

*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*

**Caractérisation des phénotypes de  
résistance aux  $\beta$ -lactamines des souches  
d'entérobactéries isolées à partir d'animaux  
sauvages**

Présenté par :

**BOUHROUR Nesrine & BOUCHE Celia**

Soutenu le : **17 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mr. LADJOUZI Rabia	MCB	Président
Mr. TOUATI Abdelaziz	Professeur	Encadreur
Mme. GHAROUT Alima	MAA	Examineur

**Année universitaire : 2014 / 2015**

# Remerciements

*Nous adressons nos remerciements les plus cordiaux à notre promoteur Pr Touati. A pour son aide, sa disponibilité et conseils précieux durant la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous exprimons toute notre gratitude à notre Co-promotrice Mlle Bachiri, T pour son aide stimulante, la gentillesse, la patience qu'elle a manifesté et sa contribution fructueuse à la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions vivement les membres du jury pour avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Un grand merci à, Mr Bakour, Mr Belmehdi, Mme Gharout, Mlle Yousfi, , Mme Mouici, Mme Belhadi et Mme Tafoukt pour leur conseils et aide.*

*Nous remercions le directeur du parc national de Bejaia, Mr Boutekrabt (chef secteur du PNG), le directeur du parc national de TABA (jijel), la vétérinaire Mlle Bidouhane, Mr Lahmer (chef secteur des Aftis) et tout le personnel des parcs pour leur aimable accueil, le temps consacré et leur aide indispensable dans notre échantillonnage.*

*Nous remercions La directrice du parc animalier de Jijel, Mme Belhinous, et tout le personnel pour leur aide et gentillesse.*

*Nous remercions également Mr MOUALEK et Mr BERDONCHE pour leur aide*

*Enfin, nous exprimons notre sympathie à tous ceux, qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.*

## Dédicaces

*Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie*

*À ma très chère maman, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie.*

*À mon beau père, qui n'a pas cessé de m'encourager tout au long de mes études et pour ses précieux conseils. Aucune dédicace ne saura exprimer l'amour, l'estime et le respect que j'ai pour toi.*

*À mes grands parents Je vous remercie pour tout le soutien exemplaire et l'amour exceptionnel que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*À ma tante Radia, Tonton nadir, Khalsou Salah et tante Catherine pour leur soutien, leur amour et leurs encouragements.*

*À mon petit frère Amine, ma sœur Selma, mes cousins et cousines, Camelia, Shirine, Yasmine et Namick. Je vous adorent  
Je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle et de mon infini amour.*

*À Fayçal. Tu étais toujours là pour me soutenir, m'aider et m'écouter. Que Dieu te protège et te procure joie et bonheur.*

*À tous mes amis(es), Radia, Sofia, Ryma, Said, Nesrine, Abba, Narimene, Aida, Dalia, Dehia, Yanis, Yacine et tous les autres.*

*À toute la famille BOUFFE. Merci pour votre gentillesse et votre générosité.*

*À ma très chère amie et binôme Celia, ensemble nous avons partagés d'agréables moments tout au long de la réalisation de ce travail et de notre cursus universitaire.*

*À toute la promotion MASTERRIG*

*NESRINE*

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail qui est le fruit récolté après tant d'années d'efforts :*

*À mes parents : Vous m'avez appris beaucoup de chose, je vous doit ma vie, vous m'avez protégé, supporté, et soutenu durant toute ma vie. Que dieu vous préserve une longue et heureuse vie. Je vous dédie toute ma reconnaissance et mon dévouement.*

*À toi papa : tu es l'homme que j'aime le plus au monde, tu as toujours été là pour moi tu m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.*

*À toi maman : tu m'as tellement donné que je n'ai pas assez de mot pour t'exprimer ma reconnaissance ; Je t'aime.*

*À la mémoire de mes grands parents et de TonTon Abdelskader, que dieu les accueille dans son vaste paradis.*

*À mes chères sœurs, Aïda et Yasmine pour leurs soutiens moral et leurs aide, mes tantes : Dadou, Lila et Wahiba, leurs maris Djamel, Nacer, mes oncles, mes adorables cousines « Katia, Nawel, Sabrina, Sara, Imene, Chanez, Melissa, Dalia, Kamelia » et à mes cousins « Amine, Anis, Nadim, Ayden, Carsen, Liam »*

*À ma petite princesses et ange Nésia.*

*À mes chères amis (es) : Aïda, Dalia, Meriama, Kakou, Nawel qui n'ont cessé de m'encourager et à Fayçal, Hecine et Lotfi.*

*À mon ami Idir : pour le soutiens que tu m'as apporté tes conseils et tes encouragements.*

*À ma chère amie, binôme, Nesrine qui m'a supporté durant ces trois dernières années et chez qui j'ai trouvé l'entente dont j'avais besoin et à toute sa famille.*

*À mes collègues d'M.S.B.V.*

*Tesia*



## Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction .....	1

### Synthèse bibliographique

1. Entérobactéries et résistance aux $\beta$ -lactamines.....	6
---	---

### Matériel et méthodes

1. Prélèvements .....	13
2. Isolement et identification .....	13
3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques .....	14
4. Recherche de la production de $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu .....	14
5. Recherche de la production de carbapénémases.....	15
6. Détermination des Concentration minimales inhibitrices .....	15
7. Conjugaison .....	16
8. Analyse statistique .....	17

### Résultats

1. Résultats des prélèvements des populations étudiées.....	18
2. Souches bactériennes .....	18
3. Sensibilité des souches aux antibiotiques .....	19
4. Analyse des phénotypes de résistance .....	21
5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) .....	21
6. Transfert par conjugaison .....	22

### Discussion et conclusion

Discussion et conclusion .....	23
--------------------------------	----

---

---

## *Liste des figures*

<b>Figure 1 :</b> Classification des $\beta$ -lactamines .....	6
<b>Figure 2 :</b> Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle $\beta$ -lactame .....	7
<b>Figure 3 :</b> Répartition des BLSE chez les animaux sauvages .....	11
<b>Figure 4 :</b> Sites de prélèvements .....	13
<b>Figure 5 :</b> Taux de résistance des souches aux $\beta$ -lactamines et aux autres antibiotiques .....	19
<b>Figure 6 :</b> Taux de résistance des espèces d'entérobactéries aux antibiotiques autres que les -lactamines .....	20
<b>Figure 7 :</b> Image d'un DD-test positif sur gélose Muller Hinton chez la souche B003.....	21

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau III</b> : BLSE rapportées chez les animaux de compagnie et d'élevage.....	10
<b>Tableau VI</b> : Antibiotiques testés .....	14
<b>Tableau VII</b> : Préparation de la gamme d'antibiotiques.....	16
<b>Tableau VIII</b> : Nombre de prélèvements par animal à Bejaia et Jijel.....	18
<b>Tableau IX</b> : Répartition des souches par région.....	18
<b>Tableau XI</b> : Résultats de l'étude statistique.....	20
<b>Tableau XII</b> : Résultats des CMI des souches d'entérobactéries testées.....	22
<b>Tableau XIII</b> : Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les transconjugants, leurs profils de résistance aux antibiotiques ainsi que leurs CMI.....	23

## *Annexes*

<b>Tableau I</b> : Phénotype de résistance naturelle des entérobactéries .....	1
<b>Tableau II</b> : Classification des $\beta$ -lactamases .....	2
<b>Tableau IV</b> : Répartition des BLSE chez les animaux sauvages.....	3
<b>Tableau V</b> : Tableau d'identification de la galerie API20E.....	7
<b>Tableau X</b> : Diamètres des zones d'inhibition (mm) ainsi que les profils de résistance des souches aux antibiotiques ... ..	12

1 Les  $\beta$ -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus importante, aussi bien  
2 par la diversité des molécules utilisables, leur large spectre d'activité antibactérien et leur  
3 faible toxicité que par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections  
4 bactériennes (Cavallo et *al.*, 2004 ; Ferech et Coenen, 2006). Depuis leur découverte en  
5 1928 par Alexander Fleming et dès leur utilisation durant la seconde guerre mondiale, les  
6  $\beta$ -lactamines ont été confrontées à l'émergence de la résistance. Celle-ci apparut  
7 rapidement, dès 1942, avec la première souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la  
8 pénicilline par production de pénicillinase (Cavallo et *al.*,2004).

9 L'émergence des entérobactéries résistantes aux  $\beta$ -lactamines à large spectre est le  
10 plus souvent le résultat d'un mécanisme en deux temps qui associe d'abord la sélection des  
11 bactéries commensales résistantes puis le transfert horizontal de résistance entre diverses  
12 espèces bactériennes dont certaines peuvent être pathogènes (Skurnik et Andremont,  
13 2006). Le mécanisme le plus important est lié à la production des  $\beta$ -lactamases de type  $\beta$ -  
14 lactamase à spectre étendu (BLSE) (Bush et Jacoby, 2010). Ces enzymes transférables  
15 coexistent souvent avec d'autres déterminants de la résistance aux antibiotiques et peuvent  
16 également être associés à des transposons et à des intégrons, en augmentant  
17 l'enrichissement potentiel des bactéries multi-résistantes pour de multiples agents  
18 antimicrobiens ainsi que la diffusion des déterminants de la résistance parmi les espèces  
19 bactériennes (Poeta et *al.*,2009). Une véritable pandémie mondiale est maintenant observée  
20 avec la diffusion préférentielle des BLSE de type CTX-M (Philippon, 2013).

21 Les entérobactéries productrices de BLSE ont émergé dans la dernière décennie et  
22 représentent une menace mondiale pour la santé humaine et sont non seulement isolées du  
23 milieu hospitalier, communautaire et vétérinaire, mais elles ont également diffusées dans  
24 d'autres environnements comme les animaux de ferme, animaux sauvages, eaux usées, les  
25 végétaux et d'autres sources (Ben et *al.*, 2015).

26 L'utilisation massive d'antibiotiques en médecine humaine, vétérinaire, production  
27 animale, l'aquaculture et en agriculture est un facteur majeur de la dissémination et de  
28 l'évolution de résistance aux antibiotiques (Da Costa et *al.*, 2013). Chez les animaux  
29 d'élevages, la colonisation par des bactéries productrices de BLSE peut être considérée  
30 comme un problème de santé publique, puisque la transmission à l'homme ne peut être  
31 ignorée. Parmi les raisons de cette colonisation inhabituelle, l'utilisation des antibiotiques  
32 comme traitements prophylactiques pour prévenir les infections bactériennes pourrait être

33 considérées comme un facteur de risque important (Dos Santos et *al.*, 2013). A cet égard,  
34 les souches d'*E. coli* productrices de BLSE de type CTX-M, TEM et SHV ont été isolées à  
35 partir d'animaux de ferme (volaille, porc, bétail, poulet) dans différents pays (Meunier et  
36 *al.*,2006 ; Ramos et *al.*,2013).

37 Les animaux de compagnie représentent également des sources potentielles pour la  
38 propagation des entérobactéries productrices de BLSE (Dos Santos et *al.*,2013). Cela est  
39 dû en partie à la prescription croissante pour les animaux de substances antimicrobiennes  
40 qui sont essentielles à la médecine humaine. Des souches d'entérobactéries productrices de  
41 BLSE de type SHV, TEM et CTX-M ont été rapportées chez les animaux de compagnies  
42 (Rubin et Pitout, 2014).

43 Ces souches ont été également isolées à partir d'une variété de sources naturelles de  
44 l'environnement tels que les eaux usées (Ojer-Usoz et *al.*, 2014), eaux douces polluées  
45 (Tacaño et *al.*, 2012), eaux d'irrigation (Ben et *al.*, 2015), eaux de surfaces (Tissera et Mae  
46 Lee, 2013), plages publiques (Alouache et *al.*, 2011 ; Maravic et *al.*, 2014), lacs et rivières  
47 (Zurfluh et *al.*, 2013) , sols et végétaux (Ben et *al.*, 2015). Le réservoir de gènes de  
48 résistance dans l'environnement est constitué d'un mélange de déterminants de la  
49 résistance naturelle, ceux apportés par les rejets d'animaux et humains et les effets sélectifs  
50 de polluants, qui peuvent co-sélectionner des éléments génétiques mobiles portants de  
51 multiples gènes de résistance (Wellington et *al.*, 2013).

52 Ainsi, l'Homme peut être exposé à ces bactéries résistantes, soit par  
53 l'approvisionnement alimentaire à partir des animaux d'élevages traités et des poissons  
54 exposés aux produits pharmaceutiques rejetés dans les eaux, soit intentionnellement  
55 (traitements de l'aquaculture) ou non intentionnellement, le contact direct avec des  
56 animaux ou plus indirectement, par des voies environnementales comme la contamination  
57 de l'eau et du sol par les résidus d'antibiotiques (Da Costa et *al.*,2013 ; Wellington et  
58 *al.*,2013).

59 Habituellement, la faune sauvage n'est pas exposée aux antibiotiques, mais peut  
60 acquérir des bactéries résistantes aux antimicrobiens par le contact avec les humains, les  
61 animaux et l'environnement, incluant l'eau polluée par des matières fécales qui semble être  
62 le vecteur le plus important de contamination (Radhouani et *al.*, 2014). La résistance aux  
63 antibiotiques chez les bactéries d'origine animale et son potentiel zoonotique a attiré une  
64 attention considérable dans le monde entier (Allen et *al.*, 2010 ; Loncaric et *al.*, 2013).

65 Toutes les études publiées sur la faune sauvage ont identifié que les BLSE de type  
66 CTX-M sont les plus importantes, avec une prédominance des CTX-M du groupe 1 et du  
67 groupe 9, suivis par les BLSE du groupe 2. Outre la famille des CTX-M, les BLSE de type  
68 SHV-like (-5,-12) , TEM-like (-20,-52) ont été également détectées (Guenther et *al.*, 2011).  
69 Les données actuelles sur les entérobactéries productrices de BLSE chez les animaux  
70 sauvages révèlent que le portage de ces souches multi-résistantes est très répandu chez  
71 plusieurs populations sauvages comme la sauvagine, les oiseaux de proie et les  
72 rongeurs...etc.. et cela même si elles n'ont jamais été exposées en permanence aux  
73 antibiotiques. Cela contredit clairement la présomption que la résistance pourrait tendre  
74 vers une valeur nulle avec l'absence de traitement d'antibiotique seul (Guenther et *al.*,  
75 2011). Par conséquent, ces animaux peuvent constituer un sérieux problème pour la santé  
76 humaine (Radhouani et *al.*, 2014).

77 D'après les études publiées, il semble que les oiseaux sauvages soient les principaux  
78 réservoirs des souches d'*E. coli* productrices de BLSE. En raison de leurs diversités dans  
79 les niches écologiques, et leurs facilités à véhiculer des bactéries humaines et  
80 environnementales, les oiseaux sauvages pourraient agir comme des indicateurs d'activités  
81 humaines. Par conséquent, la migration de ces oiseaux pourrait contribuer à la  
82 dissémination des gènes de résistance dans le monde entier (Peirano et *al.*, 2011). Deux  
83 groupes d'oiseaux semblent être les réservoirs principaux de BLSE : les sauvagines (Poeta  
84 et *al.*, 2008; Bonnedahl et *al.*, 2009 ; 2010; Dolejska et *al.*, 2009; Guenther et *al.*, 2010 ;  
85 Hernandez et *al.*, 2010; Literak et *al.*, 2010; Simoes et *al.*, 2010; Garmyn et *al.*, 2011;  
86 Wallensten et *al.*, 2011) du fait de la pollution fécale de l'eau par des sources humaines ou  
87 animales et les oiseaux de proie (Costa et *al.*, 2006; Pinto et *al.*, 2010;.. Radhouani et *al.*,  
88 2010) qui sont au sommet de la chaîne alimentaire. En raison aussi de leur comportements  
89 synanthropique qui sont probablement plus souvent en contact avec des êtres humains et  
90 les animaux d'élevage. Un autre hôte important semble être les rongeurs avec de nombreux  
91 rapports sur la présence de souches productrices de BLSE provenant de différents pays  
92 (Literak et *al.*, 2009<sub>A</sub> ; Guenther et *al.*, 2010 ; Ho et *al.*, 2011). Ces espèces synantropiques  
93 peuvent facilement ramasser les déchets humains et interagissent souvent avec des  
94 excréments humains dans le système des eaux usées en milieu urbain et peuvent donc  
95 facilement se contaminer avec des bactéries multi-résistantes. Par conséquent, la présence  
96 de souches d'*E. coli* productrices de BLSE est influencée par le type de réservoir (animaux  
97 sauvages) et en outre par leur comportement synanthropique. En d'autres termes, les

98 animaux qui vivent dans les zones urbanisées sont plus susceptibles d'être colonisés par *E.*  
99 *coli* que les animaux vivant dans des zones reculées (Allen et *al.*, 2010; Bonnedahl, 2011).

