

*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*

**Etude de la flore bactérienne résistante aux  
antibiotiques chez les chauves-souris**

Présenté par :

**Allouchene Cylia & Chemlal Djedjiga**

*Soutenu le : 19 Juin 2017*

Devant le jury composé de :

Mr AHMIM M.	MCB	Président
Mme GHAROUT A.	MCB	Encadreur
Melle MEZHOUD H.	MAA	Examinatrice

**Année universitaire : 2016/2017**

## *Remerciement*

Nous remercions tout d'abord le bon Dieu qui nous a donné le courage, la force, la patience, la volonté et la santé afin d'accomplir notre travail.

Ce travail a été rendu possible grâce aux équipements mis à notre disposition au laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université de Bejaia A. Mira.

Nous tenons à remercier Mme. Gharout qui nous a confié le sujet et initié à la recherche en nous prodiguant ses précieux conseils, pour son aide précieuse qu'il n'a cessé de nous prodiguer durant notre partie expérimentale et surtout pour sa gentillesse, son soutien, son esprit d'équipe, ses incessants encouragements. On lui exprime notre profonde reconnaissance.

Nous tenons également à présenter toute notre gratitude et nos remerciements à Mr. AHMIM qui nous a récolté les échantillons.

Nous tenons également à présenter toute notre gratitude et nos remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu consacrer leur précieux temps pour juger notre travail.

## **Dédicaces**

**Ce travail témoigne de mes respects :**

**A mes parents,**

**en témoignage de leur amour et soutien,  
encouragements et leurs grands sacrifices.**

**Que Dieu les préserve en bonne santé  
et leur accorde longue vie.**

**A mes frères et sœurs.**

**A toute ma famille**

**et mes amis.**

**A toutes les belles rencontres tout au long de ma vie studieuse.**

**A ceux qui me sont chers.**

**A toute la promotion 2016/2017,**

**ainsi que tous ceux qui m'ont aidé à percer mon chemin dans le  
savoir.**

*Cylia*

*Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*À toute ma famille, à ma chère mère Nora et mon père Abd el Madjid, à mes sœurs Sonia, Lahna et Fofa, et à mon frère Mohend Akli.*

*À tous mes amis et à ma binôme Cylia et à toutes sa famille.*

*À ma petite nièce Liliane.*

*À mon cher fiancé et ma future belle famille*

**Djedjiga**

## Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
---------------------------	----------

### Matériel et Méthodes

I. Prélèvements .....	8
II. Pré enrichissement .....	8
III. Bactéries à Gram positif : Recherche des entérocoques résistants à la Vancomycine .....	8
III.1. Isolement et caractérisation phénotypique .....	8
III.2. Étude de la sensibilité des souches d'entérocoques vis-à-vis de la Vancomycine .....	10
IV. Recherche de bacilles à Gram négatif .....	11
IV.1. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération .....	11
IV.2. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes .....	11
IV.2.1. Identification .....	11
IV.2.2. Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines des Bacilles à Gram négatif .....	13

IV.3. Recherche de la production de BLSE .....	13
IV.4. Recherche de la production de carbapénèmases .....	13

## **Résultats**

I. Prélèvements.....	16
II. Souches bactériennes .....	16
III. Sensibilité des souches aux antibiotiques .....	16
III.1. Les entérocoques.....	16
III.2. Bactéries à Gram négatif.....	18
III.2.1. Analyses des phénotypes de résistance .....	18
Discussion et conclusion .....	23

Références bibliographiques

Annexes

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Aspect des colonies sur milieu Chromagar .....	12
<b>Tableau II :</b> Galerie biochimique d'identification des souches .....	12
<b>Tableau III :</b> Différents prélèvements effectués .....	16
<b>Tableau IV :</b> Résultats de la recherche et identification des entérocoques .....	17
<b>Tableau V :</b> Résultat de la détermination de la CMI .....	18
<b>Tableau VI:</b> Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH avec ou sans la cloxacilline .....	19
<b>Tableau VII:</b> Résultats de l'antibiogramme pour les souches CS107 et CS71 .....	21

