

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

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



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Contribution à l'étude de la flore digestive
résistante aux antibiotiques chez les
chauves-souris**

Présenté par : *AGSOUS Amir*

Soutenu le : 18 Juin 2016

Devant le jury composé de :

Mme GHAROUT A.
Mr AHMIM M.
Melle YANAT B.

MCB
MCB
MCA

Présidente
Encadreur
Examinatrice

Année universitaire : 2015/2016

Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant qui m'a mené jusqu'au bout du chemin et m'a éclairé la voie du savoir. J'adresse également mes remerciements à mes professeurs et encadreurs Mr.AHMIM et Mme.GHAROUT qui m'ont beaucoup aidé pour l'achèvement de ce travail.

Je tiens à remercier aussi tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Et une pensée spéciale à mes ami(e)s Liza, Ritchy, Mira, Asma et Samy. Merci à vous

A mes parents, mes frères et ma sœur.

Sommaire

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Introduction	1
---------------------------	----------

Matériel et Méthodes

I. Souches bactériennes	7
I.1 Echantillonnage	7
I.2 Isolement des souches	7
I.3 Identification des souches	7
II. Détermination des phénotypes de résistance	7
II.1 Recherche de la production de β -lactamases à Spectre Etendu	7
II.2 Test de synergie sur gélose MH additionnée de la cloxacilline	8
II.3 Recherche de la production de carbapénémases	8
III. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices en milieu solide	10

Résultats

I. Souches bactériennes	11
II. Détermination des phénotypes de résistance	11
III. Dédution des phénotypes de résistance aux β -lactamines	15
IV. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices en milieu solide	17

Discussion et conclusion	19
Références bibliographiques	24
Annexes	I

Liste des tableaux

Tableau I : Interprétation des résultats du Carba NP test modifié	10
Tableau II : Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI.....	11
Tableau III : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose Mueller- Hinton et Mueller-Hinton additionné de cloxacilline	14
Tableau IV : Caractéristiques des souches productrices de carbapénémases	15
Tableau V : Phénotypes de résistance probables aux β -lactamines des souches d'Entérobactéries	17
Tableau VI : Résultats des CMI des souches d'entérobactéries testées	18

Liste des figures

Figure 1 : Disposition des disques (DD-test).....	8
Figure 2 : Schéma du test Hodge modifié.	9
Figure 3 : image de synergie de la souche d' <i>E.coli</i> CS61	12
Figure 4 : Antibiogramme de la souche <i>Providencia rettgeri</i> CS49 sur gélose MH et sur gélose MH+cloxacilline	13
Figure 5 : Test Hodge positif pour la souche <i>Klebsiella pneumoniae</i> CS63	14
Figure 6 : Résultats du Carba NP test modifié.....	15

Liste des Abréviations

AMC:	Amoxicilline-clavulanate
AmpC :	Céphalosporinases
BLSE :	B êta- L actamases à S pectre E tendu
C3G :	Céphalosporines de troisième génération
CA-SFM :	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ:	Céftazidime
CLOX :	Cloxacilline
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
CMY:	Active on cephamycins
CTAB:	Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
CTX:	Céfotaxime
CTX-M :	Céfotaximase-Munich
DD-test :	Double Disc synergie test
DHA:	Dhahran
EUCAST :	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FEP:	Céfépime
FOX:	Céfoxitine
I :	Intermédiaire
IMP:	Imipénème
KPC :	<i>Klebsiella Pneumoniae</i> Carbapenemase
LPS :	Lipopolysaccharide
MβL :	Métallo-bêta-lactamases
MER :	Méropénème
NDM :	New Delhi Metallo--lactamases
OXA:	Oxacillinase
PLP :	Proteine de liaison aux pénicillines
R :	Résistant
S :	Sensible
SHV :	Sulfhydryl Variable
TEM :	Temoniera
TSB :	Bouillon Trypticase Soja
TSI :	Three Sugar Iron

Introduction

À travers l'histoire, les maladies infectieuses ont été la principale cause de mortalité au niveau mondial. De grandes pandémies ainsi que de multiples épidémies locales répertoriées depuis l'Antiquité, ont entraîné l'effondrement de plusieurs civilisations (Kardos et Demain, 2013). À cette époque, il était admis que ces phénomènes étaient relatifs aux miasmes, une émanation provenant de la matière organique en décomposition dont la propagation était influencée par différents facteurs environnementaux (Koplan et *al.*, 1999).

Ce n'est qu'au 19^e siècle, qu'une série d'observations ont ciblé la présence de germes en tant qu'agent responsable de ces épidémies. La corrélation entre la présence de microorganismes et le développement de maladies infectieuses a toutefois été formellement établie en 1869 par les travaux du chimiste et physicien français Louis Pasteur (1822-1895). La théorie des germes liant directement les microorganismes aux maladies infectieuses formalisé par le médecin allemand Robert Koch (1843-1910) a ainsi entraîné une évolution importante au plan de la santé humaine (Prescott et *al.*, 2010). Jusqu'aux années 1970, une douzaine de familles d'antibiotiques a été développée et sont toujours utilisées aujourd'hui pour le traitement des maladies infectieuses. Cette période constitue l'âge d'or de la découverte de nouvelles classes d'antibiotiques (Bassetti et *al.*, 2013).

Les β -Lactamines représentent la classe d'antibiotiques la plus importante utilisée en médecine humaine, Cette large utilisation est principalement liée à leur faible toxicité, à leur pouvoir bactéricide et à la diversité des molécules (Cavallo et *al.*, 2004). Elles interfèrent avec la synthèse du peptidoglycane en agissant sur les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) (Walsh, 2003). Le mécanisme de résistance le plus en commun chez les entérobactéries est la production d'enzymes inactivatrices appelées β -lactamases. Ces enzymes sont capables d'ouvrir le cycle β -lactame en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (Bonnet, 2004). Selon Ambler, la séquence en acides aminés des β -lactamases permet leur classification en 4 groupes (A, B, C et D) (Ambler, 1980). Les enzymes des classes A, C et D sont des enzymes à sérine tandis que les enzymes appartenant à la classe B requièrent en général le zinc comme co-facteur, d'où leur nom de métallo-enzymes (Mérens et *al.*, 2011). La classification de Bush, Jacoby, Medeiros, dite fonctionnelle, plus complète et plus récente, élaborée en 1989, actualisée en 1995 et réactualisée en 2010, est basée sur le spectre de substrats préférentiels de l'enzyme et son comportement aux inhibiteurs. Cette classification regroupe ces enzymes en 3 classes. Ainsi à titre d'exemple, les β -lactamases à Spectre Étendu (BLSE) sont incluses dans le

groupe 2be et 2de, les céphalosporinases dans le groupe 1 et les métallo- β -lactamases dans le groupe 3 (Bush et Jacoby, 2010).

Les BLSE sont définies comme étant des enzymes ayant une activité hydrolytique contre les céphalosporines à large spectre (ceftazidime ou céfotaxime), les pénicillines et l'aztréonam mais pas sur les céphamycines ou les carbapénèmes, et sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases tels que l'acide clavulanique (Lee et *al.*, 2012). Les premières BLSE répertoriées étaient de types SHV et TEM. Cependant, le début des années 2000 a été marqué par l'émergence et la dissémination globale d'un nouveau type, les CTX-M, qui a modifié l'épidémiologie de la résistance à l'échelle mondiale. En quelques années, elles étaient largement répandues dans différentes populations bactériennes (Bonnet, 2004). En conséquence, au cours de la dernière décennie, l'enzyme CTX-M est devenue le type de BLSE la plus dominante dans le monde (Hasan et *al.*, 2014). En Algérie, plusieurs études ont rapporté la présence de ces enzymes aussi bien en milieu hospitalier que communautaire dans le nord de l'Algérie (Touati et *al.*, 2010, Gharout-Sait et *al.*, 2012 ; Yanat et *al.*, 2014).

Les enzymes de type AmpC sont des céphalosporinases de classe C et sont inhibées par la cloxacilline. Leur spectre d'activité inclut les pénicillines, les céphalosporines et les monobactames. Elles peuvent être chromosomiques mais également plasmidiques telles que CMY et DHA (Jacoby, 2009).

Les carbapénèmes tels que l'imipénème ou méropénème possèdent un très large spectre antibactérien notamment contre les souches d'entérobactéries productrices de BLSE. Ils sont considérés comme les antibiotiques de choix dans le traitement des infections dues à des bactéries productrices de BLSE (Nordmann et *al.*, 2011). Cependant, les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) ont rapidement émergé et diffusé dans le monde entier (Fischer et *al.*, 2013).

Les carbapénèmases, telles que la New Delhi métallo-bêta-lactamase 1 (NDM-1) appartenant à la classe B d'Ambler hydrolyse toutes les β -lactamines, y compris les carbapénèmes à l'exception de l'aztréonam. Leur large et rapide diffusion constitue une grande menace pour la santé publique et clinique (Nordmann et *al.*, 2009; Nordmann et *al.*, 2011). Les premières NDM-1 en Algérie ont été identifiées chez des souches d'*A. baumannii* (Boulanger et *al.*, 2012).

Les carbapénèmases de type KPC appartiennent à la classe A d'Ambler, elles hydrolysent toutes les β -lactamines, y compris l'aztréonam, sont faiblement inhibées par le

clavulanate *in vitro* et sont inhibées par l'acide boronique (Pitout, 2012). Les souches productrices de KPC sont très fréquentes en Amérique latine, en Chine et en Grèce (Samuelsen *al.*, 2009).

Les carbapénèmases de type OXA-48 appartiennent à la classe D d'Ambler et entraînent relativement une faible baisse de sensibilité aux β -lactamines. Ces enzymes hydrolysent les pénicillines, céphalosporines et les carbapénèmes et ne sont que faiblement actif contre les C3G et monobactames. Les carbapénèmases de type OXA-48 ont été isolées le plus souvent chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, et sont endémiques en Turquie, en Inde et en Afrique du Nord (Poirel et *al.*, 2013). En Algérie, la première carbapénémase de type OXA-48 produite par une souche d'*E. coli* a été isolée chez des patients hospitalisés dans un hôpital militaire à Constantine (Agabou et *al.*, 2014).

