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **109**:1691–1696.
 48. **Loucif L., Gacemi-Kirane D., Cherak Z., Chamlal N., Grainat N., Rolain J-M.** (2016). First report of German cockroaches (*Blattella germanica*) as reservoirs of CTX-M-15 extended-spectrum- β -lactamase and OXA-48 carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* in Batna University Hospital, Algeria Antimicroba gent Chemother .60:63776380.doi:10.1128/AAC.00871-16.
 49. **M, Migura-Garcia L.** (2015). Houseflies (*Musca domestica*) as vectors for extended-spectru-lactamase-producing *Escherichia coli* on Spanish broiler farms. *Appl Environ Microbiol* **81**:3604 –3611. doi:10.1128/AEM.04252-14.
 50. **Martinez J. L., Baquero. F., et Alvarez-Ortega.C.** (2009). Ecology and evolution of antibiotic resistance. *Environ Microbiol Rep.* 1,469-76.
 51. **Mahmudur., Mufti., et Badrul.** (2015). Antimicrobial resistant and ESBL-producing *Escherichia coli* in different ecological niches in Bangladesh. *Infection Ecology and Epidemiology.* **5**: 26712.
 52. **Macovei L, Zurek L.** (2006). Ecology of antibiotic resistance genes: characterization of enterococci from houseflies collected in food set-tings. *Appl . Environ. Microbiol.***72**:4028 – 4035.
 53. **Marshall BM, Petrowski D, Levy SB.** (1990). Inter and intraspecies spread of *E. coli* in a farm environment in the absence of antibiotic usage. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **87**:6609–6613.
 54. **Mansour Nazaris, Tahereh Mehrabi, Seyed Mostafa Hosseini, Mouhammad Yousef Alikhani.** (2017). Bacterial Contamination of Adoult House flies (*Musca Domestica*) and Sensitivity of these Bacteria to Various Antibiotics, Captured from Hamadan City,Iran. DOI:10.7860/JCDR/2017/23939.9720.
 55. **Min-Chan Kim, Min-Hyeok Cha, Jae-Gee Ryu, and Gun-Jo Woo.** (2017). Characterization of Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* Isolated from Fresh Produces and Human Fecal Samples. DOI: 10.1089/fpd. 2016.2188.
-

56. **Moscoso, M., Domenech, M., and Garcia, E.** (2011). Vancomycin tolerance in Gram-positive cocci. *Environ Microbiol Rep* **3**: 640-650.
 57. **Nicolas-Chanoine M.H.** (2012). Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi : Ou sont les dangers ? *Réanimation*. **21**, 260-267.
 58. **Nordmann P., Naas T., and Poirel L.** (2011). Global Spread of Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae*. *EID Journal*; **17**: 1781-1789.
 59. **Nordmann P, Carrer A.** (2010). Carbapenemases in Enterobacteriaceae. *Arch Pediatr* 2010; **17**: S154-62.
 60. **Palmer, K.L., Godfrey, P., Griggs, A et al.** (2012). Comparative genomics of enterococci: variation in *Enterococcus faecalis*, clade structure in *E. faecium*, and defining characteristics of *E. gallinarum* and *E. casseliflavus*. *mBio* 3: e318. doi:10.1128/mBio.00318-11.
 61. **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.
 62. **Parte, A.C.** (2014). LPSN—list of prokaryotic names with standing in nomenclature. *Nucleic Acids Res.* 42, D613–D616. Doi: **10.1093/nar/gkt1111**.
 63. **Paterson DL, Bonomo RA.** (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.*2005;**18**: 657-86.
 64. **Philippon A et Arlet G.** (2006). (Beta-lactamases of Gram negative bacteria : neverending clockwork!). *Annales de biologie Clinique (paris)*. **64**:37-51.
 65. **Philippon A.** (2013). Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). *Extended-spectrum beta-lactamases.IBS.* **28**, 287-296.
 66. **Piednoir E., Thibon P., Borderan G.C., Godde F., Borgey F., Le Coutour X., et al.** (2011). Long-term clinical and economic benefits associated with the management of nosocomial outbreak resulting from extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Crit Care Med*; **39**: 2672-2677.
 67. **Pitout, J-D.** (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **10**, 1165-76.
 68. **Queenan AM, Bush K.** (2007). Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* **20**: 440-58.
 69. **Perovis O., Singh-Moodley A., Dusé A, Bamford CElliott G., Swe-HanKS et al.** (2010-2012). *SAfr MedJ*2014; **104**:563-8.
-