100 Les entérobactéries ont été isolées un peu partout y compris chez les animaux  
101 sauvages dont l'espèce *E. coli* est la plus fréquente. En effet, cette souche a été rapportée  
102 chez le sanglier (Poeta et *al.*, 2009) et le singe (Wang et *al.*, 2012). Elles ont été isolées  
103 chez d'autres animaux tels que les oiseaux de proie (Pinto et *al.*, 2010), cerf, hibou, renard  
104 (Costa et *al.*, 2006) et également chez les animaux de ferme tels que les bovins (Schmid et  
105 *al.*, 2013 ) ainsi que chez les animaux domestiques (Rubin et Pitout, 2014). En république  
106 tchèque, des souches d'*Enterobacter cloacae* ont été isolées chez les oiseaux sauvages  
107 (Literak et *al.*, 2014). Zou et *al.*, 2010 ont rapporté la présence des souches de *K.*  
108 *pneumoniae* chez le porc.

109 Ces études ont montré également qu'*E. coli* est l'espèce la plus isolée chez ces  
110 animaux. En effet, cette espèce est une bactérie du tractus intestinal, pouvant être soit  
111 commensale ou pathogène causant des infections intestinales ou extra-intestinales chez les  
112 humains et les animaux (Johnson et Russo, 2002; Wirth et *al.*, 2006). L'ubiquité d'*E. coli*  
113 est lié à la colonisation asymptomatique de l'intestin des oiseaux et des mammifères  
114 (Rwego et *al.*, 2008; Schierack et *al.*, 2008). Cette bactérie peut facilement acquérir et  
115 transférer des gènes de résistance (Radhouani et *al.*, 2014). Par conséquent, elle peut être  
116 utilisée comme indicateur de changements dans la résistance aux antibiotiques (Silva et *al.*,  
117 2010).

118 En Algérie, la plupart des travaux rapportant les souches BLSE concernent des  
119 souches cliniques. En effet, plusieurs BLSE ont été rapportées (Ramdani-Bougoussa et *al.*,  
120 2006 ; Touati et *al.*, 2006 ; Messai et *al.*, 2008 ; Ramdani-Bougoussa et *al.*, 2011 ; Touati  
121 et *al.*, 2012 ; Lagha et *al.*, 2014). Concernant la résistance chez les animaux sauvages, une  
122 publication a été trouvée sur Pub Med sur les poissons (Brahmi et *al.*, 2015). Aucun article  
123 n'a été publié sur le singe Magot et le sanglier.

124 Le singe magot est un animal protégé et endémique qui vit dans les montagnes des  
125 pays de l'ouest de la Méditerranée, au Nord de l'Algérie. Le magot est omnivore et sa  
126 nourriture est diversifiée (feuilles, fruits, glands, tubercules, graines, arthropodes) (Nel,  
127 2011). Ces espèces sont menacées en raison principalement de la dégradation de l'habitat  
128 d'origine anthropique (Menard et *al.*, 2014).

129 Le Sanglier est un mammifère endémique, omnivore capable de varier son  
130 alimentation, il consomme un grand nombre de végétaux (tubercules, glands, noix, feuilles,  
131 etc.), de nombreux animaux morts ou vivants (vers, insectes et leurs larves, petits  
132 mammifères, oiseaux et leurs œufs) comme il peut s'attaquer aux petits veaux, agneaux et  
133 autres animaux d'élevage lorsque l'occasion se présente (Wickline, 2014).

134 C'est dans cette optique que nous proposons d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques  
135 ainsi que de caractériser les phénotypes de résistance aux  $\beta$ -lactamines chez des souches  
136 d'entérobactéries isolées des matières fécales du singe magot et sanglier vivant dans les  
137 parcs de Bejaia et Jijel.

138 Afin de développer cet aspect, nous avons adopté la méthodologie suivante :

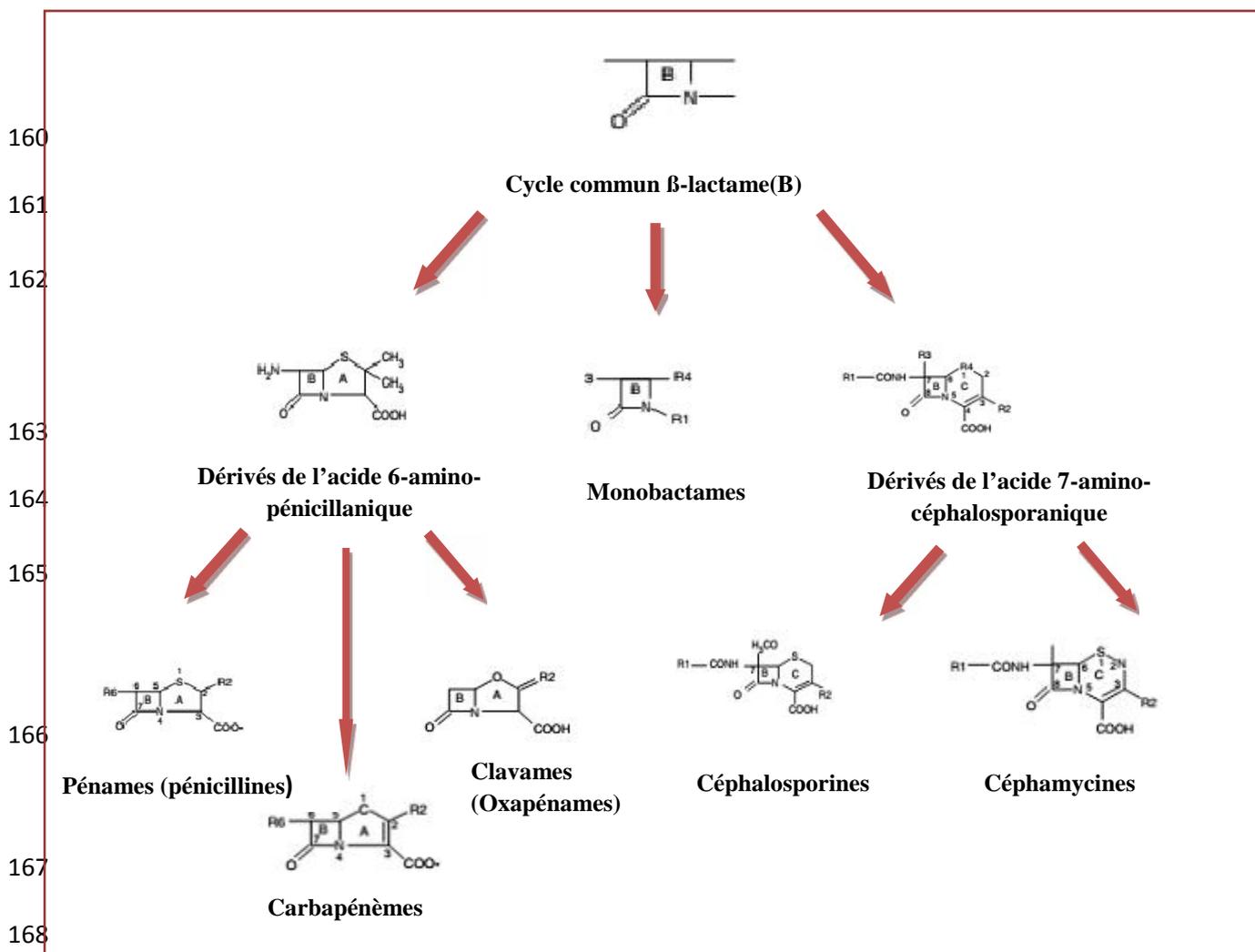
- 139 • Isolement et identification des souches d'entérobactéries résistantes aux C3G à  
140 partir de la matière fécale du singe magot et sanglier.
- 141 • Étude de la sensibilité de ces souches vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines et des autres  
142 familles d'antibiotiques.
- 143 • Caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines.
- 144 • Détermination des concentrations minimales inhibitrices vis-à-vis du  
145 céfotaxime et de la céftazidime.
- 146 • Étude du transfert des gènes de résistance par conjugaison.

167 **1. Entérobactéries et résistance aux  $\beta$ -lactamines**

168 **1.1.  $\beta$ -lactamines**

169 Les  $\beta$ -lactamines sont les antibiotiques les plus utilisés en pratique clinique courante  
 170 (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006) surtout dans le traitement des infections dues  
 171 aux entérobactéries. Ces antibiotiques sont probablement bactéricides et sont caractérisés  
 172 par la présence constante du cycle  $\beta$ -lactame associé à des cycles et des chaînes latérales  
 173 variables (figure 1) (Cavallo et *al.*, 2004).

174 Ces antibiotiques interfèrent avec les étapes finales de la synthèse du peptidoglycane.  
 175 Elles présentent une analogie structurale entre le noyau  $\beta$ -lactame et le dipeptide terminal  
 176 D-alanine-D-alanine du pentapeptide constitutif du peptidoglycane. Leur reconnaissance  
 177 par les transpeptidases et les carboxypeptidases (PLP) aboutit à la fixation du cycle  $\beta$ -  
 178 lactame sur le site actif de ces enzymes cibles provoquant une inhibition de la synthèse du  
 179 peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne (Cavallo et *al.*, 2004).



**Figure 1** : Classification des  $\beta$ -lactamines (Cavallo et *al.*, 2004)

169 **1.2. Les mécanismes de résistance non enzymatique aux  $\beta$ -lactamines**

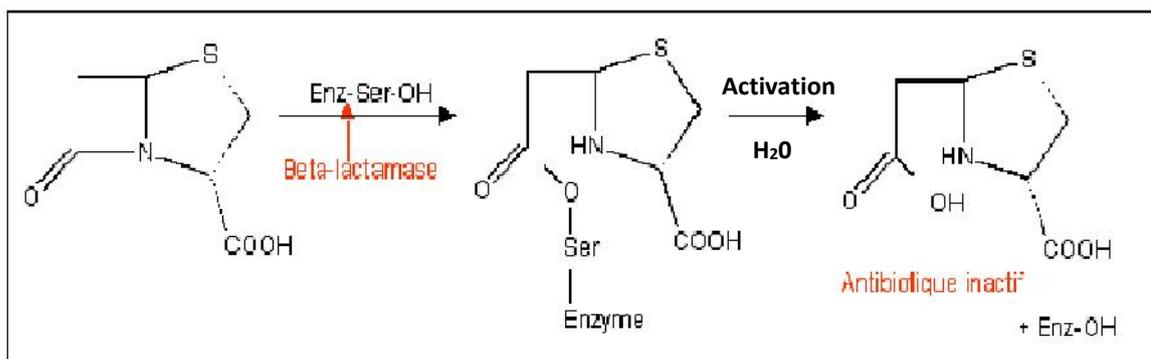
170 Les entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance  
 171 aux  $\beta$ -lactamines. Il peut s'agir de troubles de perméabilité par modification des porines,  
 172 des systèmes d'efflux qui permettent d'expulser les antibiotiques vers l'extérieur, ou de  
 173 modification de la cible bactérienne (exemples : les sites de liaison des pénicillines (PLP)  
 174 empêchant la fabrication de la paroi de la bactérie) (Bonnet, 2004).

175 **1.3. Résistance aux  $\beta$ -lactamines par production de  $\beta$ -lactamases**

176 Les entérobactéries produisent naturellement diverses  $\beta$ -lactamases ce qui permet de  
 177 les classées en groupes phénotypiques de résistance (Bonnet, 2004 ; Robin, 2012) . Le  
 178 tableau I en annexe I donne les différents phénotypes de résistance naturelle aux  $\beta$ -  
 179 lactamines décrites chez les entérobactéries. En plus de la résistance naturelle, les souches  
 180 d'entérobactéries peuvent acquérir d'autres résistances.

181 **1.4. Les  $\beta$ -lactamases**

182 La résistance bactérienne aux  $\beta$ -lactamines est due principalement à la production  
 183 d'enzymes ( $\beta$ -lactamases) capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame (Rodriguez-Villalobos  
 184 et Struelens, 2006) (Figure 2). Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace  
 185 périplasmique chez les bactéries Gram négatives (cavallo et *al.*, 2004).



186  
 187 **Figure 2 : Schéma réactionnel de l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame**

188 Les deux schémas les plus utilisés pour classer les  $\beta$ -lactamases sont ceux d'Ambler  
 189 basés sur l'homologie des séquences des acides aminés (classe A, B, C et D) et celui de  
 190 Bush-Jacoby fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes prenant en compte les  
 191 profils de substrat et d'inhibition (Bush et Jacoby, 2010). Le tableau II en annexe II donne  
 192 la classification de ces enzymes.

193 **1.4.1.  $\beta$ -lactamases à spectre étendu**

194 Les BLSE ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne (Knothe et  
195 *al.*,1983). A l'exception des enzymes de type OXA (classe 2de), les BLSE font partie de la  
196 classe A d'Ambler et du groupe 2be de Bush-Jacoby. Elles sont capables d'hydrolyser les  
197 pénicillines, céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> génération, 4<sup>ème</sup> génération et l'aztréonam.  
198 Par contre, elles restent sensibles aux céphamycines et aux carbapénèmes. Enfin elles sont  
199 inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases tels que l'acide clavulanique (Bush et Jacoby,  
200 2010).

201 **a. BLSE de type TEM**

202 De nombreux mutants dérivés de TEM-1/2 (91 variantes, le 03/06/2015) ont été  
203 identifiés avec un phénotype BLSE ([www.lahey.org/Studies](http://www.lahey.org/Studies)). Bien que fréquemment  
204 retrouvés chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, ces BLSE ont été aussi observées parmi d'autres  
205 espèces d'entérobactéries comme *E. cloacae*, *P. mirabilis* ainsi que chez *P. aeruginosa*.  
206 Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau  
207 de 4 positions de la protéine (positions 104, 164, 238 et 240) (Philippon, 2013). Enfin, de  
208 rares mutants présentent des substitutions propres aux BLSE et aux inhibiteurs (TRI/IRT),  
209 ont été rapportés et nommés *Complex Mutant TEM* (CMT) (Bush et Jacoby, 2010).

210 **b. BLSE de type SHV**

211 Parallèlement, des dérivés ou mutants de SHV-1 (Sulfi hydroxyl variable) ont été  
212 décrits chez *K. pneumoniae*. Les BLSE de type SHV-5 et SHV-12 on été les mutants les  
213 plus fréquemment isolés. Ces BLSE ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries  
214 mais aussi chez *P.aeruginosa*. Comme les variantes de TEM, les substitutions d'acides  
215 aminés dans SHV-1 ont lieu classiquement au niveau de quelques résidus, notamment 238  
216 et 240 (Philippon, 2013). En date du 03/06/2015, il y'a 140 variantes de SHV type BLSE  
217 ([www.lahey.org/Studies](http://www.lahey.org/Studies)).

218 **c. BLSE de type OXA**

219 La famille des BLSE de type OXA groupe 2de, est caractérisée par l'hydrolyse de la  
220 cloxacilline et oxacilline avec un spectre étendu qui comprend les oxyimino- -lactamines,  
221 mais pas les carbapénèmes. Il y'a 21 variantes BLSE en date du 03/06/2015  
222 ([www.lahey.org/Studies](http://www.lahey.org/Studies)). La plupart des enzymes sont dérivées des OXA-10 par 1 à 9

223 substitutions d'acides aminés et comprennent des enzymes telles que OXA-11 et OXA-15.  
224 Elles sont le plus souvent décrites en Turquie et en France dans les isolats de *P.*  
225 *aeruginosa* (Bush et Jacoby, 2010).

#### 226 **d. BLSE DE TYPE GES**

227 Les BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum Beta-lactamase) sont de plus en  
228 plus rapportées chez les entérobactéries et notamment chez *P. aeruginosa*. La  $\beta$ -lactamase  
229 GES-1 a été initialement décrite chez une souche de *K. pneumoniae* isolée en 1998 en  
230 France puis en Argentine, au Brésil, au Portugal et aux Pays-Bas. Il y'a 26 variantes BLSE  
231 en date du 03/06/2015 ([www.lahey.org/Studies](http://www.lahey.org/Studies)). A noter que, contrairement à la plupart  
232 des BLSE, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et par une unique mutation, GES-2 est le  
233 première exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes  
234 (Philippon, 2013).