Les entérocoques sont des bactéries cocci Gram positif aéro-anaérobies facultatif, leur répercussion sur la santé humaine est importante en raison de leur présence naturelle dans le microbiote intestinale de l'Homme et des animaux (Sood et *al.*, 2008). Les entérocoques sont intrinsèquement résistants à de nombreux antibiotiques tels que l'oxacilline, et ils ont la capacité d'acquérir une résistance aux glycopeptides ou aux aminoglycosides. La diffusion des entérocoques résistants à la vancomycine (ERV), en particulier par le mécanisme *vanA* acquis, est d'une grande importance clinique (Werner et *al.*, 2008). Cependant, au cours de la dernière décennie, de vives inquiétudes ont surgi en ce qui concerne l'augmentation de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries commensales, y compris *Enterococcus spp* dans les populations d'animaux sauvages qui par leur potentiel de diffusion dans l'environnement peuvent être un réservoir de bactéries résistantes aux antibiotiques (Santos et *al.*, 2013). Parmi toutes les espèces décrites chez les entérocoques, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont communément retrouvés dans le tractus intestinal des humains et des animaux et aussi omniprésents dans l'environnement (Byappanahalli et *al.*, 2012). Bien qu'elles soient généralement considérées être inoffensives, certaines souches d'*E. faecalis* et *E. faecium* sont parmi les principales causes d'infections nosocomiales y compris les infections des voies urinaires, abdominales, endocardite et bactériémie (Arias et *al.*, 2009, Willems and van Schaik, 2009). Elles peuvent devenir pathogènes opportunistes par l'acquisition de gènes de virulences et de résistance aux antibiotiques issue d'autres bactéries par transfert horizontal de gènes (Manson et *al.*, 2010, Di Cesare et *al.*, 2014).

L'émergence, la multirésistance aux antibiotiques avec transfert de gènes de résistance entre espèces commensales du tube digestif ainsi que le risque de diffusion épidémique en

milieu hospitalier et communautaire font des ERV et EPC d'excellentes bactéries hautement résistantes et émergentes au niveau mondial.

Afin de contourner cette situation d'antibiorésistance, les médecins et les vétérinaires se sont tournés vers la colistine, un antibiotique de la famille des polymyxines également appelées polymyxine E et qui est considéré comme le dernier recours contre les infections causées par les bactéries multirésistantes aux différents antibiotiques.

La colistine possède une activité bactéricide contre les bactéries à Gram négatif plus précisément les entérobactéries à l'exception du genre *Proteus*, *Serratia* et *Providencia* (Falagas *et al.* 2010). Cependant, l'émergence de la résistance à la colistine n'a pas tardé, plusieurs mécanismes ont été décrits, le mécanisme chromosomique chez certains genres d'entérobactéries est associé à des systèmes à deux composants, tels que pmrAB (Gunn, 2008) et phoPQ et avec le régulateur mgrB (Cannatelli *et al.*, 2014), dans lequel la modification du lipide A influe sur la charge du lipopolysaccharide (LPS), ce qui réduit son affinité aux polymyxines. Très récemment, Liu *et al.*, 2016 ont rapporté pour la première fois, une résistance plasmidique à la colistine chez les animaux et les isolats humains d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* dûe au gène *mcr-1* en Chine.

La résistance aux antibiotiques est un problème majeur dans le monde entier. L'utilisation des antibiotiques, non seulement en médecine humaine et vétérinaire mais aussi comme supplément alimentaire pour stimuler la croissance des animaux, dans l'agriculture et la technologie alimentaire a contribué à la sélection de bactéries résistantes et à conduit à la dissémination des gènes de résistance chez les animaux et les humains (Sande-Bruinsma *et al.*, 2008). L'apparition de bactéries multirésistantes d'origine humaine et vétérinaire est probablement accompagnée par une co-contamination de l'environnement conduisant à une grande préoccupation pour la santé mondiale (Grobbel *et al.*, 2007). La proximité de l'activité humaine influe sur les profils de résistance aux antibiotiques des bactéries de l'intestin des mammifères sauvages, qui vivent dans des habitats microbiens densément peuplés. Les origines de cette résistance dans la faune est inquiétante pour la santé humaine en raison de l'augmentation importante des maladies zoonotiques, ainsi que la nécessité de prédire l'émergence de pathogènes résistants. Les animaux sauvages fournissent un mécanisme biologique favorable à la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques. Des isolats d'*Escherichia coli* et d'*Enterococcus spp* provenant d'espèces sauvages ont été signalés pour la première fois chez des oiseaux sauvages japonais (Sato *et al.*, 1978).

Avec le nouveau millénaire plusieurs études, dans les différents continents, ont décrit l'apparition de résistance aux antibiotiques chez des espèces bactériennes dans la faune sauvage, et chez d'autres agents pathogènes importants, tels que *Salmonella spp.* (Botti et al., 2013).

Les maladies infectieuses émergentes chez les animaux sauvages menacent la biodiversité et la santé publique au niveau mondial. L'Ordre des Chiroptères constitué par les seuls mammifères volants est répandu sur tous les continents sauf les régions polaires et certains archipels isolés ; il regroupe un grand nombre d'espèces. Par commodité, on distingue souvent les Microchiroptères ; les plus nombreux (plus de 800 espèces), nocturnes, généralement insectivores et doués d'écholocation et les Mégachiroptères ; crépusculaires et généralement frugivores (Rodhain, 2014). Ces mammifères volants se sont adaptés à une multiplicité d'habitats et certains d'entre eux sont capables d'hiberner ou de migrer (sur plus de 1500 km) pour survivre aux mauvaises saisons, elles sont très diverses en termes de tailles, de régimes alimentaires (insectes, fruits, pollen, sang), de formes sociales (solitaires, coloniales) (Prud'homme, 2013). Les chauves-souris peuvent accueillir une gamme d'agents pathogènes qui peuvent être potentiellement zoonotique (Streicker et al., 2010). L'alimentation des chauves-souris est variée, certaines espèces se nourrissent d'insectes, fruit, sang des mammifères et de poisson (Calisher et al., 2006). Les habitudes alimentaires peuvent influencer sur les types et la distribution des bactéries dans le tractus gastro-intestinal de la chauve-souris (Anand et Sripathi, 2004). Clairement, une exposition accrue de l'activité humaine aux chauves-souris peut accroître les possibilités de transmettre les infections directement ou à des hôtes intermédiaires tels que les animaux de compagnie et le bétail (Moya et al., 2004; Pulliam, 2008; Pulliam et Dushoff, 2011). Ainsi, en 1988 un seul rapport décrivant le profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées chez des mammifères sauvages (incluant les chauve-souris) en Indonésie a été publié (Graves et al., 1988) et depuis très peu d'études ont été rapportées sur ce sujet à travers le monde.

A l'université de Bejaïa, une équipe de chercheurs dirigée par le Professeur TOUATI A. travaillent sur la résistance aux antibiotiques. Leurs travaux de recherches sont essentiellement orientés sur la résistance aux antibiotiques des souches d'origine clinique, environnementale, alimentaire, animaux d'élevage et de compagnie. A notre connaissance aucun travail sur la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez la

chauve-souris n'a été publié en Algérie. C'est dans ce contexte que s'inscrit cette étude qui a pour objectif d'évaluer le portage fécal de bactéries résistantes aux antibiotiques isolées de chauve-souris. Pour cela nous avons adopté la démarche expérimentale suivante :

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

Matériel et Méthodes

I. Souches bactériennes

I.1. Echantillonnage

Au cours de notre étude (Février à Mai 2016), des échantillons fécaux de chauves-souris ont été collectés au niveau de la grotte d'Aokas, et acheminés au laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Béjaia pour être analysés.

I.2. Isolement

Des tubes à essai contenant les échantillons sont utilisés pour faire un enrichissement sur bouillon trypticase soja (TSB). Après incubation à 37°C/18h, les entérobactéries ont été sélectionnées sur 3 bouillons TSB contenant de la vancomycine (32 µg/ml) additionnés respectivement de céftazidime (4µg/ml), d'ertapénème (0.5 µg/ml) et de colistine (4 µg/ml). Après incubation à 37°C/24h, 100 µl de culture ont été ensemencés trois géloses Mac Conkey contenant de la vancomycine (32 µg/ml) additionnée respectivement de céftazidime (4µg/ml), d'ertapénème (0,5 µg/ml) et de colistine (4 µg/ml).

I.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). L'identification de certaines souches a été confirmée par des galeries API 20E (Bio-Mérieux, France).

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

Les milieux de cultures utilisés au cours de ce travail et la lecture de la galerie API20E et du milieu Chromagar orientation sont rapportés respectivement dans les annexes I,II et III.

II. Détermination des phénotypes de résistance

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

La détection des entérobactéries productrices de β-lactamases à Spectre Etendu a été réalisée 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 20µg /acide clavulanique 10µg) et les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (céfotaxime : CTX, céftazidime : CAZ). Les disques de CTX (30 µg), CAZ (30 µg), céfépime (FEP (30 µg) : C4G ; FOX (30 µg) :C2G) ont été placés sur la même boîte à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'AMC (Fig. 1) (Jarlier *et al.*, 1988).

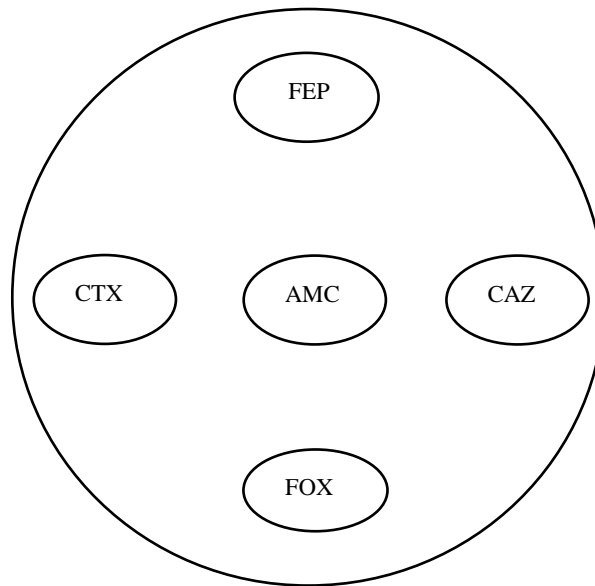


Figure 1 : Disposition des disques (DD-test)

II.2 Test de synergie sur gélose Mueller-Hinton additionnée de cloxacilline

Le test à la cloxacilline a été effectué pour identifier une BLSE associée à une céphalosporinase. La cloxacilline (250 µg/ml) ajoutée au milieu Mueller-Hinton (MH) inhibe très fortement les céphalosporinases. La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline (diamètres d'inhibition ≥ 6 mm) permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE (Drieux *et al.*, 2008).