70. **Rai, Manchanda V., Singh NP et Kaur IR**, (2011). Zinc-dependent carbapenemase in clinical isolates of family Enterobacteriaceae. Indian Journal of Medical Microbiology. **29** :275-279.
 71. **Ranjbar, R., Izadib, M., Hafshejanic, T T., Khamesipour, F.** (2015). Molecular detection and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* from house flies (*Musca domestica*) in kitchens, farms, hospitals and slaughter houses Reza. doi.org/10.1016/j.jiph.2015.12.012
 72. **Ruppé É., Woerther PL., Barbier F.** (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram negative bacilli. Ann Intensive Care. 2015; **5**:61.
 73. **Ruppé E.** (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. J Anti Infect. 2010; **12**: 3-16.
 74. **Santos, T., Silva, N., Igrejas, G., et al.** (2013). Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus spp.* and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. Anaerobe. 24, 25-31.
 75. **Soussy, C-J.** (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. P: **21-46**.
 76. **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.
 77. **Schleifer et Kliper-Balz R.** (1984) .Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the Genus *Entérocooccus* nom As *Entérocooccus faecalis* comb.nov.and *Entérocooccus faecium* comb.nov. International Union of Microbiological Societes. **43**, 31-34.
 78. **Spellberg B., Blaser M., Guidos RJ., Boucher HW., Bradley JS., Eisenstein BI., et al.** (2011). Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. Clin. Infect. Dis. **52**:S397–S428.
 79. **Sirot D, Sirot J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille-Michaud A., et al.** (1987). Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. J Antimicrob Chemother. Sep. **3**, 323-34.
 80. **Stolle I., Prenger-Berninghoff E., Stamm I, Scheufen S., Hassdenteufel E., Guenther S et al.** (2013). Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing
-

- Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. J Antimicrobi Chemother .**68**, 2802–2808.
81. **Sousa M., Gonçalves A., Silva N., Serra R., Alcaide E., Zorrilla I et al.** (2014). Acquired antibiotic resistance among wild animals: the case of Iberian Lynx (*Lynx pardinus*). vet Q. **34**,105-12.
82. **Sood, S., Malhotra, M., Das, B-K., et al** (2008). *Enterococcal* infections & antimicrobial resistance. Indian J Med Res **128** : 111-121.
83. **Solà-Ginés M., González-López JJ., Cameron-Veas K., Piedra-Carrasco N., Cerdà-Cuéllar M., Migura-Garcia L.** (2015). Houseflies (*Musca domestica*) as vectors for extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* on Spanish broiler farms. Appl Environ Microbiol 81:3604 –3611. doi:10.1128/AEM.04252-14.
84. **Tafoukt, R., Touati, A., Leangapichart, T., et al.** (2017) ,Characterization of OXA-48-like-producing *Enterobacteriaceae* isolated from river water in Algeria.
85. **Terzaghi, B.E., Sandine, W.E.** (1975). Improved medium for lactis *streptococcus* and bacteriophage. Applied microbiology. 29,807-813.
86. **Touati, A., Zenati, K., Brasme, L., et al.** (2010). Extended-spectrum beta-lactamase characterisation and heavy metal resistance of *Enterobacteriaceae* strains isolated from hospital environmental surfaces. J. Hosp. Infect. **75**: 78-79.
87. **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.
88. **Van Tyne, D., and Gilmore, M.S.** (2014). Friend turned foe: evolution of *Enterococcal* virulence and antibiotic resistance. *Annu. Rev. Microbiol.* 68, 337–356. Doi: **10.1146/** annurev-micro-091213-113003.
89. **Van Tyne D., Gilmore MS.** (2017). Raising the alarmone: within-host evolution of antibiotic-tolerant *Enterococcus faecium*. mBio **8**:e00066-17.
90. **Vodovar D, et al.** (2012). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi: épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. Rev Med Interne.
91. **Wang, Y., Wu, C., Zhang, Q., et al.** (2012). Identification of New Delhi metallo betalactamase 1 in *Acinetobacter lwoffii* of food animal origin. PloS One 7, e37152.
-