#### 235 **e. BLSE de type CTX-M**

236 Actuellement (03/06/2015), le nombre des  $\beta$ -lactamases de type CTX-M identifié est  
237 de 169 variantes alléliques (<http://www.lahey.org/Studies/other.asp#table1>) qui confèrent  
238 des niveaux de résistance plus élevés à la céfotaxime qu'à la ceftazidime et qui peuvent  
239 être classées en sept groupes phylogéniques majeurs en se basant sur leurs séquences  
240 génétiques (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25, CTX-M-74 et CTX-  
241 M-75) (Lahlaoui et *al.*, 2014).

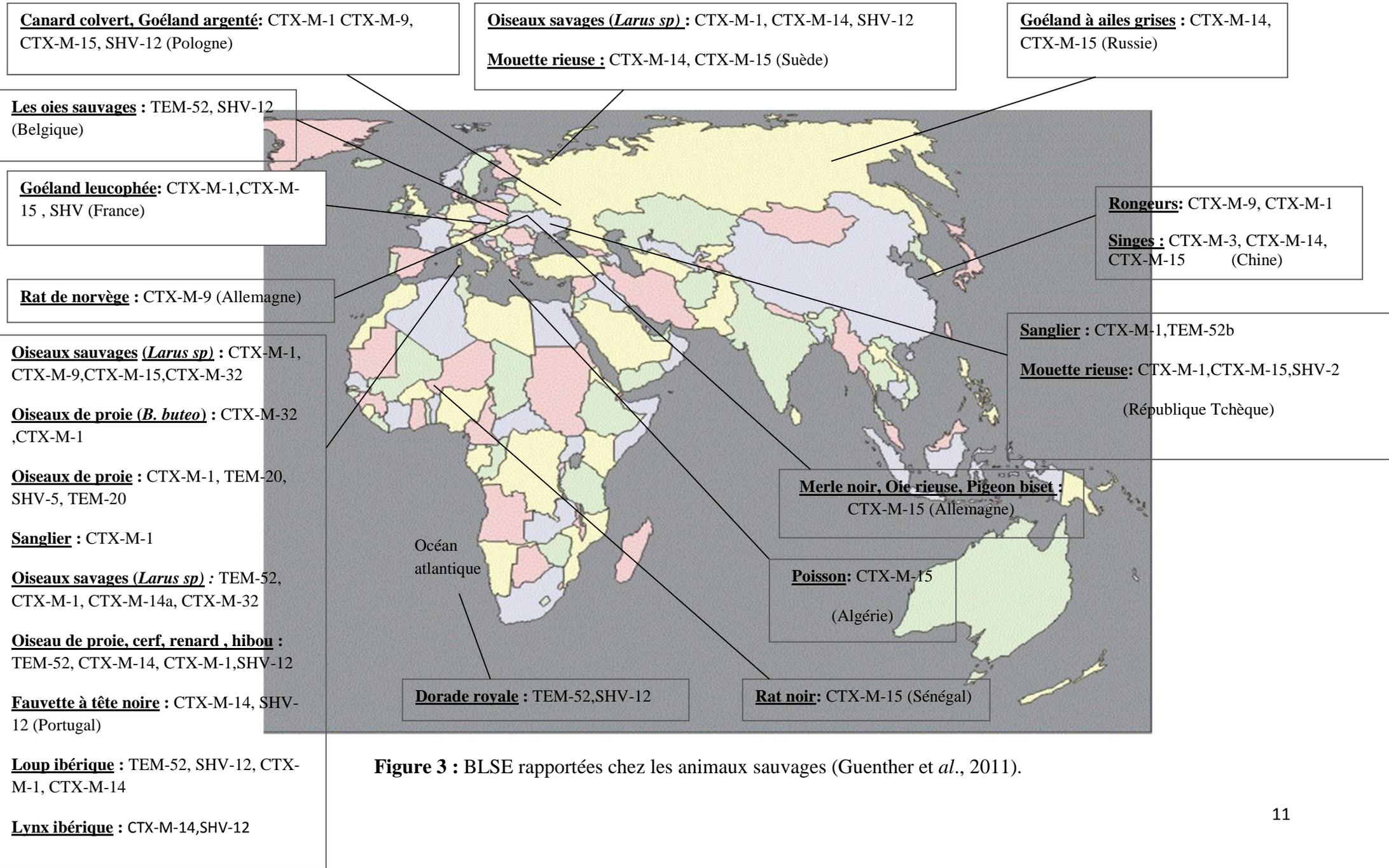
#### 242 **f. BLSE décrites chez les animaux**

243 Les animaux d'élevage et les animaux de compagnie sont de plus en plus reconnus  
244 comme un réservoir pour les souches d'entérobactéries productrices de BLSE notamment  
245 les CTX-M (Mesa et *al.*, 2006). Le tableau III résume les BLSE rapportées chez les  
246 animaux d'élevage et les animaux de compagnie.

247 **Tableau III** : BLSE rapportées chez les animaux de compagnie et d'élevage.

Références	$\beta$ -lactamase	Animal	Pays
Carattoli et <i>al.</i> , 2005	CTX-M-1 ; SHV-12	Chien, chat	Italie
Meunier et <i>al.</i> , 2006	CTX-M-1, CTX-M-15	bovins, porc, volaille	France
Vo et <i>al.</i> , 2007	CTX-M-1	Chevaux	Pays-bas
O'Keefe et <i>al.</i> , 2010	CTX-M-14,15 ; SHV-12	Chien, chat	Etats unis
Dos Santos et <i>al.</i> , 2012	CTX-M-15	Poulain	Brazil
Sallem et <i>al.</i> , 2013	CTX-M-1	Chien, chat	Tunisie
Schmid et <i>al.</i> , 2013	CTX-M-1,2,9	Bovins	Allemagne
Rocha-Gracia et <i>al.</i> , 2015	CTX-M-15	Chien	Mexique

248 De même, plusieurs auteurs ont rapporté également la présence de plusieurs types de  
 249 BLSE chez les animaux sauvages un peu partout dans le monde avec une prédominance  
 250 des BLSE de type CTX-M (Figure 3, tableau IV en annexe III).



**Figure 3 :** BLSE rapportées chez les animaux sauvages (Guenther et al., 2011).

249 **1.4.2. Céphalosporinase AmpC**

250 Les céphalosporinases de type AmpC sont des beta-lactamases appartenant à la  
251 classe C d'Amblar et au groupe 1 selon la classification de Bush et Jacoby (Bush et  
252 Jacoby, 2010). Ces enzymes sont principalement chromosomiques chez plusieurs espèces  
253 d'entérobactéries où elles confèrent une résistance à la plupart des pénicillines et à leurs  
254 associations aux  $\beta$ -lactamines inhibitrices, C1G, C2G et C3G, aux céphamycines et de  
255 manière variable à l'aztréonam (Jacoby, 2009). Les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases tels que  
256 l'acide clavulanique, sont faiblement actifs sur ces enzymes, et sont par contre inhibées par  
257 la cloxacilline (Jacoby, 2009). Dans certains cas, ces enzymes peuvent être hyperproduites  
258 suite à des mutations au niveau du gène *ampD* (Jacoby, 2009).

259 Les céphalosporinases plasmidiques transmissibles sont généralement exprimées de  
260 manière constitutive et ont été observées chez la plupart des entérobactéries, y compris  
261 chez les espèces dépourvus du gène *bla<sub>ampC</sub>* (Jacoby, 2009). Loncaric et al., 2013 et Literak  
262 et al., 2014 ont rapporté la présence des souches d'*E. coli* productrices de CMY-2 et les  
263 souches d'*E. cloacae* producteurs d'ACT chez les oiseaux sauvages.

264 **1.4.3. Carbapénèmases**

265 Les carbapénèmases sont identifiées de façon croissante chez les entérobactéries  
266 dans le monde entier (Nordmann et Carrer, 2010). Ces enzymes sont des  $\beta$ -lactamases à  
267 large spectre d'hydrolyse qui inactivent presque toutes les bêta-lactamines, y compris les  
268 carbapénèmes. Trois classes de carbapénèmases ont été retrouvées chez les entérobactéries  
269 : les carbapénèmases de classe A (KPC), les carbapénèmases de classe D. dont l'enzyme  
270 OXA-48 qui est la seule actuellement décrite chez les entérobactéries et les  
271 carbapénèmases de classe B (VIM, IMP, NDM) (Nordmann et Carrer, 2010). En 2008, la  
272 première NDM-1 a été décrite chez *K. pneumoniae* en Inde. Depuis lors, cette  
273 carbapénèmase est le centre d'attention en raison de sa diffusion rapide chez les  
274 entérobactéries dans le monde entier (Dortet et al., 2014). Fischer et al., 2013 ont rapporté  
275 la présence des souches de *Salmonella enterica* hébergeant une NDM-1 chez les oiseaux  
276 sauvages.

277 **1. Prélèvements**

278 Des échantillons de selles ont été recueillis, dans des flacons, durant la période de  
279 janvier à mars 2015. Ces prélèvements provenant d'animaux sauvages (singe magot et  
280 sanglier) ont été effectués au niveau du parc national de Gouraya à Bejaia et au niveau du  
281 parc national de TAZA à Jijel puis acheminés au laboratoire d'écologie microbienne de  
282 l'université de Bejaia pour être analysés.



283

284 **Figure 4 : Sites de prélèvements**

285 **2. Isolement et identification**

286 A l'aide d'un écouvillon, une se de selle a été prélevée. L'écouvillon est ensuite  
287 introduit dans 5ml de bouillon nutritif. Après incubation à 37°C pendant 18 à 24h, deux  
288 géloses de Mac Conkey additionnées respectivement de vancomycine (8µg/ml) +  
289 céftazidime (01 µg/ml) et vancomycine (8µg/ml) + imipenème (0.5µg/ml) ont été  
290ensemencées avec 200µl de culture. Composition des milieux de culture utilisés sont en  
291annexe IV. Après 24h d'incubation à 37°C, 1 à 2 colonies ont été prélevées et purifiées.

292 L'identification des souches d'entérobactéries a été réalisée en effectuant une galerie  
293 biochimique minimale comprenant les milieux suivants : TSI, Urée-Indole, Clark et Lubs,  
294 citrate de Simmons, et eau peptonée exempte d'indole. L'identification des souches a été  
295 confirmée par l'emploi d'une galerie API 20E (Tableau N°V, annexeV). La coloration de  
296 Gram (annexe VI) et le test à l'oxydase (annexe VII) ont été également réalisés comme des  
297 tests complémentaires.

298 **3. Etude de la sensibilité aux antibiotiques**

299 La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de  
 300 l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les  
 301 recommandations du Comité Européen de l'antibiogramme (<http://www.eucast.org>). Les  
 302 antibiotiques testés (Oxoid, Angleterre) sont donnés dans le tableau VI.

303 **Tableau VI :** Antibiotiques testés (CA-SFM\_ EUCAST, 2015).

Antibiotiques	Abréviation	Charge du disque (µg)	Famille	Diamètres critiques		Marque
				S	R<	
Amoxicilline+ clavulanate	AMC	20+10	β-lactamines	19	19	Oxoid
Ticarcilline	TIC	75		23	23	
Céftazidime	CAZ	30		22	19	
Céfotaxime	CTX	30		20	17	
Céfépime	FEP	30		21	24	
Céfoxitine	FOX	30		19	15	
Imipénème	IMP	10		22	16	
Ertapénème	ETP	10		25	22	
*Tétracycline	TET	30	Tétracyclines	19	17	
Acide nalidixique	NAL	30	Quinolones	19	14	
Gentamicine	GEN	10	Aminosides	17	14	

304 \*CA-SFM 2013

305 **4. Recherche de la production de β-Lactamases à Spectre Etendu**

306 La production d'une β-Lactamase à Spectre Etendu a été détectée par le DD-test qui  
 307 consiste à déposer des disques de céftazidime (30µg), céfotaxime (30µg), céfépime (30µg) et  
 308 d'aztréonam (30µg) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline-  
 309 clavulanate (20/10 µg). La présence d'une BLSE se traduit par l'apparition d'une image de  
 310 synergie entre les disques d'oxymino-β-lactamines et le disque d'amoxicilline-clavulanate  
 311 (Jarlier et *al.*, 1988).

312 **5. Recherche de la production de carbapénémases**

313 Un disque d'imipénème est déposé au centre d'une boîte de Mac conkey (MC)  
314 préalablement ensemencée avec une souche d'*Escherichia coli* ATCC 25922. Ensuite, les  
315 souches à tester sont ensemencées sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du  
316 disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte en présence d'un témoin positif et  
317 d'un autre négatif (Hodge et *al.*, 1978) . Après 24h d'incubation à 37 °C, le test de Hodge  
318 est interprété comme positif par la présence d'une distorsion de la zone d'inhibition à  
319 l'intersection entre une strie et la culture d'*E.coli*. La présence d'une carbapénémase a été  
320 confirmée par l'utilisation du carba NP test modifié (annexeVIII).

321 **6. Détermination des Concentrations minimales inhibitrices**

322 Les CMI de toutes les souches vis-à-vis du CTX et CAZ ont été déterminées par la  
323 méthode de dilutions en gélose Mueller Hinton selon les recommandations de l'EUCAST  
324 2000 (EUCAST, 2000).

325 La solution mère a été préparée à une concentration initiale de 10240 mg/l en  
326 utilisant une poudre pour solution injectable. Le volume du solvant (eau distillée stérile) a  
327 été calculé suivant la formule suivante :

328 Masse de la poudre d'ATB=  $\frac{\text{Volume du solvant (ml)} * \text{la concentration (mg/L)}}{\text{Pureté de la poudre (Mg/g)}}$   
329

330 Les différentes concentrations en antibiotiques testées ont été préparées suivant le  
331 tableau VII.

332

333

334

335

336

337

338

339

340 **Tableau VII** : Préparation de la gamme d'antibiotiques.

Solution initiale (mg/L)	Solution mère (ml)	Volume de diluant	Concentration	
			Obtenue (mg/L)	Finale (mg/L) Dans le milieu
10240	1	1	5120	256
10240	1	3	2560	128
2560	1	1	1280	64
2560	1	3	640	32
2560	1	7	320	16
320	1	1	160	8
320	1	3	80	4
320	1	7	40	2
40	1	1	20	1

341

342 Une série de boîtes de Pétri a été préparée en additionnant 1ml de chaque dilution  
343 d'antibiotique à 19ml de gélose Mueller Hinton en surfusion.

344 Trois à cinq colonies ont été prélevées à partir d'une culture pure afin de préparer  
345 une suspension bactérienne équivalente à 0.5 Mc Farland ( $10^8$  UFC/ml) et une dilution de  
346  $10^{-2}$  a été préparée à partir de cette suspension. Un volume de 10 $\mu$ l de cette dilution (soit un  
347 inoculum de  $10^4$ UFC/spot) a été déposé en spot sur la surface des géloses. Après séchage  
348 à température ambiante, les boîtes sont incubées à 37°C/18-24H.

349 La CMI correspond à la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber  
350 complètement toute croissance visible à l'œil nu. La présence d'une colonie dans la zone  
351 inoculée n'est pas prise en considération (EUCAST., 2000).

## 352 **7. Conjugaison**

353 Le transfert par conjugaison a été réalisé en utilisant la souche d'*E. coli* J52 résistante  
354 à l'azide de sodium comme souche réceptrice.

- 355 ➤ La souche réceptrice et les souches donatrices ont étéensemencées respectivement  
356 sur gélose Luria additionnée de ceftazidime et d'azide de sodium et incubées à  
357 37°C pendant 18h ;
- 358 ➤ Les souches donatrices et la souche réceptrice ont été cultivées dans 10ml de  
359 bouillon Luria et incubées à 37°C pendant 18h sous agitation ;
- 360 ➤ Une dilution au 1/50ème a été faite en ensemençant 200µl de la culture dans 10ml  
361 de bouillon Luria neuf puis incubé à 37°C/4h sans agitation ;
- 362 ➤ Un volume de 500µl de la culture de la souche donatrice, 2000µl de la culture de la  
363 souche réceptrice et 1ml du bouillon Luria (rapport 1 :4) ont été mélangés dans un  
364 récipient, puis incubés pendant 3h à 37°C sans agitation;
- 365 ➤ Un volume de 200µl du mélange, de la dilution  $10^{-1}$  et de la dilution  $10^{-2}$  a été étalé  
366 avec un râteau étaleur sur la surface des boites de sélection contenant la gélose  
367 Luria (annexe IV) additionnée de céftazidime (4µg/ml) et d'azide de sodium  
368 (200µg/ml) puis incubés à 37°C pendant 18h ;
- 369 ➤ L'étude de la résistance des transconjugants aux antibiotiques a été réalisée par la  
370 méthode de l'antibiogramme standard.