## Liste des tableaux présents dans les annexes

<b>Tableau VIII :</b> liste des réactifs utilisés durant cette étude .....	V
<b>Tableau IX:</b> Interprétation des diamètres critiques des zones d'inhibitions selon les recommandations actualisées du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie .....	VII
<b>Tableau X:</b> Résultats du test de synergie .....	VIII
<b>Tableau XI:</b> Résultats de la galerie classiques .....	IX
<b>Tableau XII :</b> Résultats du test CIM .....	X

## Liste des figures

<b>Figure1</b> : Pré enrichissement.....	8
<b>Figure2</b> : Aspect des colonies sur gélose BEA.....	9
<b>Figure 3</b> : Etapes du Test CIM ( <b>Van Zwaluw et al ., 2015</b> ). .....	15
<b>Figure 4</b> : Hodge test modifié .....	15
<b>Figure 5</b> : Image de synergie de la souche <i>Kluyvera ascorbata</i> CS 63.....	18
<b>Figure 6</b> : Test de Hodge positif pour <i>Enterobacter sp.</i> CS107 .....	21

## Liste des Abréviations

**AMC:** Amoxicilline-acide clavulanique

**ATM :** Aztreonam

**AmpC :** Céphalosporinases

**BEA :** Bile Esculine Azide de sodium

**BGN :** Bacilles Gram Négatif

**BLSE :** Bêta-Lactamases à Spectre Etendu

**C3G :** Céphalosporine de troisième génération

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

**CAZ:** Ceftazidime

**CLOX :** Cloxacilline

**CMI :** Concentration Minimale Inhibitrice

**CMY :** Active on cephamycins

**CS :** Chauve-souris

**CTX:** Céfotaxime

**CTX-M :** Céfotaximase-Munich

**DD-test:** Double Disc synergie test

**DHA:** Dhahran

**E. coli:** *Escherichia coli*

**EDTA :** Ethylène-Diamine-Tétra Acétate.

**ERV:** Entérocoques Résistants à la Vancomycine

**EUCAST:** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**FOX:** Céfoxitine

**I :** Intermédiaire

**IMP:** Imipenème

**KPC :** *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase

**LPS :** Lipopolysaccharide

**MβL :** Métallo-bêta-lactamases

**MEM :** Méropénème

**MH :** Mueller Hinton

**MHB : Bouillon Mueller Hinton**

**NDM: New Delhi Metallo--lactamases**

**OXA: Oxacillinase**

**R : Résistant**

**S : Sensible**

**SHV : Sulfhydryl Variable**

**TEM : Temoniera**

**TSB : Bouillon Trypticase Soja**

**TSI : Three Sugar Iron**

**VAN : Vancomycine**



# ***Introduction***

Les maladies infectieuses ont été la principale cause de mortalité à travers le monde par l'apparition de plusieurs pandémies et épidémies (Peste,...), ce qui a causé la fin de multiples civilisations à travers le temps (**Kardos et Demain, 2013**).

Ce n'est qu'en 1928 après la découverte des antibiotiques (pénicilline G en 1928) qu'il y'a eu un grand changement en médecine par la diminution considérable des mortalités et morbidités dues aux maladies infectieuses (**Van Hoek et al., 2011**). Depuis leur découverte jusqu'aux années soixante-dix une douzaine de familles furent découvertes et sont utilisées de nos jours pour le traitement des maladies infectieuses (**Bassetti et al., 2013**).

Malheureusement, la résistance bactérienne aux antibiotiques a rapidement constitué un problème de sante important à l'échelle mondiale, chaque apparition d'un nouvel antibiotique s'est rapidement accompagnée de l'apparition de bactéries qui lui sont résistantes (**Hawkey, 2008**). Cette résistance est due à une mauvaise utilisation des antibiotiques aussi bien en thérapie humaine qu'en thérapie ou alimentation animale et par conséquence l'augmentation des échecs thérapeutiques (**Ben redjeb et al., 2000**). Plusieurs rapports attestent l'augmentation des couts et des taux de mortalité associés à cette résistance (**Kim et al., 2001 ; Tansarli et al ., 2013**).