II.3. Recherche de la production de carbapénémases

II.3.1 Test de Hodge modifié

Ce test repose sur l'utilisation d'un disque d'imipénème (10 µg) et la souche de référence sensible à tous les antibiotiques *E. coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose Mac Conkey. Les souches test suspectes de produire une carbapénémase et des souches témoins (témoin positif : *K. pneumoniae* productrice de carbapénémase (KPC-3) et témoin négatif *E. coli* ATCC 25922 non productrice de carbapénémase) ont été ensemencées en stries depuis le disque vers le bord de la gélose (Fig. 2). Après incubation à 37°/24H, la production d'une carbapénémase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee *et al.*, 2010).

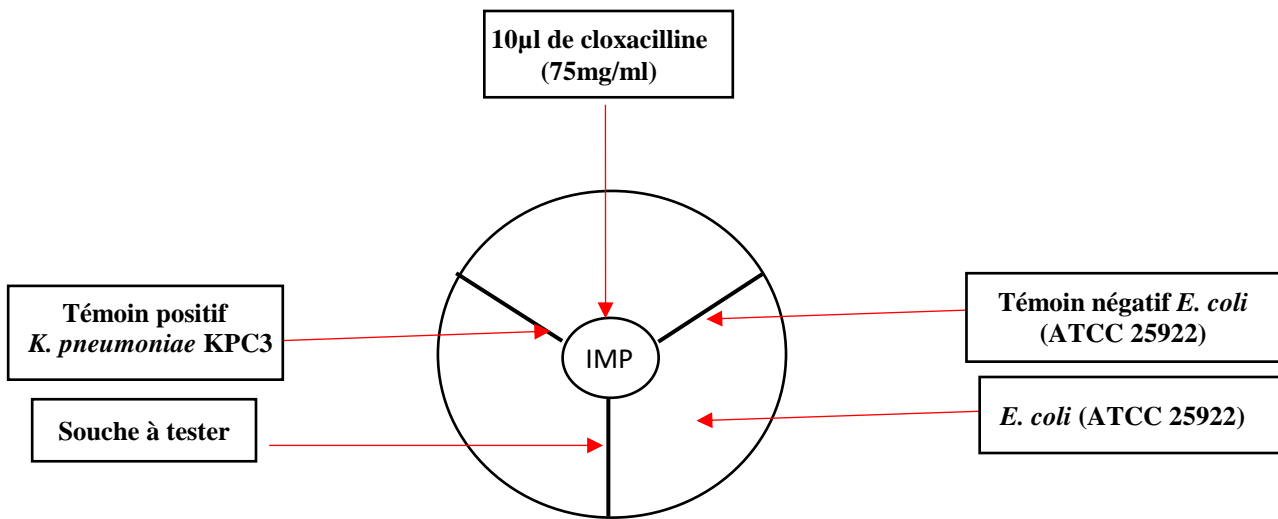


Figure 2 : Schéma du test Hodge modifié

II.3.2 Carba NP test modifié

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

Un volume de 200µl de tampon de lyse Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB 0.02%) a été dispensé dans un tube Eppendorf. Une öse calibrée de colonies bactériennes a été dissociée dans le tampon de lyse, on vortex 1 à 2 minutes. 100µl de la suspension ont été répartis dans 2 tubes Eppendorf numérotés "A" et "B". Ensuite 100µl de la solution A (annexe IV) ont été ajoutés dans le tube "A" et 100µl de la Solution A additionnée d'imipénème (6mg/m) dans le tube Eppendorf "B". On vortex et on incube à 37°C pendant un maximum de 2h. La lecture visuelle de la couleur a été réalisée dans chaque tube Eppendorf. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur orange/jaune dans le tube "B", tandis que la couleur du tube "A", reste inchangée (Tableau I).

Tableau I : Interprétation des résultats du Carba NP test modifié (Bakour et *al.*, 2015).

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

II.3.3. Test à la témocilline

La témocilline est un antibiotique appartenant à la famille des β -lactamines plus précisément aux méthoxypénames (méthylation de la ticarcilline). Ce test permet de détecter les souches d'entérobactéries produisant une carbapénémase (EPC) de type OXA-48-like. Un disque de témocilline (TEM, 30 μ g) est déposé au centre d'une gélose sélective préalablement ensemencée avec la souche à tester. La résistance à la témocilline possède une bonne valeur prédictive positive pour les EPC de types OXA-48, cependant certaines espèces sont naturellement résistantes à cet antibiotique (ex: *H. alvei*) (Huang et al., 2013). Les souches dont le diamètre d'inhibition est inférieur à 20 mm sont considérées comme productrices d'une OXA-48 (CA-SFM-EUCAST, 2016).

III. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis de la colistine a été réalisée pour les souches d'entérobactéries résistantes à la colistine isolées sur gélose Mac Conkey additionnée de colistine (4 μ g/ml). Des dépôts de 2 μ l de suspensions bactériennes ont été réalisés à la surface des boîtes de Pétri contenant des concentrations croissantes de colistine. Les boîtes ensemencées ont été incubées à 37°C/24h. La souche *E. coli* sensible ATCC 25922 a été utilisée comme témoin négatif.

Tableau II : Préparation de la gamme d'antibiotiques pour la détermination des CMI (EUCAST/ESCMID, 2000).

Solutions initiales mg/l	Solution mère ml	Volume du diluant (ml)	Concentrations	
			Concentrations obtenues (mg/l)	Concentrations finales (mg/l)
320	4	4	160	16
320	2	6	80	8
320	1	7	40	4
320	1	15	20	2

Résultats

I. Souches bactériennes

Au cours de cette étude, un total de 110 échantillons de guano de chauves-souris ont été collectés au niveau de leur niche écologique.

130 souches ont été isolées incluant 53 souches (40,77%) sur gélose Mac Conkey additionnée d'ertapénème, 62 souches (47,70%) sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime et 15 souches (11,53%) sur gélose Mac Conkey additionnée de colistine.

L'identification réalisée en utilisant une mini-galerie biochimique classique, la galerie API20E ainsi que le milieu Chromagar orientation a permis de conclure que les souches isolées appartenait à la famille des *Enterobacteriaceae*.

II. Détermination des phénotypes de résistance

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

Le DD-test effectué sur gélose Mueller-Hinton a révélé la présence d'une image de synergie chez 16 souches d'entérobactéries résistantes aux C3G, indiquant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches (Fig. 3).

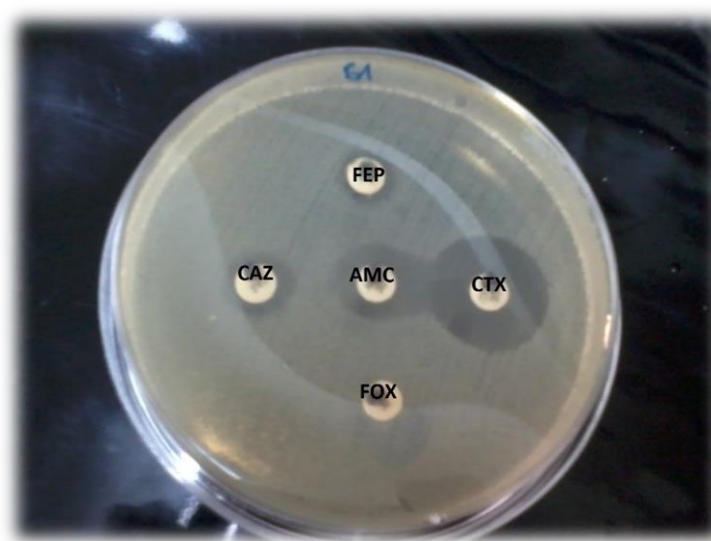


Figure 3 : image de synergie de la souche d'*E. coli* CS61.

II.2 Test de synergie sur gélose MH additionnée de la cloxacilline

La récupération d'une image de synergie a été détectée chez une souche d'*Enterobacter sakazakii*. Une récupération des diamètres des zones d'inhibition chez la souche *K. pneumoniae* indique la production d'une céphalosporinase plasmidique. Une récupération des diamètres des zones d'inhibition est obtenue pour les souches *Providencia rettgeri* et *cloacae* signifie qu'elles résistent aux C3G par l'hyperproduction de leur céphalosporinase naturelle (Tableau III) (Fig. 4).



Figure 4: Antibiogramme de la souche *Providencia rettgeri* CS49 sur gélose MH (à gauche) et gélose MH+cloxacilline (à droite).