## 371 **8. Analyse statistique**

372 Le test Khi-deux a été utilisé pour comparer des données de nature qualitative  
373 (Sensible-Résistant) des deux populations (singe et sanglier) isolées des deux régions  
374 d'étude (Bejaia et Jijel). Les différences sont considérées significatives pour *p* valeur  
375 inférieure à 0,05.

376 **1. Résultats des prélèvements des populations étudiées**

377 Durant la période de notre étude, 161 prélèvements ont été étudiés, dont 80  
 378 prélèvements ont été effectués à Bejaia (Cap Carbon, Les Aiguades, Tichy, Pic des singes,  
 379 les Oliviers et Sidi Aissa) et 81 prélèvements réalisés à Jijel (Ain djnene, secteur Aftis, Dar  
 380 El-Oued). Le tableau VIII montre le nombre de prélèvements effectués par animal à Bejaia  
 381 et Jijel.

382 **Tableau VIII : Nombre de prélèvements par animal à Bejaia et Jijel.**

Animal Lieu	Singe magot	Sanglier	Total
Bejaia	51	29	80
Jijel	39	42	81
<b>Total</b>	90	71	<b>161</b>

383

384 **2. Souches bactériennes**

385 Au total, 37 souches d'entérobactéries ont été isolées sur gélose Mac Conkey  
 386 additionnée de céftazidime ou d'imipénème (36 souches sur gélose CAZ et 1 souche sur  
 387 gélose IMP).

388 L'identification des souches a permis de souligner qu'*E. coli* est l'espèce la plus  
 389 fréquemment isolée avec un taux de 48,65% (18/37) suivie par *K. pneumoniae* et *E.*  
 390 *cloacae* avec des taux de 43,24% (16/37) et 8,11% (3/37) respectivement. Il est à noter que  
 391 30 souches ont été isolées du sanglier contre 7 souches chez le singe. Le tableau IX ci-  
 392 dessous montre la répartition des souches résistantes par région.

393 **Tableau IX : Répartition des souches par région.**

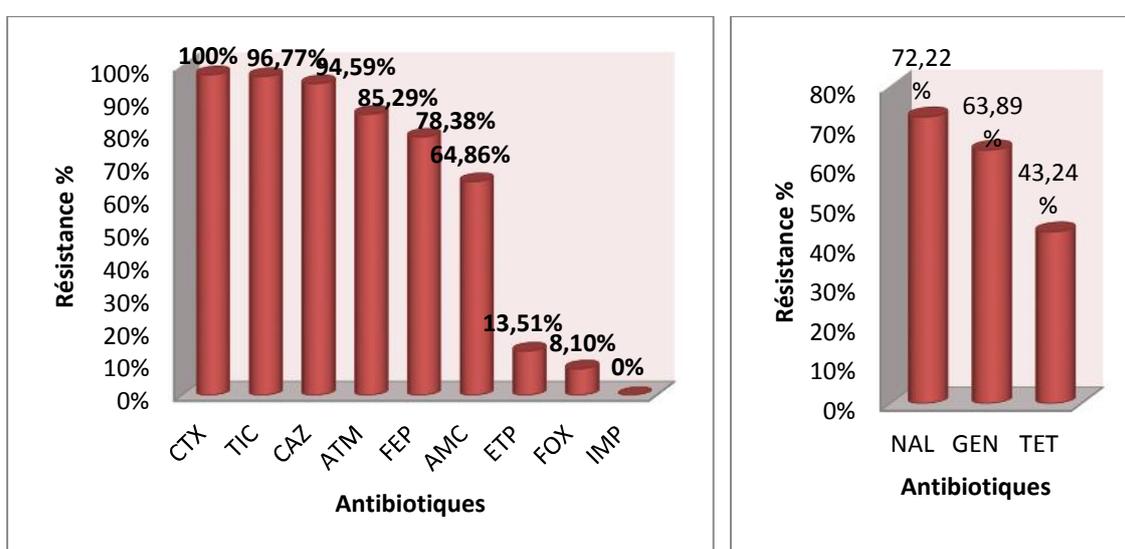
Animal/zone souche	Singe		Sanglier		Total
	Bejaia	Jijel	Bejaia	Jijel	
MC + IMP	1	0	0	0	1
MC+ CAZ	1	5	17	13	36
<b>Total</b>	7		30		<b>37</b>

396 **3. Sensibilité des souches aux antibiotiques**

397 **3.1. Taux de résistance des souches aux antibiotiques**

398 Les diamètres des zones d'inhibition (mm), ainsi que les profils de résistance des  
399 souches sont donnés dans le tableau X en annexe VIII.

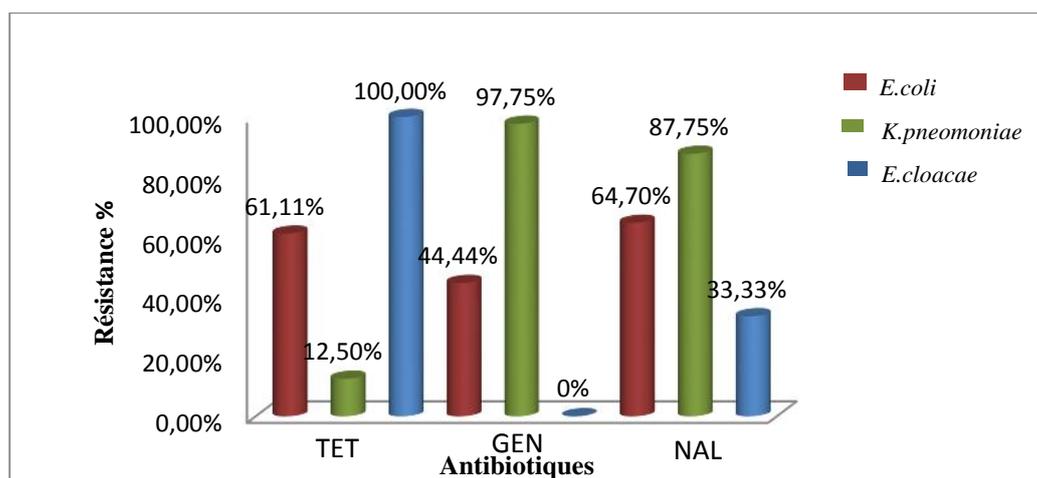
400 D'après la figure 5, on observe des taux de résistance élevés aux différentes -  
401 lactamines testées, allant de 8,10% pour la céfoxitine à 100% pour la céfotaxime.  
402 Cependant aucune résistance n'est observée pour l'imipénème. Concernant les autres  
403 antibiotiques, on observe des taux de résistance élevés aux trois antibiotiques testés.



404  
405 **Figure 5 :** Taux de résistance des souches aux β-lactamines (à gauche) et aux autres  
406 antibiotiques (à droite).

407 **3.2. Taux de résistance des espèces d'entérobactéries aux antibiotiques**  
408 **autres que les -lactamines**

409 Concernant la tétracycline, on note que toutes les souches d'*E. cloacae* sont  
410 résistantes, suivie par *E. coli* (61.11%). Pour la gentamicine, on observe que 97.75%  
411 des souches de *K. pneumoniae* sont résistantes tandis qu'aucune souche d'*E. cloacae*  
412 n'a été retrouvée résistante. Pour l'acide nalidixique, les taux de résistance sont de  
413 87.57% pour *K. pneumoniae*, 64.70% pour *E. coli* et 33.83% pour *E. cloacae*.



414

415 **Figure 6 :** Taux de résistance des espèces d'entérobactéries aux antibiotiques autres que  
 416 les -lactamines.

417 ❖ **Résultats de l'étude statistique**

418 Le test khi-deux conclut une différence significative entre les taux de résistance  
 419 observés chez :

- 420 • Le sanglier et le singe de Bejaia ;
- 421 • Le sanglier et le singe de Jijel ;
- 422 • Le sanglier de Bejaia et Jijel ;
- 423 • Le sanglier et le singe des deux villes(Bejaia+Jijel).

424 Tandis que les taux de résistance sont statistiquement équivalent chez le singe entre  
 425 les deux villes et au niveau des deux villes par rapport au deux animaux (singe+sanglier)  
 426 (Tableau XI).

427 **Tableau XI:** Résultats de l'étude statistique.

		Nbre de souches résistantes	Nbre de souches sensibles	P valeur
<b>Bejaia</b>	<b>Sanglier</b>	17	12	p=0,00000
	<b>Singe</b>	2	49	
<b>Jijel</b>	<b>Sanglier</b>	13	29	p=0,04985
	<b>Singe</b>	5	34	
<b>Singe</b>	<b>Bejaia</b>	2	49	p= 0,11828
	<b>Jijel</b>	5	34	
<b>Sanglier</b>	<b>Bejaia</b>	17	12	p=0,02034
	<b>Jijel</b>	13	29	
<b>Bejaia+jijel</b>	<b>Singe</b>	7	83	p=0,00000
	<b>Sanglier</b>	30	41	
<b>Singe+sanglier</b>	<b>Bejaia</b>	19	61	P=0,81779

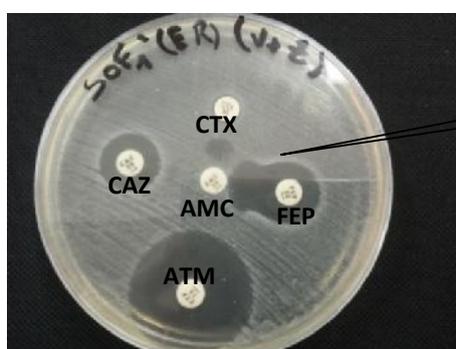
	<b>Jijel</b>	18	63	
<b>Bejaia+Jijel</b>	<b>Singe</b>	7	83	P=0,00000
	<b>Sanglier</b>	30	41	
<b>Singe+Sanglier</b>	<b>Bejaia</b>	19	61	P=0,81779
	<b>Jijel</b>	18	63	

428

429 **4. Analyse des phénotypes de résistance**

430 **4.1.DD-test**

431 Une image de synergie a été observée chez les 37 souches d'entérobactéries isolées  
 432 du sanglier et du sanglier indiquant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces  
 433 souches (figure7).



434

435 **Figure 7 :** Image d'un DD-test positif sur gélose Muller Hinton pour la souche B003.

436 **4.2.Test de Hodge**

437 Au cours de notre étude, aucune souche productrice de carbapénémase n'a été  
 438 obtenue.

439 **5. Détermination des concentrations minimales inhibitrices**

440 Les résultats des CMI sont rapportés dans le tableau XII. D'après le tableau, nous  
 441 constatons que les CMI du CTX sont variables allant de 2 à 128µg/ml et 25 souches ont  
 442 une CMI >32µg/ml, alors que les CMI de la CAZ sont comprises entre 8 et 32 µg/ml dont  
 443 la plupart des souches (19 souches) ont une CMI de 16 µg/ml. Ces résultats indiquent un  
 444 phénotype probable de BLSE de type CTX-M.

445

446

447

448 **Tableau XII** : Résultats des CMI des souches d'entérobactéries testées.

<b>Animal</b>	<b>Singe</b>		<b>Sanglier</b>		<b>Total</b>	
<b>Concentrations</b>	<b>CTX</b>	<b>CAZ</b>	<b>CTX</b>	<b>CAZ</b>	<b>CTX</b>	<b>CAZ</b>
<b>1</b>	00	00	00	00	00	00
<b>2</b>	00	00	01	00	01	00
<b>4</b>	00	00	00	00	00	00
<b>8</b>	00	02	01	09	01	11
<b>16</b>	00	04	03	15	03	19
<b>32</b>	02	01	04	05	06	06
<b>64</b>	04	00	14	00	18	00
<b>128</b>	01	00	06	00	07	00
<b>256</b>	00	00	00	00	00	00

449 **6. Transfert par conjugaison**

450 Le transfert par conjugaison a été obtenu pour les souches d'*E. cloacae* (B001),  
 451 *Escherichia coli* (B008, B017) et *K. pneumoniae* (B016, B024, M032, M034). Les résultats  
 452 de l'antibiogramme et des CMI réalisés sur les transconjugants obtenus sont résumés dans  
 453 le tableau XIII suivant :

454

455

456

457

458

459

460

461

462 **Tableau XIII** : Diamètres des zones d'inhibition obtenus pour les transconjugants, leurs  
 463 profils de résistance aux antibiotiques ainsi que leurs CMI.

souche	Antibiotiques							CMI	
	FEP	FOX	CAZ	CTX	ERT	NA	TE	CTX	CAZ
<b>B001</b>	25 (S)	5 (R)	11 (R)	12 (R)	25 (S)	20 (S)	5 (R)	8	16
<b>TC- 01</b>	34 (S)	5 (R)	13 (R)	16 (R)	34 (S)	25 (S)	24 (S)	32	64
<b>B008</b>	17 (R)	28 (S)	17 (R)	7 (R)	29 (S)	22 (S)	25 (S)	64	16
<b>TC-08</b>	35 (S)	25 (S)	18 (R)	10 (R)	31 (S)	25 (S)	24 (S)	64	4
<b>B016</b>	20 (R)	24 (S)	20 (I)	5 (R)	29 (S)	18 (I)	26 (S)	32	16
<b>TC-16</b>	17 (R)	22 (S)	17 (R)	6 (R)	35 (S)	24 (S)	29 (S)	64	32
<b>B017</b>	21 (R)	21 (S)	20 (I)	5 (R)	28 (S)	NT	5 (R)	64	8
<b>TC-17</b>	14 (R)	23 (S)	17 (R)	9 (R)	29 (S)	NT	5 (R)	32	8
<b>B024</b>	17 (R)	21 (S)	19 (I)	9 (R)	27 (S)	18 (I)	25 (S)	64	8
<b>TC-24</b>	20 (R)	23 (S)	20 (I)	10 (R)	38 (S)	27 (S)	33 (S)	64	16
<b>M032</b>	16 (R)	20 (S)	18 (R)	10 (R)	29 (S)	5 (R)	5 (R)	64	32
<b>TC-32</b>	24 (S)	21 (S)	16 (R)	16 (R)	27 (S)	12 (R)	31 (S)	16	32
<b>M034</b>	25 (S)	23 (S)	21 (I)	12 (R)	30 (S)	16 (I)	24 (S)	64	8
<b>TC-34</b>	24 (S)	23 (S)	16 (R)	8 (R)	35 (S)	23 (S)	26 (S)	64	32

464 **TC** : transconjugant, **R** : résistant, **I** : Intermédiaire, **S** : Sensible, **NT** : Non testé

465 D'après le tableau ci-dessus, nous remarquons que les déterminants de la résistance  
 466 aux -lactamines ont été transférés et ceux de la résistance à l'acide nalidixique (TC-32) et  
 467 à la tétracycline (TC-17).

468 En Algérie, les caractéristiques d'antibiorésistance en général et des BLSE en  
469 particulier des souches bactériennes provenant d'animaux, ont jusqu'à présent, étaient très  
470 peu décrites (Meguenni et *al.*, 2012) . En effet, concernant la résistance chez le singe  
471 Magot, aucun article n'a été retrouvé sur Pubmed et uniquement deux articles sur la  
472 résistance chez le sanglier ont été rapportés dans le monde.

473 Les entérobactéries peuvent facilement diffuser dans les différents écosystèmes par  
474 le biais de la chaîne alimentaire et de l'eau. L'émergence et la diffusion de la résistance  
475 chez les entérobactéries représentent une sérieuse menace pour la santé publique (Santos et  
476 *al.*, 2013).

477 Nos résultats ont montré qu'il existe un taux d'antibiorésistance considérable parmi  
478 les souches isolées du sanglier et du singe magot, car ils montrent un niveau de résistance  
479 très élevé de nos souches vis-à-vis d'antibiotiques majeurs (C3G et C4G) même si, a  
480 priori, ne sont pas sensés avoir reçu de traitements antibiotiques.

481 Dans notre étude, 37 souches d'entérobactéries ont été isolées à partir de 161  
482 prélèvements fécaux (22.98%). 25,35% des souches isolées du sanglier sont des  
483 *Escherichia coli*. Ce taux est supérieur aux 2% rapportés par Literak et *al.*, 2009<sub>B</sub> en  
484 République tchèque et aux 10,4% rapportés par Poeta et *al.*, 2009 au Portugal. Des souches  
485 de *K. pneumoniae* et *E. cloacae* ont également été isolées avec des taux de 12,68% et  
486 4,23% respectivement, cependant aucune de ces souches n'a été décrite dans les deux  
487 études citées ci-dessus.

488 Pour le singe Magot, nous avons enregistré un taux de 7,78% pour les souches de *K.*  
489 *pneumoniae*. Néanmoins, Wang et *al.*, 2012 ont noté des taux de 32% pour les souches  
490 d'*E. coli* chez quatre espèces de singe étudiés (*Macaca arctoides*, *Macaca mulatta*,  
491 *Macaca fascicularis*, *Rhinopithecus roxellana*).