Les bacilles à Gram négatif sont souvent isolés dans les laboratoires de microbiologie, ils ont une place très importante en médecine humaine (divisés en : entérobactéries et Gram négatif non fermentaires) (**Liassine, 2000**).

Ils résistent aux  $\beta$ -lactamines en utilisant des mécanismes de résistance variés comme la perméabilité, l'efflux, modification de la cible et le plus fréquent qui est le mécanisme enzymatique « les  $\beta$ -lactamases » (**Vora et Auckenthaler, 2009**).

Les  $\beta$ -lactamases ou aussi nommées « pénicillinases » ont été décrites pour la première fois dans les années soixante chez *Escherichia coli* (*E. coli*) et *Klebsiella pneumoniae* (**Cattoir, 2008**). Chez les bactéries à Gram négatif, les  $\beta$ -lactamases se trouvent au niveau de l'espace péri plasmique (**Medeiros, 1984**). Elles agissent sur les  $\beta$ -lactamines en ouvrant le cycle  $\beta$ -lactame qui mène à la perte d'un groupement carboxyle, ce qui empêche l'action de l'antibiotique (**Ambler, 1980**). L'acquisition de ce mécanisme de résistance chez les souches pathogènes peut engendrer un risque d'échec thérapeutique (**Schwaber et Carmeli, 2007**).

La classification d'Ambler est basée sur la séquence primaire en acides aminés des  $\beta$ -lactamases et permet de les diviser en 4 groupes (A, B, C, D) (**Ambler, 1980**). La classe A, C et D sont des enzymes à sérine active tandis que la classe B sont des métallo-enzymes qui nécessitent la présence de ions de zinc (**Mérens *et al.*, 2011**).

Une autre classification, celle de Bush-Jacoby-Medeiros dite fonctionnelle mise en œuvre en 1989 et actualisée en 1995 puis réactualisée en 2010. Cette classification est basée sur le spectre préférentiel des enzymes et leur sensibilité aux inhibiteurs. Elle répartie ces enzymes en trois classes. Par exemple, les  $\beta$ -lactamases à Spectre Etendu (BLSE) font partie du 2<sup>be</sup> et 2<sup>de</sup>, les céphalosporinases dans le groupe 1 et les métallo- $\beta$ -lactamases dans le groupe 3 (**Bush et Jacoby, 2010**).

Les  $\beta$ -lactamases de classe A sont d'origine chromosomique ou plasmidique (**Knox, 1995**). Elles sont inhibées par l'acide clavulanique (**Livermore, 1995**). Les  $\beta$ -lactamases de classe B sont des métallo- $\beta$ -lactamases qui hydrolysent le cycle  $\beta$ -lactame en présence de Zinc (**Bandoh *et al.*, 1991**). Elles ne sont pas inhibées par les inhibiteurs classiques mais inhibées par les agents chélateurs (EDTA) (**Bebrone, 2007**). La classe C regroupe les céphalosporinases de type AmpC, codé par des gènes se trouvant initialement sur le chromosome de bactéries à Gram négatif comme *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* et *Enterobacter spp.* Chez ces dernières, l'AmpC est inductible. Ces gènes sont aussi rencontrés chez *E. coli* chez laquelle sont expression n'est pas inductible. Ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique (**Philippon *et al.*, 2002**). Elles sont inactivées par la cloxacilline et sont résistantes aux pénicillines, les céphalosporines et les monobactames. Elles peuvent être chromosomiques ou plasmidiques comme CMY et DHA (**Jacoby, 2009**). Enfin, les enzymes de la classe D sont retrouvées fréquemment chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* et peu chez les entérobactéries et sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique (**Paterson et Bonomo, 2005**).

Parmi les  $\beta$ -lactamases, on trouve les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE) qui hydrolysent la majorité des  $\beta$ -lactamines sauf les céphamycines et les carbapénèmes. Les bactéries qui possèdent une BLSE sont multi résistantes aux antibiotiques, ce qui rend le traitement des infections causées par ces germes très compliqué (**Paterson *et al.*, 2005**). Les carbapénèmes sont les antibiotiques les plus utilisés dans le traitement des infections à bactéries productrices de BLSE. Cependant, il y'a apparition de souches résistantes à ces antibiotiques (**Grall, 2011**).