92. **Woodford N., Turton J.F., Livermore D.M.** (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev.*; **35**: 736-755.
 93. **Yanat, B., Vinuesa, T., Miguel, V., et al.** (2015). Determinants of quinolone resistance in *Escherichia coli* causing community-acquired urinary tract Infection in Bejaia, Algeria. *Asian Pacific journal of Tropical Medicine.* 462-467.
 94. **Yousfi, M., Touati, A., Mairi, A., et al.** (2016). Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria. *MICROBIAL DRUG RESISTANCE* Volume 00, Number 00.
 95. **Zhu YG., Johnson TA., Su JQ., Qiao M., Guo GX., Stedtfeld RD., et al.** (2013). Diverse and abundant antibiotic resistance genes in Chinese swine farms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**:3435–3440.
 96. **Zhang, W.J., Lu, Z., Schwarz, S., et al.** (2013). Complete sequence of the bla_{NDM-1}-carrying plasmid p_{NDM-AB} from *Acinetobacter baumannii* of food animal origin. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**: 1681–1682.
 97. **Zurek L et Gorham JR.** (2008). Insects as vectors of food borne pathogens, p 1–16. *In* Voeller JG (ed), *Wiley handbook of science and technology for homeland security*. Wiley, Hoboken, NJ.
-

ANNEXES

Tableau I : Composition des milieux de culture (g/l d'eau distillée)

Bouillon nitraté	g/l
Infusion cerveau-cœur	25
Nitrate de potassium	10
Ph	7,2+0,2

Bouillon nutritif	g/l
Peptone	10
Chlorure de sodium	5
Extrait de viande	5
Ph	7,2

Bouillon de Rothe	g/l
Peptone de caséine	20
Extrait de viande	1,5
Glucose	4
Chlorure de sodium	4
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodum	0,2
Ph	6,9

Gélose BEA	g/l
Caseinenzymic hydrolysate	17
Proteose peptone	3
Beefextrat	5
Oxgall	10
Sodium chloride	5
Agar	15
Esculine	1
ferric ammonium citrate	0,5
Soduimazide	0,15
Ph	7,1/7,2

Gélose EMB	g/l
Peptone	10
Lactose	10
Phosphate dipotassique	2
Eosine	0,4
Bleu de méthylène	0,065
Gélose	15
Ph	7,1

Gélose Muller Hinton	g/l
Hydrolysate acide de caséine	17,5
Infusion de viande	02
Amidon	1,5
Agar	17
Ph	7,4+0,2

Gélose TSI	g/l
Extrait de viande de bœuf	3
Extrait de levure	3
Peptone tryptique	20
Chlorure de Sodium	5
Citrate ferrique	0,3
Thiosulfate de sodium	0,3
Lactose	10
Glucose	1
Saccharose	10
Rouge de phénol	0,05
Agar	12
Ph	7,4

Mannitol- Mobilité	g/l
Peptone	20
Nitrate de potassium	1
Mannitol	2
Rouge de phénol	0,04
PH	8,1

Milieu de Citrate de Simmons	g/l
Ammonium dihydrogenophosphate	01
Phosphate dipotassique	01
Chlorure de sodium	05
Citrate de sodium	02
Sulfate de magnésium	0,2
Bleu de bromothymol	0,08
Agar	15
Ph	7,0+ 0,2