492 Les taux de résistance de nos souches aux -lactamines sont de 97,30% et 78,38%  
493 pour les C3G et C4G respectivement. Nos résultats sont proches de ceux rapportés chez les  
494 oiseaux sauvages par Veldman et *al.*, 2013 avec un taux de 98,45% pour les C3G. En  
495 Chine, Wang et *al.*, 2012 ont rapporté un taux de 39,1% pour les C3G chez les 4 espèces de  
496 singes étudiés.

497 Concernant la famille des carbapénèmes, aucune souche résistante à l'imipénème n'a  
498 été isolée au cours de notre étude. Cependant, un seul rapport de carbapénémase de type

499 NDM-1 produite par *salmonella enterica* a été publié par Fischer et *al.*,2013 chez les  
500 oiseaux sauvages, et aucun autre rapport chez d'autres animaux sauvages n'a été publié à  
501 ce jour.

502 Dans notre étude, la prévalence du portage fécale de souches d'entérobactéries  
503 productrices de BLSE chez le sanglier est de 42.25% (30/71). Nos résultats sont nettement  
504 plus élevés aux 2% rapportés par Literak et *al.*, 2009<sub>B</sub> en République tchèque et aux 10.4%  
505 rapportés par Poeta et *al.*, 2009.

506 Concernant le singe, nous avons rapporté une prévalence de 7.78% (7/90) des souches  
507 d'entérobactéries productrices de BLSE. Nos résultats sont inférieurs aux 26.9% retrouvés par  
508 Pinto et *al.*, 2010 chez les oiseaux de proie et se rapprochent des 4.2% décrits par Sousa et  
509 *al.*, 2011 chez la dorade royale. Wang et *al.*, 2012 ont rapporté une prévalence de 32% chez  
510 quatre espèces de singes en chine.

511 Malheureusement, seuls les outils de biologie moléculaires pourront déterminer  
512 exactement le type de BLSE exprimé par nos souches résistantes aux C3G. Cependant, les  
513 profils de sensibilité aux  $\beta$ -lactamines de nos souches indiquent probablement que ces  
514 souches seraient productrices de BLSE de type CTX-M du fait que les CMI<sub>s</sub> du CTX étaient  
515 très élevées allant jusqu'à 128 $\mu$ g/ml contrairement à celles de la CAZ qui sont 32 $\mu$ g/ml.

516 Des souches d'entérobactéries productrices de BLSE de type CTX-M-1 et TEM-52 ont  
517 été décrites chez le sanglier (Literak et *al.*, 2009<sub>B</sub>; Poeta et *al.*, 2009). Des BLSE de type  
518 CTX-M-3, CTX-M-14, CTX-M-15 ont été trouvées chez quatre espèces de singe en chine  
519 rapportées par Wang et *al.*, 2012. D'autres hôtes semblent être un réservoir pour ces bactéries  
520 multi-résistantes. En effet, des souches d'*E.coli*, et *Klebsiella pneumoniae* productrices de  
521 BLSE appartenant aux groupes TEM, CTX-M, SHV ont été isolées des oiseaux de proie en  
522 Europe et en Australie (Guenther et *al.*, 2009; Pinto et *al.*, 2010; Loncaric et *al.*, 2013;  
523 Bonnedahl et Jarhult, 2014). Un autre hôte important de ces bactéries semble être les  
524 rongeurs sauvages. Au Sénégal, des souches d'*E. coli* productrices de BLSE de type CTX-M-  
525 15 et des souches d'*E. cloacae* producteurs de BLSE de type TEM-52b ont été isolées du rat  
526 noir (Literak et *al.*, 2009<sub>A</sub>). Une étude portugaise a révélé la présence des souches d'*E. coli*  
527 hébergeant les gènes *bla*<sub>TEM-52</sub> et *bla*<sub>CTX-M-14</sub> retrouvés respectivement chez le cerf, renard et  
528 hiboux (Costa et *al.*, 2006). Sousa et *al.*, 2011 ont rapporté la présence des souches d'*E. coli*  
529 productrices de BLSE de type SHV-12 et TEM-52 isolées de la dorade royale. Les mêmes  
530 gènes ont été décrits en clinique. En effet, Il a été rapporté que les CTX-M-15 sont très  
531 répandues dans les isolats hospitaliers chez les souches de *K.pneumoniae*, *E. coli* et  
532 *Enterobacter cloacae* en Algérie (Touati et *al.*, 2006; Touati et *al.*, 2012; Lagha et *al.*, 2014)

533 et dans le monde entier (Edelstein et *al.*, 2003 ; Woodford et *al.*, 2004 ; Jemima et *al.*,2008 ;  
534 Carvalho-Assef et *al.*, 2014).

535 Les BLSE ont également été rapportés dans différents environnements comme le sol, les  
536 eaux, plantes...etc. Des souches d'entérobactéries productrices des CTX-M ont été isolées du  
537 sol, des eaux d'irrigation et des légumes de ferme en Tunisie (Ben et *al.*, 2015). D'autres  
538 études ont rapporté la présence de BLSE produite par les entérobactéries des eaux de surface  
539 (Haque et *al.*, 2014) , des plages publiques à Ain Chorb en Algérie (Alouache et *al.*, 2011) et  
540 en Croatie (Maravic et *al.*, 2014), des eaux usées municipales (Korzeniewska et Harnisz,  
541 2013), et des rivières et lacs (Zurfluh et *al.*, 2013).

542 La résistance des souches d'entérobactéries aux aminosides est de 63,89% pour la  
543 gentamicine. Ces résultats sont plus élevés que ceux décrits par Veldman et *al.*, 2013 chez les  
544 oiseaux sauvages avec un taux de 21,5%. La résistance acquise à cette famille d'antibiotique a  
545 été rapportée également chez d'autres animaux : singe araignée (5%), singe hurleur (13%),  
546 félidés (24%), tapirs (8%) (Cristobal-Azkarate et *al.*, 2014) et oiseaux sauvages (2,78%, 60%)  
547 (Hassan et *al.*, 2012 ; Poirel et *al.*, 2012) . L'utilisation des aminosides a contribué à la  
548 sélection de souches résistantes par différents mécanismes incluant la modification de la cible  
549 ribosomale par mutation ou la méthylation de l'ARNr 16S, diminution de la perméabilité  
550 membranaire, l'altération structurale de la cible ribosomale et l'expulsion de l'antibiotique par  
551 les systèmes d'efflux. Cependant le mécanisme le plus fréquent est la production d'enzymes  
552 modificatrices (Ramirez et Tolmasky, 2010). Il a été noté, qu'en Portugal des gènes de  
553 résistances à la gentamycine « *aac(3)II/aac(3)-IV* » ont été détectés chez les oiseaux de proie  
554 (Pinto et *al.*, 2010).

555 La résistance à l'acide nalidixique observée dans notre étude est élevée avec un taux de  
556 72,22%. Ces résultats se rapprochent de ceux retrouvés chez les oiseaux de proie (87,5%) par  
557 Pinto et *al.*, 2010. Cependant, nos résultats sont plus élevés que ceux notés par Veldman et  
558 *al.*, 2013 chez les oiseaux sauvages. Actuellement quatre mécanismes de résistances sont  
559 connus : mutations de la cible (*gyrA* et *parC*), diminution de l'accumulation intra-  
560 cytoplasmique par diminution de la perméabilité ou augmentation de l'efflux, inactivation  
561 enzymatique et protection des cibles par les protéines QNR (Guan et *al.*, 2013). Poeta et *al.*,  
562 2009 ont rapporté un taux de résistance à l'acide nalidixique de 62,5% chez le sanglier due à  
563 des mutations au niveau du gène *gyrA*.

564 Dans notre étude, la résistance à la tétracycline est de 43,24%. Nos résultats sont plus  
565 importants que ceux retrouvés chez le rat noir et les chauves souris (Literak et *al.*,2009<sub>A</sub>),  
566 chez les cervidés et sanglier en Europe central (Literak et *al.*,2009<sub>B</sub>) et chez le sanglier au  
567 Portugal (Poeta et *al.*,2009). Cristobal-Azkarate et *al.*,2014 ont rapporté un taux de 24% chez  
568 les félidés, 35% chez le singe araignée et 43% chez le singe hurleur. La résistance à cette  
569 famille d'antibiotique se manifeste par trois mécanismes : réduction des concentrations  
570 intracellulaires de l'antibiotique par augmentation de l'efflux, protection des ribosomes et  
571 inactivation enzymatique (Chopra et Roberts.2001). Literak et *al.*,2009<sub>A,B</sub> ont rapporté la  
572 présence des gènes *tetA* et *tetB* codant pour des pompes efflux chez les animaux cités ci-  
573 dessus.

574 Ces résultats montrent que l'emploi raisonné des antibiotiques n'est pas l'unique  
575 paramètre susceptible de faire décroître l'antibiorésistance. Il faut tenir compte d'autres  
576 facteurs liés aux bactéries elles-mêmes. En effet, ces dernières peuvent acquérir des  
577 déterminants de la résistance sans exposition directe à un antibiotique par transfert horizontal  
578 d'éléments mobiles tels que les plasmides, intégrons et transposons (Radhouani et *al.*, 2014).  
579 Une étude faite par Benavides et *al.*, 2012 sur les babouins sauvages (*Papio cynocephalus*)  
580 dans le parc national d'Amboseli, au Kenya, ont montré que dans de nombreux cas la  
581 résistance était portée par un plasmide et que ce dernier est transférable. Ces données  
582 suggèrent que les singes vivant a proximité des lieux touristiques ont une plus grande  
583 proportion de bactéries résistantes aux antibiotiques que ceux qui ne sont pas en contact  
584 fréquent avec les humains. De plus, Il a été noté qu'à Barcelone, des groupes de sangliers se  
585 nourrissent, défèquent dans les parcs publics, des jardins privés et d'autres espaces verts;  
586 boivent dans des fontaines et piscines et sont habitués aux personnes et aux zones urbaines en  
587 raison de l'abondance de la nourriture fournit directement par les gens ou indirectement dans  
588 des ordures ménagères et autres déchets non contrôlés (cahill et *al.*, 2010). Les bactéries  
589 peuvent également être transmises par les urines infectées et les fèces dans les lieux  
590 fréquentés par les humains et les animaux domestiques. Cette hypothèse ne peut être exclue. Il  
591 a été rapporté par Benavides et *al.*, 2012 à l'Ouganda que la chasse au gibier, l'empiètement  
592 des forêts, les visites quotidiennes par les chercheurs et les touristes augmentent les niveaux  
593 de contacts entre les humains et les animaux sauvages (par exemple, la présence du virus  
594 respiratoire humain chez les chimpanzés et les gorilles). Récemment, il a également été  
595 rapporté que les souches d'*E. coli* isolées de petits mammifères terrestres sauvages vivants  
596 dans des fermes porcines au Canada ont des taux de résistance plus élevés que les souches

597 d'*E. coli* isolées d'environnements naturels, qui sont moins impactés par les activités  
598 humaines et agricoles (Kozak et *al.*, 2009).

599 Nos résultats révèlent que le nombre de souches résistantes aux antibiotiques est plus  
600 important chez le sanglier (42.25%). De même, cette espèce a développé une résistance plus  
601 élevée à Béjaia (58.62%) qu'à Jijel (30.95%). Egalement, les résultats des différents tests de  
602 résistance aux antibiotiques chez le singe et le sanglier au niveau des deux régions  
603 échantillonnées tendent globalement vers le même résultat (23,75% à Bejaia et 22.22% à  
604 Jijel). Nous supposons que cela est dû à l'environnement dans lequel évoluent les animaux  
605 étudiés. Le sanglier, pour son alimentation, fréquente des milieux pollués (décharges, dépôts  
606 d'ordures ...). Cependant, il ya eu peu d'attention dirigée vers la quantification de la  
607 transmission bactérienne dans les zones à faible impact humain, qui pourrait servir à élucider  
608 si le motif de la prévalence de pathogènes observés dans la faune sauvage est expliqué par la  
609 transmission de l'homme (Benavides et *al.*, 2012).

610 L'utilisation élevée d'antibiotiques non seulement en médecine humaine, mais aussi en  
611 médecine vétérinaire ou même dans l'agriculture, pourrait constituer une pression sélective  
612 pour la propagation des bactéries résistantes aux antibiotiques. Ceci est devenu une menace  
613 majeure pour la santé humaine et animale dans le monde. Les animaux sauvages peuvent être  
614 considérés comme des contributeurs importants à la diffusion généralisée des gènes de  
615 résistance aux antibiotiques, et représentent un réservoir considérable des souches  
616 d'entérobactéries multi-résistantes productrices de BLSE. Notre étude souligne que  
617 l'utilisation raisonnée des antibiotiques n'est pas suffisante pour mettre fin à l'existence de  
618 germes résistants. En effet, Les bactéries peuvent acquérir des déterminants de la résistance  
619 sans exposition directe à un antimicrobien à travers le transfert horizontal. Cependant, La  
620 connaissance des origines de la résistance aux antimicrobiens dans la faune sauvage est  
621 importante pour la santé humaine en raison de l'importance croissante des maladies  
622 zoonotiques ainsi, que pour la prédiction de l'émergence des pathogènes résistants. Enfin  
623 d'autres études devraient être effectuées pour mieux comprendre le rôle de ces animaux dans  
624 la propagation de ce type de résistance.

625 En perspectives, nos résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et  
626 méritent d'être exploités et complétés par :

- 627 ✓ Une étude épidémiologique pour évaluer de façon précise la distribution de ces -  
628 lactamases qui pourraient émerger encore plus dans le futur ;
- 629 ✓ Etudier l'évolution des facteurs qui contribuent à la sélection et la propagation des  
630 mécanismes de résistance aux antibiotiques ;
- 631 ✓ Etudier les modes de transmission bactérienne entre les humains, les animaux  
632 domestiques et sauvages ;
- 633 ✓ Caractérisation moléculaire de l'environnement génétique des déterminants de la  
634 résistance ainsi que le typage moléculaire des réplicons des plasmides ;
- 635 ✓ Etudier d'une façon approfondie la résistance aux antibiotiques dans différents  
636 habitats naturels pour comprendre pleinement l'importance de la faune sauvage dans la  
637 propagation de la résistance aux antimicrobiens.

**Allen HK, Donato J, Wang H, Cloud-Hansen KA, Davies J, et Handelsman J.** (2010). Call of the wild: antibiotic resistance genes in natural environments. *Nature reviews microbiology*.**8**, 251–259.

**Alouache S, Kada M, Messai Y, Estepa V, Torres C et BakourR.** (2011). Antibiotic Resistance and Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases in Isolated Bacteria from Seawater of Algiers Beaches (Algeria). *Microbes and environment*.**27**, 80-86.

**Ben SL, Jouini A, Klibi N, Dziri R, Alonso CA, Boudabous A, Ben Slama K et Torres C.** (2015). Detection of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* in vegetables, soil and water of the farm environment in Tunisia. *International Journal of Food Microbiology*.**203**, 86-92.

**Benavides JA, Godreuil S, Bodenham R, Ratiarison S, Devos C, Pet-retto M, Raymond M et Escobar-Paramo P.** (2012). No evidence for transmission of antibiotic-resistant *Escherichia coli* strains from humans to Wild Western Lowland Gorillas in Lope National Park. Gabon. *Applied and environmental microbiology*.**78**, 4281–4287.

**Bonnedahl J, Drobni M, Gauthier-Clerc M, Hernandez J, Granholm S, Kayser Y, Melhus A, Kahlmeter G, Waldenstrom J, Johansson A et Olsen B.** (2009). Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M type ESBL between humans and yellow-legged gulls in the south of France. *PLoS ONE***4**, e5958.

**Bonnedahl J, Drobni P, Johansson A, Hernandez J, Melhus A, Stedt J, Olsen B et Drobni M.** (2010). Characterization, and comparison, of human clinical and black-headed gull (*Larus ridibundus*) extended-spectrum beta-lactamase-producing bacterial isolates from Kalmar, on the southeast coast of Sweden. *Journal of antimicrobial and chemotherapy*.**65**, 1939–1944.

**Bonnedahl J.** (2011). Antibiotic Resistance of *Enterobacteriaceae* from Wild Birds. Uppsala: Acta Universitatis Upsaliensis. Suède, pp.641-61

**Bonnedahl J et Järhult JD.** (2014). Antibiotic resistance in wild birds. *Upsala Journal of Medical Sciences*.**119**, 113–116.

**Bonnet R.** (2004). Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. The CTXM enzymes. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*.**48**, 1-14.