Tableau III : Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose Mueller-Hinton et Mueller-Hinton additionné de cloxacilline

Code	Espèce	AMC			FOX			CAZ			CTX			FEP			Phénotype
		Sur MH	Sur MH+ clox	≠ (mm)	Sur MH	Sur MH+clox	≠ (mm)	Sur MH	Sur MH+clox	≠ (mm)	Sur MH	Sur MH+clox	≠ (mm)	Sur MH	Sur MH+clox	≠ (mm)	
CS49	<i>Providencia rettgeri</i>	6	18	12	6	22	16	15	22	7	6	28	22	6	29	23	Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique
CS75	<i>E. cloacae</i>	13	22	9	6	24	18	6	26	20	6	30	24	6	32	26	Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique
CS34	<i>E. sakazakii</i>	10	26	16	15	26	11	6	10	4	12	16	4	6	15	9	AmpC naturelle + BLSE
CS9	<i>K. pneumoniae</i>	13	18	5	20	23	3	6	20	14	14	28	14	6	28	22	AmpC plasmidique

II.3 Recherche de la production de carbapénèmases

II.3.1 Test de Hodge modifié

Le test Hodge a été positif chez 06 souches résistantes ou intermédiaires à l'imipénème, indiquant la production probable d'une carbapénèmase (Fig.5)

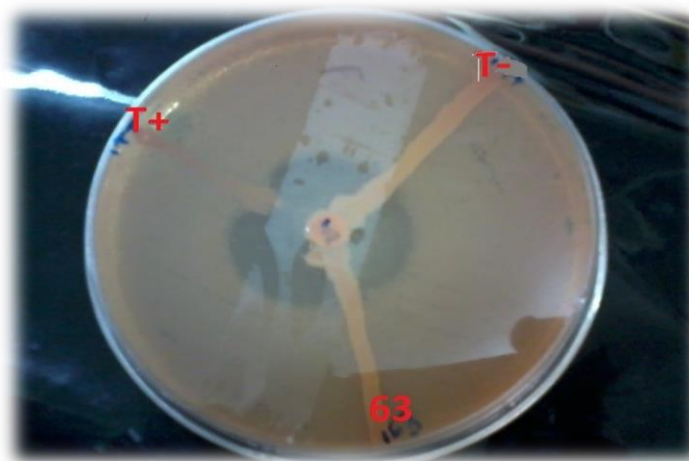


Figure 5 : Test Hodge positif pour la souche *K. pneumoniae* CS63

II.3.2 Carba NP test modifié

Ce test s'est avéré positif pour 06 souches d'Entérobactéries. L'observation d'un virage de couleur du rouge vers un jaune orangé indique la production probable d'une carbapénèmase (Fig. 6).

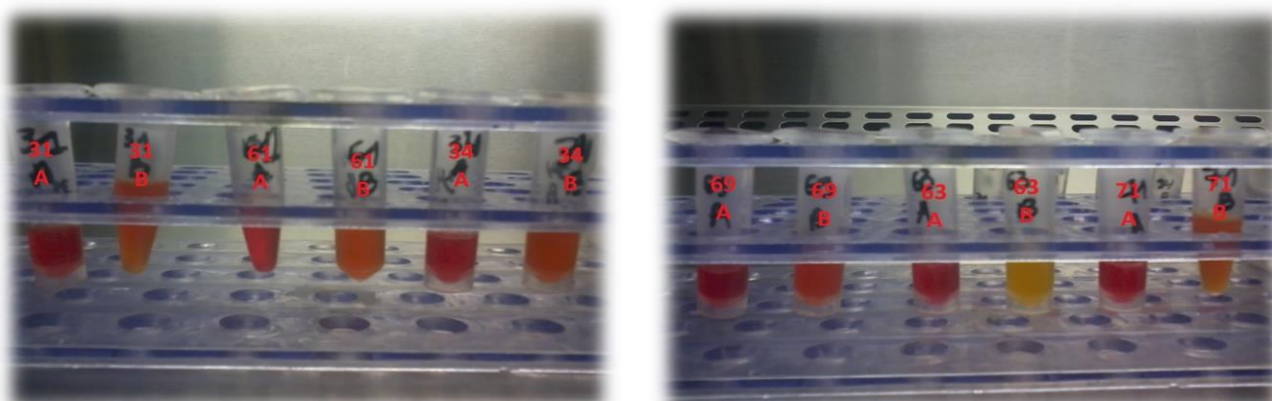


Figure 6 : Résultats du Carba NP test modifié

II.3.3 Test à la témocilline

Toutes les souches positives au Hodge test et Carba NP test modifié ont été testées vis-à-vis de la témocilline. L'interprétation a été établie en suivant les recommandations actualisées du CASFM-EUCAST. Un diamètre d'inhibition inférieur à 20mm a été observé chez 04 souches suspectant ainsi la production d'une carbapénémase de type OXA-48-like.

Le tableau IV résume les caractéristiques des souches productrices de carbapénèmases.

Tableau IV : Caractéristiques des souches productrices de carbapénèmases.

Code	Espèce	IMP	MER	témocilline	Hodge test	Carba NP test
CS 61	<i>E. coli</i>	16(I)	36(S)	14(R)	+	+
CS 71	<i>E. coli</i>	17(I)	20(I)	6(R)	+	+
CS 34	<i>K. pneumoniae</i>	15(R)	40(S)	10(R)	+	+
CS 63	<i>K. pneumoniae</i>	10(R)	13(R)	10(R)	+	+
CS 69	<i>K. pneumoniae</i>	16(I)	19(I)	25(S)	+	+
CS 31	<i>Serratia odorifera</i>	15(R)	40(S)	21(S)	+	+

III. Déduction des phénotypes de résistance aux β -lactamines

Le tableau V résume les phénotypes de résistance aux β -lactamines des souches étudiées. Elle repose sur l'analyse du phénotype de résistance, des tests de détection des BLSE, céphalosporinases et des carbapénèmases et le comportement de ces enzymes qui diffèrent vis-à-vis des antibiotiques. La mise en évidence des BLSE est effectuée par le test de synergie (DD-test), les AmpC par le test à la cloxacilline et les carbapénèmases par le test de Hodge, le Carba NP-test modifié et le test à la témocilline.

Les différents phénotypes de résistance sont décrits dans le tableau V.

Tableau V : phénotypes de résistance probables aux β -lactamines des souches d'entérobactéries.

Code	Espèce	AMC	FOX	CAZ	CTX	FEP	DD-test	CLX	IMP	MER	TEM	Phénotype probable
CS49	<i>Providencia rettgeri</i>	22(S)	22(S)	22(S)	28(S)	29(S)	-	+	NT	NT	NT	AmpC naturelle
CS34	<i>E. sakazaki</i>	26(S)	26(S)	10(R)	16(R)	15(R)	-	+	NT	NT	NT	AmpC naturelle+BLSE
CS75	<i>E. cloacae</i>	22(S)	24(S)	26(S)	30(S)	32(S)	-	+	NT	NT	NT	AmpC naturelle
CS9	<i>K.pneumoniae</i>	18(R)	23(S)	20(I)	28(S)	28(S)	-	+	NT	NT	NT	AmpC plasmidique
CS8	<i>E. coli</i>	12(R)	6(R)	6(R)	21(S)	30(S)	-	+	NT	NT	NT	BLSE
CS10	<i>E. coli</i>	14(R)	6(R)	6(R)	20(S)	28(S)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS12	<i>E. coli</i>	16(R)	6(R)	6(R)	28(S)	36(S)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS13	<i>E. coli</i>	14(R)	6(R)	6(R)	25(S)	30(S)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS14	<i>E. coli</i>	12(R)	6(R)	6(R)	20(S)	29(S)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS23	<i>E. coli</i>	15(R)	6(R)	6(R)	25(S)	31(S)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS61	<i>E. coli</i>	16(R)	6(R)	12(R)	23(S)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS68	<i>E. coli</i>	20(S)	6(R)	14(R)	21(S)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS69	<i>E. coli</i>	15(R)	20(S)	14(R)	6(R)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS77	<i>E. coli</i>	18(R)	6(R)	14(R)	20(S)	15(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS88	<i>E. coli</i>	15(R)	6(R)	6(R)	26(S)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS90	<i>E. coli</i>	15(R)	6(R)	6(R)	23(S)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS31	<i>K.pneumoniae</i>	14(R)	6(R)	6(R)	17(I)	25(S)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS59	<i>K.pneumoniae</i>	16(R)	6(R)	15(R)	20(S)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS73	<i>K.pneumoniae</i>	15(R)	6(R)	8(R)	18(I)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS74	<i>K.pneumoniae</i>	15(R)	6(R)	8(R)	19(I)	6(R)	+	-	NT	NT	NT	BLSE
CS 69	<i>K. pneumoniae</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	16(I)	19(I)	25(S)	carbapénèmase
CS 31	<i>Serratia odorifera</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	15(R)	40(S)	21(S)	carbapénèmase
CS 61	<i>E. coli</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	16(I)	36(S)	14(R)	OXA-48-like
CS 71	<i>E. coli</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	17(I)	20(I)	6(R)	OXA-48-like
CS 34	<i>K. pneumoniae</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	15(R)	40(S)	10(R)	OXA-48-like
CS 63	<i>K. pneumoniae</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	10(R)	13(R)	10(R)	OXA-48-like

NT : non testé , (R) :résistant , (S) : sensible

IV. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les concentrations minimales inhibitrices (CMIs) ont été déterminées pour 15 souches isolées résistantes vis-à-vis de la colistine sur gélose Mac Conkey. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VI. Nous avons retenu les souches ayant des CMIs ≥ 4 mg/l selon les recommandations du CASFM-EUCAST, 2016.

Tableau VI : Résultats des CMIs des souches d'entérobactéries testées

Code	Espèce	CMI ≥ 16 ($\mu\text{g/ml}$)
CS 19	<i>Citrobacter freundii</i>	+
CS 32	<i>Citrobacter freundii</i>	+
CS 44	<i>Citrobacter freundii</i>	+
CS 47	<i>E. gergoviae</i>	+
CS 28	<i>K. pneumoniae</i>	+
CS 21	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 22	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 23	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 24	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 25	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 34	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 36	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 45	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 73	<i>Serratia sp.</i>	+
CS 78	<i>Serratia sp.</i>	+

D'après les résultats obtenus, On remarque que la totalité des souches ont une CMI supérieure à 16µg/ml vis-à-vis de la colistine dont 10 souches du genre *Serratia* qui sont naturellement résistantes à la colistine. Les souches probablement résistantes à la colistine sont *C. freundii* (3 souches), *K. pneumoniae* (1 souche) et *E. gergoviae* (1 souche).