Les carbapénèmases sont incluses dans 3 classes de  $\beta$ -lactamases. La classe A telle que les KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, 24 variants), métallo- $\beta$ -lactamases (MBL) tels que VIM (Verona integron encoded metallo-beta-lactamase, 46 variants) IMP (53 variants) et NDM (New Delhi Metallo-beta-lactamase, 16 variants) et les OXA dans la classe D ([www.lahey.org](http://www.lahey.org), consulté le 01-16-2017).

Les KPC résistent à toutes les  $\beta$ -lactamines y compris l'Aztréonam. L'acide clavulanique les inhibe faiblement *in vitro*, contrairement à l'acide boronique qui les inhibe complètement (Pitout, 2012). Les KPC sont fréquentes en Amérique latine, en Chine, en Grèce, aux Etats-Unis et en Israël (Stoesser *et al.*, 2017). Le premier cas de KPC en Algérie a été retrouvé en 2013 chez un enfant de 6 mois souffrant d'une hydrocéphalie, admis au service de neurochirurgie à l'hôpital universitaire de Sétif (Bakour *et al.*, 2015).

Les NDM résistent à toutes les  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'Aztréonam. Elles constituent une menace en santé publique par leur propriété de diffuser rapidement (Nordmann *et al.*, 2009; Nordmann *et al.*, 2011). En Algérie, les premières NDM-1 ont été identifiées chez *A. baumannii* (Boulangier *et al.*, 2012).

Pour les enzymes de type OXA, on compte 498 variant ([www.lahey.org](http://www.lahey.org), consulté le 01-06-2017). Les enzymes de type OXA-48 causent une faible baisse de sensibilité aux  $\beta$ -lactamines, elles résistent aux pénicillines, céphalosporines et les carbapénèmes et ne sont que faiblement actif contre les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) et monobactames. Souvent retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, sont endémiques en Turquie, en Inde et en Afrique du nord (Poirel *et al.*, 2013). Depuis sa première identification, différentes variantes ont été rapportées dont OXA-162, OXA-181, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245 et OXA-370 confèrent un profil de résistance très similaire (Oteo *et al.*, 2013 ; Nordmann et Poirel, 2014; Dortet *et al.*, 2015). Chez *Acinetobacter baumannii*, on trouve quatre sous-groupes d'Oxacillinase (OXA-26, OXA-24/40, OXA-58 et OXA-143) (Senkyrikova *et al.*, 2013). La première carbapénèmase de type OXA-48 retrouvée en Algérie a été isolée à Constantine dans un hôpital militaire, elle a été produite par une souche d'*E. coli* (Agabou *et al.*, 2014) et la première OXA-23 a été isolée chez une souche d'*A. baumannii* en 2004 (Mugnier *et al.*, 2010).

La colistine est utilisé comme dernier recours pour le traitement des infections dues aux bactéries à Gram négatif résistants aux carbapénèmes en particulier *K. pneumoniae*,

*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* (Biswas *et al.*, 2012). Cependant, ces bactéries ont adopté plusieurs mécanismes de résistance à cette molécule en modifiant la structure de la paroi (modification du lipopolysaccharide (LPS) par l'addition du phosphoéthanolamine ou 4-amino-4-arabinose ou la perte du lipopolysaccharide) par mutation des gènes *pmrA* / *pmrB* / *phoP* / *phoQ* / *mgrB* et *lpxCAD* (Olatain *et al.*, 2014). Il existe aussi une résistance plasmidique à la colistine par acquisition du gène *mcr-1* qui code pour une phosphoéthanolamine transférase qui modifie le lipide A du LPS (Telke et Rolain, 2015). Le gène *mcr-2* a été récemment mis en évidence en Belgique hébergé sur un plasmide chez *E. coli* isolées des porcs et des bovins (Sun *et al.*, 2017).