- Brahmi S, Dunyach-Rémy C, Touati A et Lavigne JP.**(2015). CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clinical microbiology and infection*.**2**, 18-20.
- Bush K et Jacoby GA.**(2010). Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*.**54**, 969–976.
- Cahill S, Llimona F, Cabañeros L et Calomardo F.** (2012). Characteristics of wild boar (*Sus scrofa*) habituation to urban areas in the Collserola Natural Park (Barcelona) and comparison with other locations. *Animal Biodiversity and Conservation*.**35**, 221–233.
- Carattoli A, Lovari S, Franco ,Cordaro G, Di Matteo P et Battisti A.** (2005). Extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Rome, Italy, from 2001 to 2003. *Antimicrobial agents and chemotherapy*.**49**, 833–835.
- Carvalho-Assef APDA, Pereira PS, Albano RM, Berião GC, Tavares CP, Chagas TPG, Marques EA, Timm LN, Da Silva RCF, Falci DR et Asensi MD.**(2014). Detection of NDM-1-, CTX-M-15-, and *qnrB4*-Producing *Enterobacter hormaechei* Isolates in Brazil. *Antimicrobial agents and chemotherapy*.**58**,2475-2476.
- CA-SFM.** (2013). Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Sur le lien (<http://www.sfm-microbiologie.org>).
- Cavallo JD, Fabre R, Jehl F, Rapp C et Garrabé E.** (2004). Beta-lactam antibiotics. *EMC-Maladies Infectieuses*. **1**, 129–202.
- Chopra I et Roberts M.** (2001). Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*.**65**, 232-260.
- Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Vinue, L., Rojo-Bezares, B., Jouini, A., et al.** 2006. Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M, TEM and SHV classes in faecal samples of wild animals in Portugal. *The journal of antimicrobial and chemotherapy*.**58**, 1311–1312.

**Cristobal-Azkarate J, Dunn JC, Day JMW et Amabile-Cuevas CF.** (2014). Resistance to antibiotics of clinical relevance of the fecal microbiota of Mexican wildlife. PLoS ONE. **9**, e107719.

**Da Costa PM, Loureiro L et Matos AJF.**(2013).Transfer of Multidrug-Resistant Bacteria between Intermingled Ecological Niches: The Interface between Humans, Animals and the Environment. International journal of environmental research and public health, **10**, 278-294.

**Dortet L, Poirel L et Nordmann P.**(2014). Worldwide Dissemination of the NDM-Type Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria. BioMed research international.**2014**, 12.

**Dos Santos LL, Pestana AF, Barbato L, Melo LC, Moura R, Lincopan, N.** (2013). Emergence of extended-spectrum beta-lactamase (esbl)-producing *Escherichia coli* in domestic animals. A. Méndez-Vilas (Eds.). Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education.Brazil.**3**,1600-1607.

**Dolejska M, Biersova B, Kohoutova L, Literak I et Cizek A.** (2009). Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended-spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls. Journal of applied microbiology.**106**, 1941–1950.

**Edelstein M, Pimkin M, Palagin I, Edelstein I et Stratchounski I.** (2003). Prevalence and Molecular Epidemiology of CTX-M Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian Hospitals. Antimicrobial agents and chemotherapy.**47**, 3724-3732.

**EUCAST.**(2000; 2015).European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Sur le lien (<http://www.eucast.org>).

**Ferech M et Coenen S.**(2006). "European Surveillance of Antimicrobial Consumption (ESAC): outpatient antibiotic use in Europe. The journal antimicrobial and chemotherapy.**58**, 401-407.

**Fischer J, Schmoger S, Jahn S, Helmuth R, et Guerra B.** (2013). NDM-1 carbapenemase-producing *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar *Corvallis* isolated from a wild bird in Germany. *The journal of antimicrobial and chemotherapy*. **68**, 2954–2956.

**Garmyn A, Haesebrouck F, Hellebuyck T, Smet A, Pasmans F, Butaye P et Martel A.** (2011). Presence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in wild geese. *The journal of antimicrobial and chemotherapy*. **66**, 1643–1644.

**Gonçalves A, Igrejas G, Radhouani H, Estepa V, Alcaide E, Zorrilla I, et al.** (2012<sub>a</sub>). Detection of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in faecal samples of Iberian lynx. *Letters in applied microbiology*. **54**, 73–77.

**Gonçalves I, Radhouani E, Pacheco M, Brito G, Petrucci-Fonseca T et Patricia P.** (2012<sub>b</sub>). Iberian Wolf as a Reservoir of Extended-Spectrum -Lactamase producing *Escherichia coli* of the TEM, SHV, and CTX-M Groups. *Microbial Drug Resistance*. **18**, 215–219.

**Guan X, Xue X, Liu Y, Wang J, Wang Y, Wang J, Wang K, Jiang H, Zhang L, Yang B, Wang N et Pan L.** (2013). Plasmid-mediated quinolone resistance current knowledge and future perspectives. *The journal of international medical research*. **41**, 20–30.

**Guenther S, Grobbel M, Lubke-Becker A, Goedecke A, Friedrich ND, Wieler L. H, Ewers C.** (2009). Antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* from common European wild bird species. *veterinary microbiology*. **144**, 219–225.

**Guenther S., Grobbel M., Beutlich J., Bethe A., Friedrich N. D., Goedecke A., Luebke-Becker A., Guerra B., Wieler L. H., Ewers C.** (2010<sub>a</sub>). CTX-M-15-type extended-spectrum beta-lactamases-producing *Escherichia coli* from wild birds in Germany. *Environmental microbiology reports*. **2**, 641–6451.

**Guenther S, Grobbel M, Beutlich J, Guerra B, Ulrich RG, Wieler LH et Ewers C.** (2010<sub>b</sub>). Detection of pandemic B2-O25-ST131 *Escherichia coli* harbouring the CTX-M-9 extended-spectrum beta-lactamase type in a feral urban brown rat (*Rattus norvegicus*). *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. **65**, 582–584.

**Guenther S, Ewers C etWieler LH.**(2011). Extended-spectrum beta-lactamases producing *E.coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution?Frontiers in microbiology.**2**, 246.

**Haque A, Yoshizumi A, Saga T, Ishii Y, Tateda K.**(2014). ESBL-producing *Enterobacteriaceae* in environmental water in Dhaka, Bangladesh.The journal of infection and chemotherapy.**20**, 735–737.

**Hasan B, Sandegren L, Melhus A, Drobni M, Hernandez J,Waldenström J, Alam, M et Olsen B.**(2012). Antimicrobial Drug Resistant *Escherichia coli* in Wild Birds and Free-range Poultry, Bangladesh.Emerging infectious diseases.**18**, 2055-2058.

**Hernandez J, Bonnedahl J, Eliasson I, Wallensten A, Comstedt P, Johansson A, Granholm S, Melhus A, Olsen B, Drobni M.**(2010). Globally disseminated human pathogenic *Escherichia coli* of O25b-ST131 clone, harbouring blaCTX-M-15, found in glaucous-winged gull at remote Commander Islands, Russia. Environmental microbiology reports.**2**, 329–332.

**Ho PL, Chow KH, Lai EL, Lo WU, Yeung MK, Chan J, Chan PY, Yuen KY.**(2011). Extensive dissemination of CTX-M-producing *Escherichia coli* with multidrug resistance to “critically important” antibiotics among food animals in Hong Kong.The journal of antimicrobial chemotherapy.**66**, 765–768.

**Hodge W, Ciak J et Tramont EC.** (1978). Simple method for detection of penicillinase producing *Neisseria gonorrhoeae*. J Clin Microbiol. **7**, 102–103.

**Jacoby GA.** (2009). AmpC beta-lactamases. Clinical Microbiology Reviews.**22**, 161-182.

**Jaman MF et HuffmanMA.**(2013). The effect of urban and rural habitats and resource type on activity budgets of commensal rhesus macaques (*Macaca mulatta*) in Bangladesh. Primates, journal of primatology.**54**, 49-59.

**Jarlier V, Nicola MH, Fournier G etPhilippon A.**(1988).Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns.Reviews of infectious diseases.**10**, 867–878.

**Jemima SA et Verghese S.** (2008). Molecular characterization of nosocomial CTX-M type beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* from a tertiary care hospital in south India. *Indian journal of medical microbiology*. **26**, 365-368.

**Johnson JR et Russo TA.** (2002). Extra-intestinal pathogenic *Escherichia coli*: "the other bad *E coli*". *The journal of laboratory and clinical medicine*. **139**, 155-162.

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

**Kocsis B et Szabó D.** (2013). Antibiotic resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae*. A. Méndez-Vilas (Eds.). *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. Hongrie. **1**, 251-257.

**Korzeniewska E et Harnisz M.** (2013). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-positive *Enterobacteriaceae* in municipal sewage and their emission to the environment. *Journal of Environmental Management*. **128**, 904-911.

**Kozak GK, Boerlin P, Janecko N, Reid-Smith RJ, et Jardine C.** (2009). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from swine and wild small mammals in the proximity of swine farms and in natural environments in Ontario, Canada. *Applied and Environmental Microbiology*. **75**, 559–566.

**Lagha N, Abdelouahid DE, Hassaine H, Robin F, Bonnet R.** (2014). First characterization of CTX-M-15 and DHA-1  $\beta$ -lactamases among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Laghouat Hospital, Algeria. *African journal of microbiology research*. **8**, 1221-1227.

**Lahlaoui H, Ben Haj Khalifa A et Ben Moussa M.** (2014). Epidemiology of *Enterobacteriaceae* producing CTX-M type extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL). *Medecine et maladies infectieuses*. **44**, 400-404.

**Literak I, Dolejska M, Cizek A, Djigo CAT, Konecny A et Koubek P.** (2009<sub>A</sub>). Reservoirs of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae* among animals sympatric to humans in Senegal: extended-spectrum beta-lactamases in bacteria in a black rat (*Rattus rattus*). *African journal of microbiology research*. **3**, 751-754.

**Literak I, Dolejska M, Radimersky T, Klimes J, Friedman M, Aarestrup FM, et al.** (2009<sub>B</sub>). Antimicrobial-resistant faecal *Escherichia coli* in wild mammals in central Europe: multiresistant *Escherichia coli* producing extended spectrum beta-lactamases in wild boars. *Journal of applied microbiology*. **108**, 1702–1711.

**Literak I, Dolejska M, Janoszowska D, Hrusakova J, Meissner W, Rzycka H, Bzoma S et Cizek A.** (2010). Antibiotic-resistant *Escherichia coli* bacteria, including strains with genes encoding the extended-spectrum beta-lactamase and QnrS, in water birds on the Baltic Sea Coast of Poland. *Applied and environmental microbiology*. **76**, 8126–8134.

**Literak I, Manga I, Wojczulanis-Jakubas K, Chroma M, Jamborova I, Dobiasova H, Sedlakova MH et Cizek A.** (2014). *Enterobacter cloacae* with a novel variant of ACT AmpC beta-lactamase originating from glaucous gull (*Larus hyperboreus*) in Svalbard. *Veterinary Microbiology*. **171**, 432-5.

**Loncaric I, Stalder GL, Mehinagic K, Rosengarten R, Hoelzl F, Knauer F.** (2013). Comparison of ESBL – And AmpC Producing *Enterobacteriaceae* and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Migratory and Resident Population of Rooks (*Corvus frugilegus*) in Austria. *PLoS one*. **8**, e84048.

**Maravi A, Sko ibušić M, Cvjetan S, Šamani I, Fredotovi Ž et Puizina J.** (2014). Prevalence and diversity of extended-spectrum-β-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from marine beach waters. *Marine Pollution Bulletin*. **90**, 60-67.

**Meguenni L, Le Devendec E, Jouy S, Bakour R et Kempf I.** Caractérisation moléculaire de souches d' *Escherichia coli* aviaires productrices de BLSE, isolées de la région Centre d'Algérie . 32<sup>ème</sup> reunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, le 22, 23 novembre 2012. Paris.

**Ménard N, Motsch P, Delahaye A, Saintvanne A, Le Flohic G, Dupé S, Vallet D, Qarro M, Tattou MI et Pierre JS.** (2014). Effect of habitat quality on diet flexibility in Barbary macaques. *American Journal of Primatology*. **76**, 679-93.

**Mesa RJ, Blanc V, Blanch AR, Cortés P, González JJ, Lavilla S, Miró E, Muniesa M, Saco M, Tórtola MT, Mirelis B, Coll P, Llagostera M, Prats G et Navarro F.** (2006).

Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in different environments (humans, food, animal farms and sewage). *The journal of antimicrobial chemotherapy*. **58**, 211-215.

**Messai Y, Iabadene H, Benhassine T, Alouache S, Tazir M, Gautier V, Arlet G et Bakour R.**(2008). Prevalence and characterization of extended-spectrum b-lactamases in *Klebsiellapneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathologie Biologie*. **56**, 319–325.

**Meunier D, Jouy E, Lazizzera C, Kobisch M et Madec JY.**(2006). CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *International journal of antimicrobial agents*. **28**, 402– 407.

**Nel DC.** (2011).Maitrise de la reproduction chez le Magot (*Macacasyllvanus*), la stérilisation des males. Thèse de doctorat en Médecine vétérinaire. Thèse de doctorat en vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire. Toulouse, p184.

**Nordmann P et Carrer A.** (2010). Les carbapénèmases des entérobactéries. *Archive de Pédiatrie*. **17**, S154-S162.

**Ojer-Usoz E, Gonzalez D, Garcia-Jalon I et Vitas AI.**(2014). High dissemination of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in effluents from wastewater treatment plants. *Water Research*. **56**, 37–47.

**O’Keefe A., Hutton T. A., Schifferli D. M., Rankin S.** (2010). First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum -lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. **54**, 3489–3492.

**Peirano G, Laupland KB, Gregson DB et Pitout JDD.**(2011). Colonization of returning travelers With CTX-M-producing *Escherichia coli*. *Journal of travel medicine*. **18**, 299–303.

**Philippon, A.** (2013). Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE), Extended-spectrum beta-lactamases. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. **28**, 287–296.

**Pinto L, Radhouani H, Coelho C, Martins da Costa P, Simoes R, Brandao RM et al.**(2010). Genetic detection of extended-spectrum beta-lactamase containing *Escherichia coli* isolates from birds of prey from Serra da Estrela Natural Reserve in Portugal. *Applied of environmental microbiology*.**76**, 4118–4120.

**Poeta P, Radhouani H, Igrejas G, Goncalves A, Carvalho C, Rodrigues J, Vinue L, SomaloS etTorres C.** (2008). Seagulls of Berlengas Natural Reserve of Portugal as carriers of faecal *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M and TEM classes.*Applied of environmental microbiology*.**74**, 7439–7441.

**Poeta P, Radhouani H, Pinto L, Martinho A, Rego V, Rodrigues R, et al.** (2009). Wild boars as reservoirs of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* of different phylogenetic groups. *Journal of basic microbiology*.**49**,584–588.

**Poirel L, Potron A, Cuesta CDL, Cleary, T, Nordmann P, Munoz-Price LS.** (2012). Wild Coastline Birds as Reservoirs of Broad Spectrum  $\beta$ -Lactamase Producing *Enterobacteriaceae* in Miami Beach, Florida. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*.**56**, 25756 –2758.

**Radhouani H, Pinto L, Coelho C, Goncalves A, Sargo R, Torres C, Igrejas G etPoeta P.** (2010). Detection of *Escherichia coli* harbouring extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M classes in faecal samples of common buzzards (*Buteobuteo*).*The journal of antimicrobial chemotherapy*.**65**, 171–173.

**Radhouani H, Silva N, Poeta P, Torres C, CorreiaS etIgrejasG.**(2014) Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment and human health.*Frontiers in Microbiology*. **5**, 23.

**Ramdani-Bouguessa N, Mendonca N, Leitao J, Ferreira E, Tazir M et Canica, M.** (2006). CTX-M-3 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases in isolates of *Escherichia coli* from a hospital in Algiers, Algeria.*Journal of clinical microbiology*.**44**, 4584-4586.

**Ramdani-Bouguessa N, Manageiro V, Jones-Dias D, Ferreira E, TazirM etCanicaM.**(2011). Role of SHV beta-lactamase variants in resistance of clinical *Klebsiella pneumonia* strains to beta-lactams in an Algerian hospital. *Journal of medicine microbiology*.**60**, 983-987.

**Ramirez MS etTolmasky ME.** (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. Drug Resistance Updates. **6**, 151-71.

**Ramos S, Igrejas G, Silva N, Jones-Dias ,Capelo-Martínez J-L, Caniça M etPoeta, P.**(2013). First report of CTX-M producing *Escherichia coli*, including the new ST2526, isolated from beef cattle and sheep in Portugal. Food Control. **31**, 208-210.