Milieu de Chromagar orientation	g/l
Extrait de levure et peptone	17
Chromogenic mix	01

Agar	15
Ph	07

Milieu Urée-Indole	g/l
L-tryptophane	03
Phosphate monopotassique	01
Phosphate bipotassique	01
Chlorure de sodium	05
Urée	20
Alcool à 95	10 ml
Rouge de phénol	0.025
Ph	07

Milieu Clark et lubs	g/l
Peptone tryptique de viande	05
Glucose	06
Phosphate bipotassique	05
Ph	07

Gélose Nutritive	g/l
Peptone de viande	10
Extrait de viande	03
Extrait de levure	03
Chlorure de levure	05
Agar	18
Ph	7

Gélose TSB	g/l
Peptone tryptique de caséine	17
Peptone papainique de soja	3
Chlorure de sodium	5
Phosphate bipotassique	2
Ph	7,3

Tableaux II: Les réactifs utilisés dans cette étude**Réactif de Griess (NRI et NRII) :**

NRI	(ml)
Acide sulfanilique	0,8
Acide acétique 5N	100

NRII	(ml)
Diméthylamine	0,6
Acide acétique 5N	100

Réactif de Kovacs :

Kovac	(ml)
p-diméthylaminebenzaldéhyde	10
Acide chloridrique	50
Acide amylique	150

Rouge de méthyle (RM) :

RM	
Rouge de méthyle	0,5 g
Alcool éthylique à 60°	100 ml

Réactif de Voges-Proskauer (VPI-VPII) :

VPI	
α -naphtol	6 g
Alcool à 90°	100 ml

VPII	
NaOH 4N	

Réactif de Tryptophane Désaminase (TDA) :

TDA	(ml)
Soluté de perchlorure de fer $FeCl_3$	10
Eau distillée	20

Tableau III: Interprétation de l'aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMAgar™ Orientation), (Denis *et al.*, 2007).

Espèce	Couleur de colonies
<i>Escherichia. Coli</i>	Colonies rose à pourpre
KES-C (<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter</i>)	Colonies bleu vert à bleu es avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia.</i>	Colonie pales à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses brunâtres
<i>Acintobacter baumannii</i>	Colonies muqueuses opaque
<i>Enterococcus</i>	Petites colonies bleu turquoises

Tableau IV : Galerie biochimique d'identification des souches (Les différents tests utilisés le principe, les techniques et les règles d'interprétation des tests effectués dans la galerie biochimique classique), (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 réductas - : Virage au jaune du milieu.
TSI	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries serrées, puis le culot par piqûre centrale et l'incubation est réalisée à 37°C/24h.	*Fermentation du : -Lactose. -Glucose. -saccharose. *Production : -De gaz. -d'H ₂ S.	Lactose +: virage de la pente au jaune. Saccharose+: Virage au jaune au milieu de tube. Glucose+: virage de culot au jaune. Gaz+ : apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose du fond de tube. Production d'H₂S : Noircissement du milieu.
Urée-Indole	Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne. l'incubation est effectuée à 37°C/24h.	-Uréase. -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+ : Coloration marron du milieu après l'ajout de quelques gouttes de réactif TDA.

Clark et Lubs	Ensemencement du milieu par l'ajout de quelque goutte de la suspension bactérienne, l'incubation est réalisée 37°C/24h.	Type fermentaire.	Test VP+ : virage au rouge cerise après l'ajout des réactifs VP I et VP II. Test RM+ : Coloration rouge après l'ajout de réactif RM.
Citrate de Simmons	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries longitudinales et l'incubation est réalisée à 37°C/ 24h.	Utilisation du citrate comme seule source de Carbone.	Citrate+ : virage de milieu au bleu et une culture sur la pente.

Tableau V: Identification des souches d'entérocoques isolées chez les fourmis.