Discussion et Conclusion

Les chauves-souris sont uniques parmi les mammifères dans leur capacité à voler et à couvrir de longues distances lors des migrations saisonnières et leur potentiel de très grandes populations coloniales. Ces caractéristiques ainsi que leur longue durée de vie et de leur capacité à habiter une multitude de diverses niches écologiques ont accru l'intérêt mondial pour les chauves-souris comme étant de potentiels réservoirs et vecteurs d'agents infectieux zoonotiques (Kuzmin *et al.*, 2011). Elles ont des habitudes alimentaires variées, qui peuvent influencer sur les types et la distribution des bactéries dans le tractus gastro-intestinal (Anand et Sripathi, 2004). Certaines espèces se nourrissent, selon Calisher *et al.* 2006, de sang des mammifères, des fruits, des insectes et des poissons, d'autres espèces se nourrissent de nectar (Voigt *et al.*, 2003). Elles peuvent par le biais de leur régime alimentaire et à partir de sources environnementales acquérir des bactéries qui pourraient servir de réservoir pour des déterminants génétique de résistance aux antibiotiques. Cependant, de nombreux efforts de recherches sont axés sur la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les animaux sauvages, les informations sur les chauves-souris restent au jour d'aujourd'hui très limitées. Plusieurs études ont rapporté l'isolement des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* provenant des matières fécales et des contenus intestinaux des chauves-souris (Pinus et Miller, 1980; Di Bella *et al.*, 2003).

La taille de notre échantillon est relativement petite. Par conséquent, l'extrapolation de nos résultats pour la population générale des chauve-souris au niveau de la wilaya de Bejaïa doit être faite avec soins.

Au cours de notre étude, nous avons isolé 26 souches d'entérobactéries productrices de BLSE (16), AmpC (4), carbapénémases (6) et 15 souches résistantes à la colistine à partir de guano de chauves-souris au niveau de la wilaya de Béjaïa. Le taux de portage fécal d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques a été estimé à 20% (26/130) incluant les souches décrites au-dessus. Les résultats obtenus sont supérieurs aux 12% rapporté par Dolejska *et al.* 2008 chez des mammifères sauvages (ruminants, renard roux) en Slovaquie, aux 10,4% rapportés par Poeta *et al.*, 2009 chez des lapins au Portugal et aux 2% rapporté par Literak *et al.* 2009 en république tchèque chez des mammifères terrestres.

Parmi les souches d'entérobactéries productrices de BLSE, AmpC et carbapénémases, 14 souches ont été identifiées comme étant *E. coli* (53.85%). Des souches de *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.*, *Providencia rettgeri* et *Serratia odorifera* ont également été isolées.

La résistance aux antibiotiques chez les isolats d'*E. coli* de la faune et plus précisément des chauves-souris a été suggérée comme étant acquise à partir des aliments qu'ils consomment et de l'environnement (Shirley *et al.*, 2000; Costa *et al.*, 2008). La résistance peut également refléter l'utilisation des antibiotiques chez l'Homme, le bétail et les animaux domestiques (Levy *et al.*, 1981; Rolland *et al.*, 1985).

La prévalence de la résistance à au moins un antibiotique chez les souches d'*E. coli* dans l'étude actuelle (100%) est considérablement plus élevée que les 57,1% trouvés chez les chauves-souris frugivores au Valley Zoo Emperor à Trinidad (Gopee *et al.*, 2000). Cette prévalence élevée de résistance aux antibiotiques détectée dans la présente étude peut être comparable à la fréquence de la résistance rapportée pour les souches d'*E. coli* isolées des goélands argentés en Irlande 87% (Smith, 2014) et des animaux sauvages en liberté 95.6% (Adesiyun et Downes, 1999; Gopee *et al.*, 2000).

Concernant la résistance aux antibiotiques des entérobactéries par production d'une BLSE ou d'une AmpC chez les chauves-souris, aucun article n'a été retrouvé sur pubmed. Au cours de notre étude nous avons isolé des souches d'entérobactéries notamment 12 *E. coli* et 4 *K. pneumoniae* productrices de BLSE/AmpC. Beaucoup d'études ont rapporté la présence de ces enzymes chez les animaux sauvages à travers le monde. Ainsi, la présence fréquente d'*E. coli* productrice de BLSE/AmpC a été rapportée en Autriche chez des corbeaux freux (Loncaric *et al.*, 2013), en Allemagne à partir de milan noirs et d'une buse (Guenther *et al.*, 2012), également chez l'Homme, animaux de compagnie et sauvages (Guenther *et al.*, 2012 ; Loncaric *et al.*, 2013 ; Hasan *et al.*, 2012), à partir de goélands bourgmestres en Alaska (Bonnedahl *et al.*, 2014) et très récemment, la présence de bactéries productrices de BLSE a été détectée dans des échantillons fécaux de goélands argentés (*Larus argentatus*) et des moins-noirs mouettes (*Larus fuscus*) en Europe du Nord, et les goélands leucophées (*Larus michaelis*) en Europe du Sud (Stedt *et al.*, 2015).

Seuls les outils de biologie moléculaires pourront déterminer exactement le type de BLSE exprimé par nos souches résistantes aux C3G. Cependant, les profils de sensibilité aux β -lactamines de nos souches indiquent probablement que ces souches seraient productrices de BLSE de type CTX-M. En Algérie, de nombreuses études ont rapporté que les enzymes CTX-

M-15 sont très répandues dans les isolats hospitaliers et communautaires chez les souches de *K. pneumoniae*, *E. coli* et *E. cloacae* en Algérie (Touati *et al.*, 2006 ; Touati *et al.*, 2008 ; Gharout *et al.*, 2012 ; Lagha *et al.*, 2014 ; Alouache *et al.* 2014 ; Yanat *et al.*, 2014 ; Anssour *et al.* 2014). Les enzymes de type CTX-M-15 ont été isolées chez les poissons dans la région de Béjaïa (Brahmi *et al.*, 2015). Yousfi *et al.*, 2016 ont rapporté, dans leur étude portant sur la caractérisation des BLSE chez des animaux de compagnie, la description des enzymes de type CTX-M-15, CTX-M-1, SHV-12 et TEM-1.

Pour la résistance à la céfoxitine par production d'AmpC, deux mécanismes peuvent être évoqués : acquisition d'une AmpC plasmidique ou l'hyperexpression de la céphalosporinase naturelle. En Algérie, les CMY-2, CMY-4 et DHA-1 ont été rapportées en milieu hospitalier et extrahospitalier (Iyabaden *et al.*, 2009, Gharout *et al.*, 2015, Yousfi *et al.* ; 2016).

Plusieurs études dans le monde ont rapporté la présence des bactéries productrices de carbapénèmases 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 ; Yousfi *et al.*, 2016). La faune peut aussi être un réservoir, mais très peu d'études ont été signalées à ce jour. Fischer *et al.* (2012, 2013) ont décrit l'isolement de deux souches d'*E. coli* productrices de VIM-1 à partir de bétail. Shaheen *et al.*, 2013 ont rapporté la détection d'*E. coli* productrice de NDM-1 chez des animaux de compagnie (chiens et chats) aux Etats-Unis. Des isolats d'*E. coli* productrices de carbapénèmases ont également été décrits à partir d'huîtres, de l'eau, crevettes et l'environnement au Brésil (Vieira *et al.*, 2010). En Algérie, des souches d'*E. coli* productrices de carbapénèmases de type NDM-5 ont été isolées de matière fécale d'animaux de compagnie (Yousfi *et al.*, 2016).

Au cours de notre étude, nous avons trouvé 6 souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases dont 2 souches d'*E. coli* et 2 souches de *K. pneumoniae* probablement productrices d'une OXA-48. En Algérie, Yousfi *et al.*, 2016 ont rapporté la détection de ces enzymes chez des souches d'*E. coli* isolées d'animaux de compagnie. Stolle *et al.*, 2013 ont rapporté des souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées de chiens productrices de carbapénèmases de type OXA-48 en Allemagne. Deux rapport uniquement concernant les entérobactéries productrices de carbapénémase de type OXA-48 chez les animaux sauvages ont été retrouvés sur PubMed.

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

Au cours des dernières années, l'épidémie croissante d'infections provoquée par des bactéries à Gram négatif multirésistantes (MDR), y compris les souches résistantes aux carbapénèmes, surtout les souches de *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* et *E. coli*, a conduit à la renaissance de la colistine dans le monde entier comme option thérapeutique de dernier recours (Biswas *et al.*, 2012, Kempf *et al.*, 2012).

La colistine lie les lipopolysaccharides (LPS) grâce à ses charges positives. Le LPS étant chargé négativement, il y a interaction et liaison de ces deux composés (Falagas *et al.* 2010). Cette interaction provoque un déplacement des cations divalents Mg^{2+} et Ca^{2+} . Ce déplacement provoquera la formation de pores dans la membrane, entraînant ainsi le relargage du contenu intracellulaire et résultera en la mort de la cellule.

Les mécanismes de résistance à la colistine varient selon le micro-organisme. Par exemple, on retrouve des pompes à efflux chez *Yersinia pestis*, la production de capsule chez *Klebsiella pneumoniae*, et la modification du LPS chez *Salmonella enterica* et *E. coli* (Bengoechea et Skurnik 2000, Campos *et al.*, 2004, Falagas *et al.*, 2010). Cette modification du LPS est régulée par les systèmes à deux composantes PmrA/PmrB et PhoP/PhoQ (Kempf *et al.* 2013).

Le développement de la résistance vis-à-vis de la colistine a été signalé dans de nombreuses régions, notamment en Europe, Amérique du Nord, Amérique du Sud, en Asie et en Afrique du Sud (Neonakis *et al.*, 2010, Kontopidou *et al.*, 2011, Suh *et al.*, 2010, Walkty *et al.*, 2007). Une étude très récente Janvier 2016 (MAROC), a rapporté un taux de résistance à la colistine de 87.41% chez des souches *E. coli* isolées à partir de 200 poulets de chair collectés des fermes du février au mai 2014 (Hafed *et al.*, 2016). Récemment, Liu *et al.*, 2016

ont rapporté la présence d'un gène plasmidique (*mcr-1*) transférable détecté dans des isolats d'*E. coli* provenant d'animaux et chez l'Homme en Chine. Hasman et al., 2015 a montré que le gène *mcr-1* est détecté chez des isolats *E. coli*. La propagation de ce gène au Danemark est liée à des séquences types ST131. En Algérie, deux études rapportent la résistance à la colistine. La première étude est celle de Bakour et al. 2015, décrivant une souche clinique d'*A. baumannii* résistante à la colistine (CMI = 16 µg/ml) par une mutation dans le gène *pmrB*. En plus de la résistance à la colistine, cette souche était résistante aux carbapénèmes par production de l'enzyme OXA-24. Une étude réalisée par Olaitan et al., 2016 rapportent la description du gène *mcr-1* chez une souche d'*E. coli* isolée de la volaille en Algérie. Lors de cette étude, 5 souches d'entérobactéries ayant des CMI ≥ 4 µg/ml ont été isolées et des souches de *Serratia spp.* qui sont intrinsèquement résistantes à la colistine.