**Robin F, Gibold F et Bonnet R.**(2012). Résistances naturelles et acquises aux -lactamines chez les entérobactéries: comment les identifier en pratique quotidienne. Revue Francophone des laboratoires. **2012**, 47-58.

**Rocha-Gracia RC, Cortés-Cortés G, Lozano-Zarain P, Bello F, Martínez-Laguna Y et Torres C.** (2015). Faecal *Escherichia coli* isolates from healthy dogs harbour CTX-M-15 and CMY-2 -lactamases. The veterinary journal. **203**, 315–319.

**Rodriguez-Villalobos H. et Struelens M.-J.**(2006). Résistance bactérienne par -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Réanimation. **15**, 205-213.

**Rubin JE et Pitout JD.**(2014). Extended-spectrum -lactamase, carbapenemase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* in companion animals. **170**, 10-8.

**Rwego IB, Isabirye-Basuta G, Gillespie TR et Goldberg TL.**(2008). Gastrointestinal bacterial transmission among humans, mountain gorillas, and livestock in Bwindi Impenetrable National Park, Uganda. Conservation biology. **22**, 1600–1607.

**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.

**Sallem RB, Gharsa H, Slama KB, Rojo-Bezares B, Estepa V, Porres-Osante N, Jouini A, Klibi N, Sáenz Y, Boudabous A et Torres C.**(2013). First detection of CTX-M-1, CMY-2, and QnrB19 resistance mechanisms in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy pets in Tunisia. Vector Borne and Zoonotic Diseases. **13**, 98-102.

**Schmid A, Hormansdorfer S, Messelhauser U, Kasbohrer A, Sauter-Louis C et Mansfeld R.** (2013). Prevalence of extended-spectrum beta-Lactamase-producing

*Escherichia coli* on bavarian dairy and beef cattle farms. *Applied and Environmental Microbiology*.**79**, 3027-3032.

**Schierack P, Römer A, Jores J, Kaspar H, Guenther S, Filter M, Eichberg J et Wieler LH.**(2008). Isolation and characterization of intestinal *E. coli* from wild boars in Germany.*Applied and environment microbiology*.**75**, 695–702.

**Simoès RR, Poirel L, Da Costa P, Nordmann P.** (2010). Seagulls and beaches as reservoirs for multidrug-resistant *Escherichia coli*. *Emerging infectious diseases*.**16**, 110–112.

**Skurnik D et Andremont A.** (2006). Antibiothérapie sélectionnante: de la théorie à la pratique. *Réanimation*. **15**, 198–204.

**Sousa M, Torres C, Barros J, Somalo S, Igrejas G et Poeta P.** (2011). Gilthead seabream (*Sparus aurata*) as carriers of SHV-12 and TEM-52 extended-spectrum beta-lactamases-containing *Escherichia coli* isolates. *Foodborne Pathogens and disease*.**8**,1139–1141.

**Silva N, Felgar A, Goncalves A, Correia S, Pacheco R, Araujo C, Igrejas G et Poeta P.** (2010). Absence of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates in migratory birds: song thrush (*Turdus philomelos*). *The journal of antimicrobial chemotherapy*.**65**, 1306–1307.

**Tacaõ M, Correia A, Henriques I.** (2012). Resistance to broad-spectrum antibiotics in aquatic systems: anthropogenic activities modulate the dissemination of *bla*<sub>CTX-M-like</sub> genes. *Applied environmental microbiology*.**78**,4134–4140.

**Touati A, Benallaoua S, Forte D, Madoux J, Brasme L et De Champs C.** (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bejaia, Algeria. *Antimicrobial Agents journal*. **27**, 397-402.

**Touati A, Medboua C, Touati D, Denine R, Brasme L et de Champs C.**(2012). CTXM-15- producing *Enterobacteriaceae* isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algiers (Algeria). *International Research Journal of Microbiology*.**3**, 181-185.

**Tissera S et Lee SM.** 2013. Isolation of Extended Spectrum  $\beta$ -lactamase(ESBL) Producing Bacteria from Urban Surface Waters in Malaysia. *The Malaysian Journal of medical Sciences.* **20**, 14-22.

**Veldman K, Tulden PV, Kan A, Testerink J et Mevius D.**(2013). Characteristics of Cefotaxime resistant *Escherichia coli* from Wild Birds in The Netherlands. *Applied environmental microbiology.* **79**, 7556-7561.

**Vo ATT, Van Duijkeren E, Fluit AC et Gastra W.** (2007). Characteristics of extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from horses. *Veterinary microbiology.* **124**, 248–255.

**Wallensten A, Hernandez J, Ardiles K, González-Acuña D, Drobnik M et Olsen B.** (2011). Extended spectrum beta-lactamases detected in *Escherichia coli* from gulls in Stockholm, Sweden. *Infection ecology and epidemiology.* **1**, 10.

**Wang Y, He T, Han J, Wang J, Foley SL, Yang G, Wan S, Shen J et Wu C.**(2012). Prevalence of ESBLs and PMQR genes in fecal *Escherichia coli* isolated from the non-human primates in six zoos in China. *Veterinary Microbiology.* **159**, 53–59.

**Wellington EM, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al.** (2013). The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *The lancet infectious diseases.* **13**, 155–165.

**Wickline K.**(2014). Wild boars (*Sus scrofa*). Museum of Zoology, University of Michigan. <http://animaldiversity.org>.

**Wirth T, Falush D, Lan R, Colles F, Mensa P, Wieler LH, Karch H, Reeves PR, Maiden MC, Ochman H et Achtman M.**(2006). Sex and virulence in *Escherichia coli*: an evolutionary perspective. *Molecular Microbiology.* **60**, 1136-51.

**Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D, Johnson AP, Pike R, Warner M, Cheasty T, Pearson A, Harry S, Leach JB, Loughrey A, Lowes JA, Warren RE et Livermore DM.**(2004). Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the UK. *J. Antimicrob. Chemother.* **54**, 735-743.

**Zou LK, Wang HN, Zeng B, Zhang AY, Li JN, Li XT, Tian GB, Wei K, Zhou YS, Xu CW, Yang ZR.**(2010). Phenotypic and genotypic characterization of  $\beta$ -lactam resistance in *Klebsiellapneumoniae* isolated from swine. *Veterinary Microbiology*.**149**, 139-46.

**Zurfluh K, Hächler H, Nüesch-Inderbinen M, Stephan R.**(2013). Characteristics of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase- and Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Isolates from Rivers and Lakes in Switzerland. *Applied and Environmental Microbiology*.**79**, 3021–3026.

Annexe I « Tableau I : Phénotype de résistance naturelle des entérobactéries ».

G	Phenotype	Espèce	Antibiotiques														
			AMX	AMC	T I C	TCC	PIP	PPC	C1G	C2G	FOX	CAZ	CTX	ATM	C4G	ETP	IMP
0	sensible	<i>Salmonella spp</i> <i>P.mirabilis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1	céphalosporinase constitutive de très bas niveau	<i>E.coli</i> <i>Shigella spp</i>	S/I	S/I	S	S	S	S	S/I	S	S	S	S	S	S	S	S
2	Pénicillinase chromosomique constitutive à bas niveau	<i>K.pneumoniae</i> <i>K.oxycota</i> <i>C.Koseri E.hermani</i>	R	S	R	S	S/I/ R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
3	céphalosporinase AmpC	<i>E.cloacae,E.aerogenes</i> <i>C.frendii M.morganii</i>	R	R	S	S	S	S	R	S/I/R	S/I/R	S	S	S	S	S	S
4	Céphalosporinase inductible+enzyme sensible aux inhibiteurs	<i>Y.enterocolitica</i> <i>S.fonticola</i>	R	R	R	S	S/I/ R	S	R	S/R	S	S	S	S	S	S	S
5	Céfuroximase inductible	<i>P.vulgaris P.penneri</i>	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
6	BLSE de bas niveau/BLSE	Espèces <i>Kluyvera</i> + espèces <i>Citrobacter</i>	R	S	I/R	S	I/R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S

Annexe II « Tableau II: Classification des  $\beta$ -lactamases ».

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Classe moléculaire	Substrats préférés	Inhibition		Enzyme représentative
				Clavulanate ou tazobactam	EDTA	
1	1	C	céphalosporines	-	-	E. coli AmpC,P99, ACT-1, CMY-2,FOX-1, MIR-1
1e	ND	C	céphalosporines	-	-	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Pénicillines	+	-	PC1
2b	2b	A	Pénicillines, première céphalosporines	+	-	TEM-1, TEM-2,SHV-1
2be	2be	A	Céphalosporines à large spectre, monobactames	+	-	TEM-3, SHV-2,CTX-M-15,PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Pénicillines	-	-	TEM-30, SHV-10
2ber	ND	A	céphalosporines à large spectre, monobactames	-	-	TEM-50
2c	2c	A	Carbénicilline	+	-	PSE-1, CARB-3
2ce	ND	A	Carbénicilline, Cefepime	+	-	RTG-4
2d	2d	D	cloxacilline	+/-	-	OXA-1, OXA-10
2de	ND	D	Céphalosporines à large spectre	+/-	-	OXA-11,OXA-15
2df	ND	D	Carbapénème	+/-	-	OXA-23,OXA-48
2e	2e	A	Céphalosporines à large spectre	+	-	CepA
2f	2f	A	Carbapénèmes	+/-	-	KPC-2, IMI-1,SME-1
3a	3	B (B1) B (B3)	Carbapénèmes	-	+	IMP-1, VIM-1,CcrA,IND-1, L1, CAU-1,GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapénèmes	-	+	CphA, Sfh-1
ND	4	Inconnu				

## Annexe III « Tableau IV : Répartition des BLSE chez les animaux sauvages ».

Références	Espèces animales	Type de BLSE	Pays
Costa et al.,2006	Oiseaux de proie, Cerf, Renard, Hibou	TEM-52, CTX-M-14, CTX-M-1, SHV-12	Portugal
Poeta et al.,2008	Oiseaux sauvages ( <i>Larus sp</i> )	TEM-52, CTX-M-1, CTX-M-14a, CTX-M32	Portugal
Bonnedahl et al.,2009	Goéland leucrophée	CTX-M-1, CTX-M-1, CTX-M-15, SHV	France
Dolejska et al.,2009	Mouette rieuse	CTX-M-1, CTX-M-15, SHV-2	République tchèque
Literak et al.,2009 <sub>A</sub>	Rat noir	CTX-M-15	Senegal
Literak et al.,2009 <sub>B</sub>	Sanglier	CTX-M-1, TEM-52b	République tchèque
Poeta et al.,2009	Sanglier	CTX-M-1,	Portugal
Bonnedahl et al.,2010	Mouette rieuse	CTX-M-14, CTX-M-15	Suède
Guenther et al.,2010 <sub>a</sub>	Merle noir, Oie rieuse, Pigeon biset	CTX-M-15	Allemagne
Guenther et al.,2010 <sub>b</sub>	Rat de norvège	CTX-M-9	Allemagne
Hernandez et al.,2010	Goéland à ailes grises	CTX-M-15, CTX-M-14	Russie
Literak et al.,2010	Canard colvert, Goéland argenté	CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-15, SHV-12	Pologne
Pinto et al.,2010	Oiseaux de proie	CTX-M-1, TEM-20, SHV-5, SHV-5	Portugal
Radhouani et al.,2010	Oiseaux de proie ( <i>B.buteo</i> )	CTX-M-32, CTX-M-1	Portugal
Simoës et al.,2010	Oiseaux sauvages ( <i>Larus sp</i> )	CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-15, CTX-M-32	Portugal
Garmyn et al.,2011	Les oies sauvages	TEM-52, SHV-12	Belgique
Ho et al.,2011	Rongeurs	CTX-M-9, CTX-M-1	Chine
Silva et al.,2011	Fauvette à tête noire	CTX-M-14 + SHV-12	Portugal
Sousa et al.,2011	Dorade royale	TEM-52, SHV-12	Océan atlantique
Wallensten et al.,2011	Oiseaux sauvages	CTX-M-1, CTX-M-14, SHV12	Suède
Gonçalves et al.,2012 <sub>a</sub>	Lynx ibérique	CTX-M-14, SHV-12	Portugal
Gonçalves et al.,2012 <sub>b</sub>	Loup ibérique	TEM-52, SHV-12, CTX-M-1, CTX-M-14	Portugal
Wang et al., 2012	Singes	CTX-M-3, CTX-M-14, CTX-M-15	Chine
Brahmi et al.,2015	Poisson	CTX-M-15	Algérie

**Annexe IV**

**Composition des milieux de cultures (EN g/l)**

**Bouillon eau peptonée exempte d'indole**

Peptone exempte d'indole.....	10g
Chlorure de sodium.....	5g

PH= 7.2

**Bouillon Clark et Lubs**

Peptone.....	5g
Glucose.....	5g
Hydrogénophosphate de potassium.....	5g
Eau distillée .....	1L

PH = 7,5

**Gélose TSI**

Tryptone .....	14,0g
Extrait autolytique de levure.....	3,0g
Extrait de viande .....	3,0g
Glucose .....	1,0g
Lactose .....	10,0g
Saccharose .....	10,0g
Chlorure de sodium.....	5,0g
Thiosulfate de sodium .....	0,3g
Citrate ferrique ammoniacal .....	0,3g
Rouge de Phénol.....	24,0mg
Agar .....	13,5g

pH du milieu à 25°C : 7,4 ± 0,2.

**Gélose Mueller-Hinton (Liofilchem)**

Infusion de viande de bœuf .....	300ml
Peptone de caséine .....	17.5g
Amidon de maïs.....	1.5g
Agar.....	17g

PH=7.4

**Gélose Mac Conkey (Liofilchem)**

Peptone.....	20g
Lactose.....	10g
Sel biliaires.....	1.5g
Cristal violet.....	0.001g
Rouge neutre.....	0.05g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	15g

PH=7.4

**Bouillon nutritif (Liofilchem)**

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	5g
NaCl.....	5g

PH 7,3 ± 0,2

**Bouillon Luria bertany**

Peptone.....	10g
Extrait de levures.....	5g
NaCl.....	10g

PH 7±0.2

**Annexe V « Protocol d'identification par une galerie API 20E »**

➤ **L'identification par une galerie API 20E peut être résumée en trois étapes :**

Primo, la préparation d'une galerie consiste à réunir le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation, puis environ 5 ml d'eau distillée sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Enfin, la galerie est placée dans la boîte d'incubation.

Secundo, la préparation d'une suspension bactérienne dense en prélevant quelques colonies, identiques et bien isolées, et les mettre dans 5ml d'eau physiologique stérile.

Tertio, le remplissage de la galerie: le **tube et cupule** des tests **CIT VP et GEL** sont remplis avec la suspension bactérienne, mais pour les autres tests c'est **uniquement les tubes** (et non les cupules). Une anaérobiose est réalisée dans les tests **LDC, ADH, ODC, H<sub>2</sub>S, URE** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine. Enfin, la boîte d'incubation est fermée et est incubée à 37°C pendant 18 à 24 h.

➤ **Lecture de la galerie :**

Après incubation, toutes les réactions spontanées sont notées sur la fiche des résultats puis, la révélation des tests nécessite l'addition de réactifs (TDA, IND et VP1 VP2). La lecture de la galerie se réfère au tableau de lecture donné ci-dessous. Le test d'oxydase constitue le 21<sup>ème</sup> test d'identification à noter sur la fiche des résultats. L'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification.

**Tableau V** : Tableau d'identification de la galerie API20E.

Tests	Composant actif	réaction / enzyme	résultats	
			-	+
ONPG	2-nitrophényl βDgalactopyranoside	β-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/Orangé
LDC	L-lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Rouge/Orangé
ODC	L-ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/ Orangé
CIT	Citrate de sodium	Utilisation de citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/bleu
H2S	Sodium thiosulfate	Production d'H2S	Incolore/grisâtre	dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	L-tryptophane	Tryptophane désaminase	TDA/immédiat	
			Jaune Marron rougeatre	
IND	L-tryptophane	Production d'indole	Kovacs/immédiat	
			Incolore ou jaune	rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoine	VP <sub>1</sub> +VP <sub>2</sub>	
			Incolore	Rose
GEL	Gelatine de Kohn	Gelatinase	Non diffusion	diffusion de pigment noir
GLU	D-glucose	Fermentation ou oxydation du glucose	Bleu/bleu vert	jaune
ARA	L-arabinose	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
MAN	Manitol	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SOR	sorbitol	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
RHA	rhaminose	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation ou oxydation	Bleu/bleu vert	Jaune
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> NO <sub>3</sub>	Tube de GLU	Production de NO <sub>2</sub> et réduction au stade N <sub>2</sub>	NIT1+NIT2 / 2à5min	
			Jaune	Rouge
			Zinc	
			Rouge jaune	

---

---

**Annexe VI « coloration de Gram »**

**Protocol**

❖ **Réalisation du frottis :**

- ✓ Nettoyer une lame à l'alcool.
- ✓ déposer une goutte d'eau stérile (ou directement le prélèvement s'il est liquide).
- ✓ Ajouter à la goutte les colonies prélevées.
- ✓ Étaler et fixer à la chaleur.