Code	Souches	Isolement sur BEA	Gram	Catalase	Résistance à 60°C/30min	Croissance sur bouillon hypersalé	Réduction de tellurite de potassium
		Culture positive, colonies grises avec halo noir	Coque à Gram positif, disposé en chaînettes	Catalase négative	Trouble	Trouble	Trouble
FR 7	<i>Enterococcus sp</i>	+	+	-	+	+	-
FR 18	<i>Enterococcus sp</i>	+	+	-	+	+	-
FR 26	<i>Enterococcus sp</i>	+	+	-	+	+	-
FR 28	<i>E. faecalis</i>	+	+	-	+	+	+
FR 30	<i>Enterococcus sp</i>	+	+	-	+	+	-
FR 39	<i>E. faecalis</i>	+	+	-	+	+	+
FR 40	<i>Enterococcus sp</i>	+	+	-	+	+	-

Tableau VI : résultats des tests d'identifications des bactéries isolées.

Code	Espèce	LAC	GLU	H2S	CIT	NIT	VP	URE	IND	MAN	MOB	TDA	Aspecte sur Chromagar
PC4	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PC5	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PG12	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PR26	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PP30	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PU34	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
CA7	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
CA8	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
CT17	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PP 25	<i>E.coli</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-	Colonie rose à pourpre
PC2	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PP29	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PU35	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PR3	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PR4	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PR5	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PR6	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PR8	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu
PR14	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	Colonie vert à bleu

PR21	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
PR32	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
PR34	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
PR39A	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
PR39B	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
CT14	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
PR43	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert à bleu
PR40	<i>Proteuse mirabilis</i>	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	+	+	+	+	+	Colonie vert à bleu
PR07	<i>Serratia marcescens</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	Colonie vert avec aréole en violette

Résumé

Le but de ce travail est de rechercher la présence de bactéries (EPC, EBLSE, ERV) résistantes aux antibiotiques chez les insectes (Fourmis : *Pheidole pallidula*, Mouches : *Calliphora sp* et Moustiques : *Psychodidae sp*).

Un total de 115 prélèvements a été réalisé au niveau de différentes régions de la Wilaya de Bejaia dans des milieux communautaires et aussi au niveau de l'EPH de la Wilaya de Mila. Après isolement et identification, la sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton. Les phénotypes de résistances ont été déterminés par l'utilisation de tests phénotypiques incluant le DD-test, test CIM, test de Hodge modifié. Une caractérisation phénotypique des entérocoques et des CMI vis-à-vis de la vancomycine ont été réalisées.

Au total, 16 souches productrices de BLSE, 02 souches productrices d'AmpC plasmidique, 03 souches productrices d'EPC et 02 souches ERV ont été isolées.

Les insectes peuvent être des réservoirs de souches résistantes aux antibiotiques y compris les BLSE, les EPC et les ERV. Ce qui constituer un sérieux problème pour la santé humaine.

Mots-clés : Insectes, BLSE, EPC, ERV, Algérie.

Abstract

The aim of this work is to investigate the presence of resistant bacteria (EPC, EBLSE, ERV) in insects (Ants: *Pheidole pallidula*, Flies: *Calliphora sp* and Mosquitoes: *Psychodidae sp*).

115 samples were collected from different regions of Bejaia and also in the hospital of Mila. After isolation and identification, the susceptibility of the strains to antibiotics was determined by the Mueller Hinton agar diffusion method. Resistance phenotypes were determined by the use of phenotypic tests including DD-test, CIM test, modified Hodge test. *Enterococci* identification MICs to vancomycin were done.

A total of 16 strains producing ESBL, 02 strains producing plasmidic AmpC, 03 strains producing CPE and 02 strains ERV were isolated.

Insects can be reservoirs of antibiotic-resistant strains including ESBLs, CPEs and VREs. This constitutes a serious problem for human health.

Keywords: Insects, ESBL, CPE, VRE, Algeria.