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

- ✓ L'étude d'un grand nombre d'espèces de chauve-souris et d'autres grottes afin d'avoir une situation plus précise sur la résistance aux antibiotiques en Algérie.
- ✓ L'étude d'un plus grand nombre de souches ;
- ✓ Réalisation des tests d'inhibiteurs (EDTA, Acide Boronique, Cloxacilline).
- ✓ Caractérisation moléculaire des gènes impliqués dans la résistance

1. **Adesiyun et Downes.** (1999). Prevalence of antimicrobial resistance and enteropathogenic serogroups in *Escherichia coli* isolates from wildlife in Trinidad and Tobago. *Veterinarski Arhiv*, **69**, 335-347.
2. **Agabou, A., Pantel, A., Ouchenane, Z., Lezzar, N., Khemissi, S., Satta, D., Sotto, A., and Lavigne, J.-P.** (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.
3. **Alouache, S., Estepa, V., Messai, Y., Ruiz, E., Torres, C., and Bakour, R.** (2014). Characterization of ESBLs and associated quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from an urban wastewater treatment plant in Algeria. *Microb Drug Resist.* **20**:30-8.
4. **Alwin Prem Anand A., and Sripathi, K.** (2004). Digestion of cellulose and xylan by symbiotic bacteria in the intestine of the Indian flying fox (*Pteropus giganteus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* **139**: 65–69.
5. **Anssour, L., Messai, Y., Derkaoui, M., Alouache, S., Estepa, V., Somalo, S., Torres, C., and Bakour, R.** (2014). ESBL, plasmidic AmpC, and associated quinolone resistance determinants in coliforms isolated from hospital effluent: first report of *qnrB2*, *qnrB9*, *qnrB19*, and *bla CMY-4* in Algeria. *J Chemother.* **26**:74-9.
6. **Arias, C-A., Panesso, D., Singh, K-V., Rice, L-B., and Murray, B-E.** (2009). Cotransfer of antibiotic resistance genes and a *hlyEfm-* containing virulence plasmid in *Enterococcus faecium* *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 53, no. 10 : 4240–4246.
7. **Bakour, S., Garcia, V., Loucif, L., Brunel, J-M., Gharout-Sait, A., Touati, A. and Rolain, J-M.** (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbe and New Infect.* **7**: 89–93.
8. **Bakour, S., Olaitan, A-O., Ammari, H., Touati, A., Saoudi, S., Saoudi, K., and Rolain, J-M.** (2015). Emergence of Colistin- and Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report. *Microbial Drug Resistance.* vol 21 no.3 : 279-285.
9. **Bassetti M., Merelli M., Temperoni C., and Astilean A.** (2013). New antibiotics for bad bugs: where are we?. *Ann Clin Microbiol Antimicrobiol*; 12 :22.

10. **Bengoechea, J-A., and Skurnik, M.** (2000). Temperature-regulated efflux pump/potassium antiporter system mediates resistance to cationic antimicrobial peptides in *Yersinia*. *Mol Microbiol* **37**(1): 67-80.
11. **Biswas, S., Brunel, J-M., Dubus, J-C., Reynaud-Gaubert, M., and Rolain, J-M.** (2012). Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther* ;**10**:917–34.
12. **Bonnedahl, J., Hernandez, J., Stedt, J., Waldenström, J., Olsen, B., Drobni, M.** (2014). Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Gulls, Alaska, USA. *Emerg Infect Dis.* ;**20**(5):897-9.
13. **Bonnet, R.** (2004). Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**:1–14.
14. **Botti, V., Navillod, F-V., Domenis, L., Orusa, R., Pepe, E., Robetto, S., et al.** (2013). *Salmonella* spp. and antibiotic-resistant strains in wild mammals and birds in north-western Italy from 2002 to 2010. *Vet. Ital.* **49** : 195–202.
15. **Boulanger, A., Naas, T., Fortineau, N., Figueiredo, S., and Nordmann, P.** (2012). NDM-1-Producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*.vol. 56 no.4: 2214-2215.
16. **Brahmi, S., Dunyach-Rémy, C., Touati, A., Lavigne, JP.** (2015). CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin Microbiol Infect.* **21**(3):e18-20.
17. **Bush, K., and Jacoby, G-A.** (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**, 969-76.
18. **Byappanahalli, M-N., Nevers, M-B., Korajkic, A., Staley, Z-R., and Harwood, V-J.** (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 76, no. 4, 685–706.
19. **Calisher, C., Childs, J., Field, H., Holmes, K., and Schnoutz, T.** (2006). Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, **19** (3) : 531-545.
20. **Campos, M. A., Vargas, M-A., Regueiro, V, Llompарт, C-M., Alberti, S., and Bengoechea, J-A.** (2004). Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun* **72**(12): 7107-7114.
21. **Cannatelli, A., D’Andrea M-M., Giani, T., Di Pilato, V., Arena, F., Ambretti, S., Gaibani, P., and Rossolini, G-M.** 2013. *In vivo* emergence of colistin resistance in

- Klebsiella pneumoniae* producing KPC-type carbapenemases mediated by insertional inactivation of the PhoQ/PhoP *mgrB* regulator. *Antimicrob Agents Chemother* **57**:5521–5526.
22. **Cavallo, J-D., Fabre, R., Jehl, F., Rapp, C., and Garrabé, E.** (2004). Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses* ; **1**: 129-202.
23. **Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Vinue, L., Coelho, AC., Matos, M., Rojo-Bezares, B., Rodrigues, J., and Torres, C.** (2008). Mechanisms of *Escherichia coli* isolates recovered from wild animals. *Microb. Drug Resist.* **14** : 71–77.
24. **Di Bella, C., Piraino, C., Caracappa, S., Fornasari, L., Violani, C., and Zava, B.** (2003) Enteric microflora in Italian Chiroptera. *J. Mt. Ecol.* **7** : 221–224.
25. **Di Cesare, A., Pasquaroli, S., Vignaroli, C et al.,** (2014). The marine environment as a reservoir of enterococci carrying resistance and virulence genes strongly associated with clinical strains. *Environmental Microbiology Reports.* vol. 6, no. 2 : 184–190.
26. **Dolejska, M., Senk, D., Cizek, A., Rybarikova, J., Sychra, O., and Literak, I.** (2008) Antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolates in cattle and house sparrows on two Czech dairy farms. *Res Vet Sci* **85**, 491–494.
27. **Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W., and Jarlier, V.** (2008). Phenotypic detection of extended spectrum b-lactamase production in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect.* **14** (Suppl. 1): 90–103.
28. **European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID).** (2000), EUCAST Definitive Document E.DEF 3.1, Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect.*2000 ; **6** : 509-15.
29. **Falagas, M. E., Rafailidis, P-I., and Matthaiou, D-K.** (2010). Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resist Updat* **13**(4-5): 132-138.
30. **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.
31. **Fischer, J., Rodriguez, I., Schmoger, S., et al.** (2013). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. *J Antimicrob Chemother*; **68**: 478–80.

32. **Graves, S-R., Kennelly-Merrit, S-A., Tidemann, C-R., Rawlinson, P-A., Harvey, K-J., Thornton, I-W.** (1988). Antibiotic-resistance patterns of enteric bacteria of wild mammals on the Krakatau islands and west Java, Indonesia. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* **322**(1211):339-53.
33. **Giamarellou, H.** (2007). Colistin: the loss of the last frontier? *APUA Newsl* ;25:5.
34. **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.
35. **Gunn, J-S.** (2008). The *Salmonella* PmrAB regulon: lipopolysaccharide modifications, antimicrobial peptide resistance and more. *Trends Microbiol***16**:284–290.
36. **Gupta, N., Limbago, B-M., Patel, J-B., and Kallen, A-J.** (2011). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin Infect Dis* ;**53**:60–7.
37. **Hafed, Z., Benguedour, R., Aboussaleh, Y., Zeghari, L., Aouane, M., Berrid, N., Abouchouaib, N., and Sbaibi, R.** (2016). Antibiotic resistance profile of *Escherichia coli* of avian origin: broiler case in the region of grand casablanca-Morocco. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.* ISSN 2429-5396.
38. **Hasan, B., Islam, K., Ahsan, M., Hossain, Z., Rashid, M., Talukder, B., Ahmed, K-U., Olsen, B., and Abul Kashem, M.** (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. **Hasan, B., Sandegren, L., Melhus, Å., Drobni, M., Hernandez, J., Waldenström, J., et al.** (2012). Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* in wild birds and free-range poultry, Bangladesh. *Emerg Infect Dis.***18**:2055–8.
40. **Hasman, H., Hammerum, AM., Hansen, F., Hendriksen, RS., Olesen, B., Agersø, Y., Zankari, E., Leekitcharoenphon, P., Stegger, M., Kaas, RS., Cavaco, LM., Hansen, DS., Aarestrup, FM., and Skov, RL.** (2015). Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark. www.eurosurveillance.org.
41. **Huang, T-D., Poirel, L., Bogaerts, P., Berhin, C., Nordmann, P. and Glupczynski, Y.** (2013). Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing

- Enterobacteriaceae in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers. *J Antimicrob Chemother.* **69**: 445–450.
42. **Gharout-Sait, A., Touati, A., Benallaoua, S., Guillard, T., Brasme, L., Madoux, J., and de Champs, C.** (2012). CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *African Journal of Microbiology Research* **6** : 5306-5313.
43. **Gopee, N-V., Adesiyun, A-A and Caesar, K.** (2000). A longitudinal study of *Escherichia coli* strains isolated from captive mammals, birds and reptiles in Trinidad. *Zoo and Wildlife Medicine* **31**: 353–360.
44. **Grobbe, M., Lubke-Becker, A., Alesik, E., Schwarz, S., Wallmann, J., Werckenthin, C., and Wieler, L-H.** (2007). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from swine, horses, dogs and cats as determined in the BfTGermVet monitoring program 2004-2006. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* **120**:391- 401.
45. **Guenther, S., Aschenbrenner, K., Stamm, I., Bethe, A., Semmler, T., et al.** (2012). Comparable High Rates of Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Birds of Prey from Germany and Mongolia. *PLoS ONE* **7**: e53039. doi:10.1371/journal.pone.0053039.
46. **Iabadene, H., Messai, Y., Ammari, H., Alouache, S., Verdet, C., Bakour, R., and Arlet, G.** (2009). Prevalence of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases among *Enterobacteriaceae* in Algiers hospitals. *Int J Antimicrob Agents* ; **34**:340-2.
47. **Jacoby G-A.** (2009). AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* **22**, 161-82.
48. **Jarlier, V., Nicolas, MH., Fournier, G. and Philippon, A.** (1988). Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* **10**, 867-78.
49. **Kardos, N., Demain A. L.** (2013). Ernst Chain: a great man of science. *Appl Microbiol Biotechnol*; **97**: 6613-6622.
50. **Kempf, I., Fleury, MA., Drider, D., Bruneau, M., Sanders, P., Chauvin, C., et al.** (2013). What do we know about resistance to colistin in *Enterobacteriaceae* in avian and pig production in Europe? *Int J Antimicrob Agents* ;**42**:379–83.
51. **Kontopidou, F., Plachouras, D., Papadomichelakis, E., Koukos, G., Galani, I., Poulakou, G., et al.** (2011). Colonization and infection by colistin-resistant Gram-negative bacteria in a cohort of critically ill patients. *Clin Microbiol Infect* ;**17**:E9–11.

52. **Koplan, J-P., Thacker, S-B., and Lezin, N-A.** (1999). Epidemiology in the 21st century: calculation, communication, and intervention. *Am J Public Health*; **89**: 1153-1155.
53. **Kuzmin, I-V., Bozick, B., Guagliardo, S-A., Kunkel, R., Shak, J-R., Tong, S., and Rupprecht, C-E.** (2011). Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerg Health Threats J* 4, 7159.
54. **Literak, I., Dolejska, M., Radimersky, T., Klimes, J., Friedman, M., Aarestrup, F-M., Hasman, H., and Cizek, A.** (2009). Antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli* in wild mammals in central Europe: multiresistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases in wild boars. *The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology*. **108** (2010) 1702–1711.
55. **Lee, J-H., Bae, I-K., and Lee, S-H.** (2012). New definitions of extended-spectrum β -lactamase conferring worldwide emerging antibiotic resistance. *Med Res Rev*. **32** : 216-32.
56. **Lee, K., Kim, CK., Yong, D., Jeong, SH., Yum, JH., Seo, YH., Docquier, JD. and Chong, Y.** (2010). Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods*. **83**: 149–152.
57. **Levy, S-B., Cloves, R-C., and Koenig, E-L.** (1981). *Molecular biology, pathogenicity and ecology of bacterial plasmids*. Plenum Publishing Corporation, New York, New York, 708.
58. **Liu, YY., Wang, Y., Walsh, TR., Yi, LX., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, LF., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, JH., and Shen, J.** (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* **16** : 161–168.
59. **Loncaric, I., Kuebber-Heiss, A., Posautz, A., Stalder, GL., Hoffmann, D., et al.** (2013). Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. carrying the *mecC* gene, isolated from wildlife. *J Antimicrob Chemother* **68**: 2222–2225.
60. **Loncaric, I., Gabrielle, L., Stalder., Mehinagic, K., Rosengarten, R., Hoelzl,F., Knauer, F., and Walzer, C.** (2013). Comparison of ESBL – And AmpC Producing Enterobacteriaceae and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated

from Migratory and Resident Population of Rooks (*Corvus frugilegus*) in Austria. Plos One. Volume 8 | Issue 12.

61. **Manson, J-M., Hancock, L-E and Gilmore, M-S.** (2010). Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. vol. 107, no. 27 : 12269–12274.
62. **Mezghani Maalej, S., Rekik Meziou, M., Mahjoubi, F., and Hammami, A.** (2012). Epidemiological study of Enterobacteriaceae resistance to colistin in Sfax (Tunisia). *Med Mal Infect* ;**42**:256–63.
63. **Merens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J.-D., and Jeannot, K.** (2011). *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires*.N° 435 // 49.
64. **Moya, A., Holmes, E-C., and Gonzalez-Candelas, F.** (2004). The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses. *Nat. Rev. Microbiol.* **2** : 279–288.
65. **Neonakis, IK., Samonis, G., Messaritakis, H., Baritaki, S., Georgiladakis, A., Maraki, S., et al.** (2010). Resistance status and evolution trends of *Klebsiella pneumoniae* isolates in a university hospital in Greece: ineffectiveness of carbapenems and increasing resistance to colistin. *Chemotherapy* ;**56**:448–52.
66. **Nordmann, P., Cuzon, G., and Naas, T.** (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis* ; **9** : 228-236.
67. **Nordmann, P., Naas, T., and Poirel, L.** (2011). Global spread of carbapenemase-producing enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis.* **17** : 1791–1798.
68. **Pinus, M., and Mueller, H-E.** (1980). Enterobacteria of bats (Chiroptera). *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* **247** : 315–322.
69. **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.
70. **Poeta, P., Radhouani, H., Pinto, L., Martinho, A., Rego, V., Rodrigues, R., Gonçalves, A., Rodrigues, J., Estepa, V., Torres, C., and Igrejas, G.** (2009). Wild boars as reservoirs of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* of different phylogenetic groups. J Basic Microbiol. **49(6)**:584-8.
71. **Poirel, L., Munoz-Price, L-S., Bonomo, R-A., Schwaber, M-J., Daikos, G-L., Cormican, M., Cornaglia, G., Garau, J., Gniadkowski, M., Hayden, M-K.,**

- Kumarasamy, K., Livermore, D-M., Maya, J-J., Nordmann, P., Patel, J-B., Paterson, D-L., Pitout, J., Villegas, M-J., Wang, H., Woodford, N., and Quinn, J-P.** (2013). Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *Lancet Infect Dis* ; 13(9): 785–796.
72. **Prescott, L. M., Klein D. A., and Harley J. P.** 2010. *Microbiologic* 3e éd., De Boeck Université, Bruxelles, 1088 pages.
73. **Prud'homme, F.** 2013. Les chauves-souris ont-elles peur de la lumière ?, *Quae*, Paris, 207.
74. **Pulliam, J-R.** (2008). Viral host jumps: moving toward a predictive framework. *EcoHealth* 5 : 80–91.
75. **Pulliam, J-R., Epstein, J-H., Dushoff, J., Rahman, S-A., Bunning, M., Jamaluddin, A-A., Hyatt, A-D., Field, H-E., Dobson, A-P., and Daszak, P.** (2011). Agricultural intensification, priming for persistence and the emergence of Nipah virus: a lethal bat-borne zoonosis. *J. R. Soc. Interface* 9 : 89–101.
76. **Rodhain, F.** 2015. Bats and Viruses: complex relationships. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 108:272-289.
77. **Rolland, R-M., Hansfater, G., Marshall, B., and Levy, S-D.** (1985). Antibiotic-resistant bacteria in wild primates: Increased prevalence in baboons feeding on human refuse. *Applied and Environmental Microbiology* 49: 791–794.
78. **Samuelsen, O., Naseer, U., Tofteland, S.** (2009). Emergence of clonally related *Klebsiella pneumoniae* isolates of sequence type 258 producing plasmid-mediated KPC carbapenemase in Norway and Sweden. *J Antimicrob Chemother.* 63:654-8.
79. **Sande-Bruinsma, N-V., Grundmann, H., Verloo, D., Tiemersma, E., Monen, J., Goossens, H., Ferech, M., and the European Antimicrobial Resistance Surveillance System and European Surveillance of Antimicrobial Consumption Project Groups.** (2008). *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 14, No. 11 : 1722-1730.
80. **Santos, T., Silva, N., Igrejas, G., Rodrigues, P., Micael, J., Rodrigues, T., et al.** (2013). Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. *Anaerobe* 24 : 25–31.
81. **Sato, G., Oka, C., Asagi, M., and Ishiguro, N.** (1978). Detection of conjugative R plasmids conferring chloramphenicol resistance in *Escherichia coli* isolated from domestic and feral pigeons and crows. *Zentralbl. Bakteriolog. Orig.* 241 : 407–417.

82. **Sherley, M., Gordon, D-M., and Collignon, P-J.** (2000). Variations in antibiotic resistance profile in Enterobacteriaceae isolated from wild Australian mammals. *Environ. Microbiol.* **2** : 620–631.
83. **Smith, S., Wang, J., Fanning, S., and McMahon, B-J.** (2014). Antimicrobial resistant bacteria in wild mammals and birds: a coincidence or cause for concern? *Ir. Vet. J.* **67**, 8.
84. **Sood, S., Malhotra, M., Das, B-K., and Kapil, A.** (2008). Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res* **128** : 111-121.
85. **Souza, V., Rocha, M., Valera, A., and Eguiarte, L-E.** (1999). Genetic structure of natural populations of *Escherichia coli* in wild hosts on different continents. *Appl. Environ. Microbiol.* **65** : 3373–3385.
86. **Stedt, J., Bonnedahl, J., Hernandez, J., Waldenström, J., McMahon, BJ., Tolf, C., et al.** (2015). Carriage of CTX-M type extended spectrum β -lactamases (ESBLs) in gulls across Europe. *Acta Vet Scand.* **57**:74.
87. **Stolle, I., Prenger-Berninghoff, E., Stamm, I., Scheufen, S., Hassdenteufel, E., Guenther, S., Bethe, A., Pfeifer, Y., and Ewers, C.** (2013). Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *J Antimicrob Chemother.* **68**(12):2802-8.
88. **Streicker, D-G., Turmelle, A-S., Vonhof, M-J., et al.** (2010) Host Phylogeny constrains cross-species emergence and establishment of rabies virus in bats. *Science* **329**(5992) : 676–9.
89. **Suh, JY., Son, JS., Chung, DR., Peck, KR., Ko, KS., and Song, JH.** (2010). Nonclonal emergence of colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from blood samples in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother* ;**54**:560–2.
90. **Touati, A., Benallaoua, S., Forte, D., Madoux, J., Brasme, L., and de Champs, C.** (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 betalactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Béjaia, Algeria. *Int J Antimicrob Agents.* **27**:397-402.
91. **Touati, A., Brasme, L., Benallaoua, S., Madoux, J., Gharout, A., and de Champs, C.** (2008). *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* isolates producing CTX-M-15 recovered from hospital environmental surfaces from Algeria. *J Hosp Infect* ;**68**:183-5.
92. **Touati, A., Zenati, K., Brasme, L., Benallaoua, S., and de Champs, C.** (2010). Extended-spectrum beta-lactamase characterisation and heavy metal resistance of