❖ **Réalisation de la coloration :**

- ✓ Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute, puis rincer à l'eau.
- ✓ Mordançage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée) : étalez le lugol et laissez agir 30 secondes à 1 min puis rincez à l'eau distillée.
- ✓ Décoloration à l'alcool sur la lame inclinée.
- ✓ Recoloration à la safranine ou à la fuchsine. laisser agir 30 secondes à 1 minute puis rincer à l'eau distillée.
- ✓ Ajouter une goutte d'huile à immersion.
- ✓ Observation au microscope optique objectif  $\times 100$ .

❖ **Resultats :**

- ✓ Bactéries roses : Gram négatives
- ✓ Bactéries violettes : Gram positives

❖ **Explication :**

- ✓ Les étapes 1 et 2 colorent en violet le contenu de la bactérie. Le violet de gentiane se fixe sur les composants cytoplasmiques de toutes les bactéries. Le lugol permet de fixer cette coloration interne.
- ✓ L'étape 3 (alcool) sert à décolorer le cytoplasme des bactéries qui seront dites « Gram négatives ». En effet, celles-ci ont une paroi pauvre en peptidoglycane (donc plus fine) qui va laisser passer l'alcool (molécule hydrophile) ou le mélange alcool-acétone, et qui décolorera le cytoplasme en éliminant le violet

de gentiane. Au contraire, pour les bactéries dites « Gram positif » la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool car elle est composée d'une « couche » de peptidoglycane plus importante, donc de ce fait plus épaisse. Elles resteront alors de couleur violette.

- ✓ L'étape 4 est une contre-coloration ayant pour but de donner aux bactéries Gram négatives précédemment décolorées une teinte rose permettant de les visualiser au microscope. Les bactéries à Gram positif restées violettes seront évidemment insensibles à cette contre-coloration plus pâle que le violet imprégnant leur cytoplasme.

## Annexe VII « Test à l'oxydase »

### Principe

La cytochrome oxydase ou oxydase est une enzyme de la chaîne respiratoire bactérienne. En présence d'oxygène ambiant, cette enzyme peut oxyder un substrat incolore en un produit coloré. La recherche de l'oxydase est un test fondamental pour l'identification des bacilles à Gram négatif.

Technique	Résultat
mettre un disque d'oxydase dans un tube contenant de l'eau distillé stérile. Prélever des colonies avec une pipette Pasteur boulée et l'écraser sur la paroi du tube. Observer immédiatement.	Absence de coloration rose/violette → Absence d'oxydation du réactif → Souche oxydase -  Apparition d'une coloration rose/violette → Oxydation du réactif → Souche oxydase +

**Remarque :** Ne pas prélever les bactéries à l'anse métallique car le métal de l'anse qui n'est généralement pas du platine oxyde le réactif.

**Annexe VIII « Carba NP test modifié »**

- **Préparation de la solution 'A'**

- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume [0.5g de poudre dans 100ml d'eau distillée].
- Mélanger 2 ml de la solution concentrée de rouge phénol (bien vortexer avant pipetage) dans 16.6 ml d'eau distillée.
- Ajouter 180  $\mu$ l d'une solution de  $ZnSO_4$  10mM pour obtenir une concentration finale de  $ZnSO_4$  à 0.1mM.
- Ajuster le pH à 7 avec une solution d' NaOH (N1).

- **Protocol**

- Dans un tube Eppendorf, mettre 200  $\mu$ l de tampon de lyse : Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB 0.02%) [0.02g de poudre dans 100ml d'eau distillée].
- Bien suspendre une ose calibrée de colonies bactériennes, vortexer 1 à 2 min.
- Transférer la suspension bactérienne dans 2 tubes Eppendorf 'a' et 'b' (100 $\mu$ l dans chaque tube).
- Ajouter 100  $\mu$ l de solution 'A' dans le tube Eppendorf 'a' puis 100  $\mu$ l de solution 'A' + imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf 'b', vortexer 5sec.
- Incuber à 37°C pendant un maximum de 2h.
- Lecture visuelle de la couleur dans chaque tube Eppendorf.

- **Interprétation des résultats**

	Tube A	Tube B
Pas de carbapénèmase	Rouge	Rouge
Carbapénèmase	Rouge	Orange/Jaune
Non interprétable	Jaune	Jaune

Annexe IX « Tableau X : Diamètres des zones d'inhibition (mm) ainsi que les profils de résistance des souches aux antibiotiques ».

Code	Identification	origine	Lieu	AMC	FEP	CTX	CAZ	FOX	ATM	ETP	TIC	IMP	TE	GEN	NAL	Phénotype de résistance probable
B001	<i>E. cloacae</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	25 (S)	12 (R)	11(R)	5 (R)	21 (I)	25(S)	18 (R)	28 (S)	5 (R)	19 (S)	20 (S)	BLSE
B002	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	16 (R)	10 (R)	13(R)	19 (S)	22 (I)	32 (S)	5 (R)	29 (S)	24 (S)	24 (S)	22 (S)	BLSE
B003	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	15 (R)	7 (R)	14(R)	28 (S)	NT	28 (S)	11 (R)	34 (S)	5 (R)	15 (I)	5 (R)	BLSE
B004	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	16 (R)	16 (R)	5 (R)	16(R)	29 (S)	16 (R)	27 (S)	NT	30 (S)	5 (R)	16 (I)	5 (R)	BLSE
B005	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	8 (R)	8 (R)	5 (R)	20 (S)	16 (R)	29 (S)	5 (R)	30 (S)	5 (R)	13 (R)	5 (R)	BLSE
B006	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	21 (R)	7 (R)	17(R)	21 (S)	19 (R)	20(R)	5 (R)	28 (S)	5 (R)	13 (R)	5 (R)	BLSE
B007	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	20 (R)	10 (R)	17(R)	19 (S)	16 (R)	28 (S)	5 (R)	33 (S)	13 (R)	10 (R)	11(R)	BLSE
B008	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	22 (S)	17 (R)	7 (R)	17(R)	28 (S)	18(R)	29 (S)	NT	31 (S)	25 (S)	25 (S)	22 (S)	BLSE
B009	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	24 (S)	17 (R)	9 (R)	18(R)	31 (S)	16 (R)	28 (S)	NT	31 (S)	5 (R)	22 (S)	5 (R)	BLSE
M032	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Les Aiguades	15 (R)	16 (R)	10 (R)	18(R)	20 (S)	20 (S)	29 (S)	5 (R)	29 (S)	5 (R)	9 (R)	5 (R)	BLSE
B010	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Jijel	7 (R)	13 (R)	5 (R)	18(R)	21 (S)	18 (R)	31 (S)	5 (R)	31 (S)	25 (S)	13 (R)	5 (R)	BLSE
B011	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	8 (R)	11 (R)	10 (R)	17(R)	23 (S)	18 (R)	22(I)	5 (R)	23 (I)	21 (S)	13 (R)	8 (R)	BLSE
B012	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	10 (R)	30 (S)	20 (S)	19(I)	22 (S)	23 (I)	25(S)	NT	27 (S)	21 (S)	22 (S)	25 (S)	BLSE
B013	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	13 (R)	31 (S)	19 (I)	19(I)	19 (S)	23 (I)	27 (S)	NT	29 (S)	24 (S)	22 (S)	25 (S)	BLSE
B014	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Jijel	18 (R)	20 (R)	5 (R)	19(I)	22 (S)	NT	28 (S)	5 (R)	29 (S)	6 (R)	23 (S)	25 (S)	BLSE
B015	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Sidi Aissa	17 (R)	21 (R)	14 (R)	20(I)	26 (S)	18 (R)	27 (S)	NT	27 (S)	5 (R)	13 (R)	5 (R)	BLSE
B016	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	16 (R)	20 (R)	5 (R)	20(I)	24 (S)	17 (R)	29 (S)	5 (R)	29 (S)	26 (S)	12 (R)	18 (I)	BLSE
M033	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Jijel	12 (R)	18 (R)	5 (R)	20(I)	20 (S)	20 (S)	28 (S)	5 (R)	28 (S)	23 (S)	12 (R)	18 (I)	BLSE
B017	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Les Oliviers	22 (S)	21 (R)	5 (R)	20(I)	21 (S)	NT	28 (S)	5 (R)	31 (S)	5 (R)	23 (S)	NT	BLSE
M034	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Les Aiguades	16 (R)	25 (S)	12 (R)	21(I)	23 (S)	20 (R)	30 (S)	5 (R)	30 (S)	24 (S)	10 (R)	16 (I)	BLSE
B018	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Les Oliviers	5 (R)	11 (S)	12 (R)	18(R)	23 (S)	20 (R)	22(I)	5 (R)	32 (S)	23 (S)	18 (S)	18 (I)	BLSE
M035	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Jijel	18 (R)	19 (R)	5 (R)	20(I)	21 (S)	20 (R)	29 (S)	5 (R)	28 (S)	26 (S)	11 (R)	18 (I)	BLSE
B019	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Jijel	19 (R)	25 (S)	11 (R)	23 (S)	19 (S)	30 (S)	23(I)	25 (S)	40 (S)	24 (S)	27 (S)	26 (S)	BLSE
B020	<i>E. cloacae</i>	Sanglier	Jijel	13 (R)	29 (S)	18 (I)	12(R)	12 (R)	24 (S)	21(R)	5 (R)	29 (S)	5 (R)	NT	27 (S)	BLSE
B021	<i>E. cloacae</i>	Sanglier	Tichy	22 (S)	22 (I)	5 (R)	20(I)	5 (R)	20 (R)	30 (S)	5 (R)	33 (S)	5 (R)	23 (S)	5 (R)	BLSE
M036	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Jijel	19 (I)	17 (R)	9 (R)	18(R)	23 (S)	18 (R)	27 (S)	9 (R)	33 (S)	25 (S)	9 (R)	19 (S)	BLSE
M037	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Jijel	24 (S)	19 (R)	11 (R)	20(I)	21 (S)	20 (R)	25(S)	9 (R)	33 (S)	25 (S)	10 (R)	18 (I)	BLSE

<b>B022</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	24 (S)	21 (I)	11 (R)	20(I)	20 (S)	21 (R)	27 (S)	5 (R)	30 (S)	23 (S)	8 (R)	15 (I)	BLSE
<b>B023</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	22 (S)	20 (R)	12 (R)	21(I)	21 (S)	20 (R)	27 (S)	5 (R)	34 (S)	24 (S)	10 (R)	17 (I)	BLSE
<b>B024</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	20 (S)	17 (R)	9 (R)	19(I)	21 (S)	19 (R)	27 (S)	10 (R)	30 (S)	25 (S)	13 (R)	18 (I)	BLSE
<b>B025</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	22 (S)	25 (S)	12 (R)	23 (S)	26 (S)	24 (S)	33 (S)	5 (R)	40 (S)	28 (S)	12 (R)	20 (S)	BLSE
<b>M038</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Singe	Jijel	22 (S)	19 (R)	9 (R)	19(I)	21 (S)	20 (R)	28 (S)	9 (R)	32 (S)	24 (S)	10 (R)	17 (I)	BLSE
<b>BO27</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	24 (S)	20 (R)	11 (R)	20(I)	20 (S)	21 (R)	26 (S)	9 (R)	35 (S)	24 (S)	13 (R)	18 (I)	BLSE
<b>BO28</b>	<i>K. pneumoniae</i>	Sanglier	Jijel	20 (S)	20 (R)	12 (R)	19(I)	20 (S)	20 (R)	25(S)	7 (R)	30 (S)	23 (S)	11 (R)	18 (I)	BLSE
<b>B029</b>	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Jijel	20 (S)	23 (S)	12 (R)	19(I)	21 (S)	17 (R)	26 (S)	5 (R)	29 (S)	5 (R)	14 (I)	12 (R)	BLSE
<b>B030</b>	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Jijel	18 (R)	20 (R)	10 (R)	19(I)	26 (S)	18 (R)	29 (S)	5 (R)	31 (S)	5 (R)	24 (S)	9 (R)	BLSE
<b>B031</b>	<i>E.Coli</i>	Sanglier	Jijel	18 (R)	18 (R)	9 (R)	18(R)	24 (S)	17 (R)	25(S)	5 (R)	30 (S)	5 (R)	24 (S)	9 (R)	BLSE

**AMC** : Amoxicilline+ acide clavulanique, **FEP** : Céfépime, **CTX** : Céfoxitine, **CAZ** :Ceftazidime, **FOX** : Céfoxitine, **ATM** : Aztréonam, **ETP** :

Ertapénème, **TIC** : Ticarcilline, **IMP** : Imipenème, **TE** : Tétracycline, **GEN** : Gentamicine, **NAL** : Acide nalidixique **NT** : non testé



## Liste des abréviations

**AMC** : Amoxicilline + acide clavulanique  
**AMX** : amoxicilline  
**ATM** : Aztréonam  
**AmpC**: Chromosomal located cephalosporinase  
**bla**: beta-lactamase  
**BLSE** : -lactamase à spectre élargi  
**C1G** : Céphalosporine de 1ère génération  
**C2G** : Céphalosporine de 2ème génération  
**C3G** : Céphalosporine de 3ème génération  
**C4G** : Céphalosporine de 4ème génération  
**CAZ** : Ceftazidime  
**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice  
**CMY** : Cephamicinase  
**CTX** : Céfotaxime  
**CTX-M**: Bêta-lactamase, « active on cefotaxime, first isolated at Munich »  
**ETP** : Ertapenème  
**EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing  
**FEP** : Céfépime  
**FOX** : Céfoxitine  
**GES**: Guiana extended spectrum -lactamase  
**GEN** : Gentamicine  
**I** : Intermédiaire  
**IMP** : Imipenème  
**KPC** : *Klebsiella pneumoniae* carbapénemase  
**MC** : Mac Conkey  
**MH** : Mueller Hinton  
**NAL** : Acide nalidixique  
**NT** : non testé  
**OXA**: Oxacillinase  
**PIP** : Pipéracilline  
**PPC** : Pipéracilline + acide clavulanique  
**PLP** : Protéines de Liaison à la Pénicilline  
**R** : Résistant  
**S** : Sensible  
**SHV** : Sulfhydryl reagent variable  
**IS** : Séquence d'insertion  
**TEM** : Temoneira  
**TET** : Tétracycline  
**TIC** : Ticarcilline  
**TCC** : Ticarcilline+ acide clavulanique  
**TRI** : TEM Résistante aux Inhibiteurs  
**TSI**: Tri Sugar Iron

## Résumé

Notre étude a pour objectif la caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance des souches d'entérobactéries aux  $\beta$ -lactamines. Les phénotypes de résistance ont été déterminés sur la base des résultats des testes de sensibilité aux antibiotiques et aux inhibiteurs.

Au cours de notre étude, 37 souches d'entérobactéries, isolées chez des animaux sauvages au niveau du parc national de Gouraya à Bejaia et du parc national de TAZA à Jijel ont été sélectionnées sur la base de leur résistance aux  $\beta$ -lactamines à spectre large. La résistance aux  $\beta$ -lactamines est due à la production de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu.

Les animaux sauvages représentent un réservoir considérable des souches d'entérobactéries multiresistantes pouvant constituer ainsi un sérieux problème pour la santé humaine.

**Mots-clés:** animaux sauvages, Algérie, entérobactéries, antibiotiques, phénotypes de résistance,  $\beta$ -lactamases à spectre étendu.

## Abstract

The aim of our study is the phenotypic characterization of the resistance mechanisms of Enterobacteriaceae strains to  $\beta$ -lactams. Resistances phenotypes were determined on the basis of susceptibility to  $\beta$ -lactams and  $\beta$ -lactams-inhibitor combination.

A total of 37 *Enterobacteriaceae* strains were isolated from the Gouraya National park in Bejaia and Taza National Park in Jijel and were found resistant to broad-spectrum  $\beta$ -lactams. Resistance to  $\beta$ -lactams was due to the production of extended spectrum  $\beta$ -lactamases.

Wild animals represent a considerable reservoir of multidrug resistant *Enterobacteriaceae* strains and may constitute a serious problem for humans health.

**Keywords:** wild animals, Algeria, *Enterobacteriaceae*, antibiotics, resistance phenotypes, extended spectrum  $\beta$ -lactamases.