- Enterobacteriaceae* strains isolated from hospital environmental surfaces. *J. Hosp. Infect.* **75** : 78-79.
93. **Van Duin, D., Kaye, K-S., Neuner, E-A., and Bonomo, R-A.** (2013). Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a review of treatment and outcomes. *Diagn Microbiol Infect Dis* ;**75**:115–20.
94. **Vieira, R.H.S.D.F., Carvalho, E.M.R, Carvalho, F.C.T., Silva, C.M., Sousa, O.V., and Rodrigues, D.P.** (2010). Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and pond environment in northeastern Brazil. *J. Environm. Sci. Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes.* **45** : 198–203.
95. **Voigt, C-C., Matt, F., Michener, R., and Kunz, T-H.** (2003). Low turnover rates of carbon isotopes in tissues of two nectar-feeding bat species. *Journal of Experimental Biology* **206**: 1419–1427.
96. **Walkty A, DeCorby M, Nichol K, Karlowsky JA, Hoban DJ, Zhanel GG.** (2009). In vitro activity of colistin (polymyxin E) against 3,480 isolates of Gram-negative bacilli obtained from patients in Canadian hospitals in the CANWARD study, 2007–2008. *Antimicrob Agents Chemother* ;**53**:4924–6.
97. **Walsh, C.** (2003). *Antibiotics : actions, origins, resistance.* Washington, D.C., ASM Press. 335 pages.
98. **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-beta-lactamase 1 in *Acinetobacter lwoffii* of food animal origin. *PloS One* 7, e37152.
99. **Werner, G., Coque, T-M., Hammerum, A-M., Hope, R., Hryniewicz, W., Johnson, A., et al.** (2008). Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill*; **13** : 1-11.
100. **Willems, R-J. L and Van Schaik, W.** (2009). Transition of *Enterococcus faecium* from commensal organism to nosocomial pathogen. *Future Microbiology*, vol. 4, no. 9 : 1125–1135.
101. **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.

102. **Yanat, B., Vinuesa, T., Miguel, V., and Touati, A.** (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.
103. **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.
104. **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 bla_{NDM-1}-carrying plasmid p_{NDM-AB} from *Acinetobacter baumannii* of food animal origin. *J. Antimicrob. Chemother.* **68** : 1681–1682.

ANNEXE I

Composition des milieux de culture et réactifs (en g/l)

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

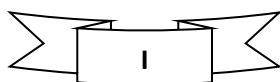
Infusion de viande de bœuf	3g
Hydrolysate de caséine	17.5g
Amidon	5 g
Agar	17 g

pH 7,4

Gélose EMB

Peptone pancréatique de gélatine	10,0 g
Lactose	10,0 g
Phosphate dipotassique	2,0g
Eosine Y	0,4g
Bleu de méthylène	65,0mg
Agar agar bactériologique	15,0g

pH 7,0



Gélose TSI

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

pH 7.4

Milieu Citrate de simmons

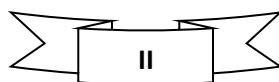
Sulfate de magnésium	0.2g
Phosphate monoammonique.	1g
Phosphate bipotassique	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Citrate de sodium	2g
Bleu de bromothymol.....	0.08g
Agar.....	15g

pH 7.1

Milieu Urée-Indole

L-tryptophane	3g
Phosphate monopotassique	1g
Phosphate bipotassique	1 g
Chlorure de sodium	5g
Urée	20g

pH 7.3



Milieu Clark-Lubs

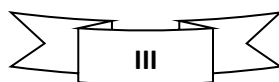
Peptone tryptique de viande	5 g
Phosphate bipotassique	5 g
Glucose	6 g

pH7

Bouillon Trypticase soja

Peptone tryptique de caséine	17 g
Peptone papainique de soja	3 g
Chlorure de sodium	5 g

pH 7.3



ANNEXE II

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



























Espèces	Couleur des colonies
Escherichia coli	Colonies rose à pourpre
KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia)	Colonies bleue vert à bleues avec ou sans auréole violette
Proteus mirabilis, Morganella, Providencia	Colonie pâles à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron
Pseudomonas aeruginosa	Colonies muqueuses blanches brunâtres
Acinetobacter baumannii	Colonies muqueuses blanches opaque

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

Antibiotiques	Abréviations	Charge du disque	Diamètre critique	
			S _≥	R<
Amoxicilline-Acide clavulanique	AMC	30 µg	≥19	<19
Céfoxitine	FOX	30 µg	≥19	<15
Céfotaxime	CTX	30 µg	≥20	<17
Céftazidime	CAZ	30 µg	≥22	<19
Céfépime	FEP	30 µg	≥24	<21
Imipénème	IMP	30 µg	≥22	<16
Méropénème	MER	30 µg	≥22	<16
Témocilline	TEM	30 µg	≥20	<20

ANNEXE III

Tableau : Lecture de la galerie API 20^E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché :	Révélateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
<u>ADH</u> <u>LDC</u> <u>ODC</u>	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
<u>ICIT</u>	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
<u>H₂S</u>	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Lecture directe		
<u>URÉ</u>	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	 
<u>VP</u>	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		 
<u>GEL</u>	Gélatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de NIT1 et NIT2 et zinc éventuellement		

ANNEXE IV

Préparation de la solution A

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

- 1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
- 2- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- 3- Ajouter au mélange 180 μ l d'une solution de ZnSO₄ 10mM pour obtenir une concentration finale de ZnSO₄ à 0.1mM.
- 4- Ajuster le pH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

ANNEXE V

Tableau : les souches d'entérobactéries productrices d'une BLSE

Code	Espèce	AMC	FOX	CAZ	CTX	FEP	Synergie
CS 8	<i>E.coli</i>	12(R)	6(R)	6(R)	21(S)	30(S)	+
CS 10	<i>E.coli</i>	14(R)	6(R)	6(R)	20(S)	28(S)	+
CS 12	<i>E.coli</i>	16(R)	6(R)	6(R)	28(S)	36(S)	+
CS 13	<i>E.coli</i>	14(R)	6(R)	6(R)	25(S)	30(S)	+
CS 14	<i>E.coli</i>	12(R)	6(R)	6(R)	20(S)	29(S)	+
CS 23	<i>E.coli</i>	15(R)	6(R)	6(R)	25(S)	31(S)	+
CS 61	<i>E.coli</i>	16(R)	6(R)	12(R)	23(S)	6(R)	+
CS 68	<i>E.coli</i>	20(S)	6(R)	14(R)	21(S)	6(R)	+
CS 69	<i>E.coli</i>	15(R)	20(S)	14(R)	6(R)	6(R)	+
CS 77	<i>E.coli</i>	18(R)	6(R)	14(R)	20(S)	15(R)	+
CS 88	<i>E.coli</i>	15(R)	6(R)	6(R)	26(S)	6(R)	+
CS 90	<i>E.coli</i>	15(R)	6(R)	6(R)	23(S)	6(R)	+
CS 31	<i>K.pneumoniae</i>	14(R)	6(R)	6(R)	17(I)	25(S)	+
CS 59	<i>K.pneumoniae</i>	16(R)	6(R)	15(R)	20(S)	6(R)	+
CS 73	<i>K.pneumoniae</i>	15(R)	6(R)	8(R)	18(I)	6(R)	+
CS 74	<i>K.pneumoniae</i>	15(R)	6(R)	8(R)	19(I)	6(R)	+

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer la résistance aux antibiotiques de la flore intestinale des chauves-souris dans la wilaya de Béjaia.

Un total de 110 échantillons ont été réalisés au niveau de la grotte d'Aokas. Après isolement et identification, les phénotypes de résistance aux antibiotiques ont été déterminés par l'utilisation des tests phénotypiques incluant le DD-test, test à la cloxacilline, test Hodge, Carba NP test modifié et le test à la témocilline.

Les CMI des souches résistantes à la colistine ont été déterminées .

Au total 41 souches d'entérobactéries ont été sélectionnées et un taux de portage 20% a été observé. La caractérisation phénotypique a montré que 16 (48.78%) souches étaient productrices de BLSE, 4 (9.76%) étaient productrices d'AmpC et 6 (14.63%) produisaient des carbapénémases notamment de type OXA-48.

A notre connaissance, ceci est le premier rapport de souches d'entérobactéries productrices de BLSE, AmpC et carbapénémases isolées de chauves-souris en Algérie.

Mots-clés : Chauves-souris, flore résistante aux antibiotiques, BLSE, Carbapénémase, Colistine.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the antibiotic resistance of the intestinal flora of bats in Bejaia.

A total of 110 samples were carried out at the cave of Aokas. After isolation and identification, antibiotic resistance phenotypes were determined by the use of phenotypic tests including the DD-test, test cloxacillin, test Hodge, Carba NP modified test and the test to temocillin.

The MICs of strains resistant to colistin were determined.

A total of 41 Enterobacteriaceae strains were selected and a carrier rate to 20% was observed. Phenotypic characterization showed that 16 (48.78%) strains were producing ESBL, 4 (9.76%) were producing AmpC and 6 (14.63%) produced carbapenemases particular type OXA-48.

To our knowledge, this is the first report of producing Enterobacteriaceae strains of ESBL, AmpC and carbapenemases isolated from bats in Algeria.

Keywords: Bats, flora resistant to antibiotics, ESBL, Carbapenemase, colistin.