Les entérocoques sont des bactéries à Gram positif sous forme de cocci isolés ou arrangés en paires ou en courtes chainettes (Pulsen *et al.*, 2003), très répandus dans l'environnement (sol, plantes, eau,...) (Teixeira *et al.*, 2007), mais se trouvent préférentiellement au niveau du tractus intestinal de l'homme et des animaux à sang chaud ( $10^5$ - $10^8$  UFC/g de la matière fécale) (Murray, 1990; Devriese *et al.*, 2006). Le genre *Enterococcus* faisait partie anciennement des streptocoques du groupe D (Lancefield, 1933). Plus tard, Sherman a divisé les streptocoques en 4 groupes : les streptocoques fécaux (entérocoques), les streptocoques du lait, le groupe viridans ( $\alpha$ -hémolytiques) et les streptocoques pyogènes ( $\beta$ -hémolytiques) (Klein, 2003).

*Enterococcus faecalis* (85 à 90%) et *Enterococcus faecium* (5 à 10%) sont les deux espèces les plus importantes rencontrées en médecine humaine (AFSSAPS, 2008). En effet, les entérocoques ont pris un grand rôle dans les infections nosocomiales (Courvalin, 2006). La capacité des entérocoques à acquérir les gènes de résistance aux antibiotiques les rends importants dans les infections nosocomiales, car ils deviennent des véhicules de la résistance et de la virulence (Lytkainen *et al.*, 2008; Ogier et Serror, 2008).

Les entérocoques possèdent une résistance naturelle de bas niveau à de nombreux antibiotiques comme les  $\beta$ -lactamines (Courvalin et Leclercq, 2016), et une résistance acquise aux glycopeptides ou aux aminosides. La plus importante en clinique est la résistance à la vancomycine (ERV), surtout par l'acquisition du gène *vanA* (Werner *et al.*, 2008). Les glycopeptides agissent sur la synthèse de la paroi des bactéries à Gram positif en inhibant la trans-glycosylation. Il existe neuf phénotypes de résistance aux glycopeptides chez les entérocoques, le phénotype VAN A (résistance très élevée et

inductible à la vancomycine et la téicoplanine), le phénotype VAN B (résistance variable et inductible à la vancomycine, sensible à la téicoplanine), le phénotype VAN D (résistance constitutive à des niveaux modérés pour les deux glycopeptides), les phénotypes C, E, G, L, et N (résistance de bas niveau à la vancomycine et une sensibilité à la téicoplanine) (**Courvalin et Leclercq, 2016**). En Algérie, le premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine a été rapporté en 2006 chez un patient de 24 ans souffrant d'une uropathie malformative (**Aggoune et al., 2008**).

La résistance aux antibiotiques chez les bactéries commensales comme les entérocoques est préoccupante ces dernières années chez la faune sauvage, qui peut porter et diffuser cette résistance dans l'environnement (**Santos et al., 2013**).

Les antibiotiques sont utilisés en médecine humaine et animal, comme suppléments alimentaires en tant que facteur de croissance pour augmenter la rentabilité, en agriculture et technologie alimentaire, ce qui a amené à l'exercice d'une pression de sélection sur ces bactéries et la dissémination des gènes de résistances chez l'homme et les animaux (**Sande-Bruinsma et al., 2008**). La limitation de l'utilisation des antibiotiques chez l'homme et l'animal est quasi impossible car les antibiotiques utilisés chez l'animal peuvent toucher l'homme et vice versa (**Gulberg et al., 2011 ; Edwards et al., 2012**). La faune sauvage n'est généralement pas exposée aux antibiotiques utilisés en clinique (**Martinez, 2009**). Cependant, les animaux sauvages peuvent être infectés par des bactéries résistantes aux antibiotiques par le contact avec l'homme, des installations agricoles et par l'environnement (**Dolejska et al., 2007**). Une fois ces animaux contaminés, ils peuvent devenir à leur tour des réservoirs, vecteurs et bio indicateurs de bactéries pathogènes résistantes (**Literak et al., 2007**). Les chauves-souris ainsi que les autres animaux sauvages font partie des cycles épidémiologiques de plusieurs zoonoses (**Meslin, 1997**).

Les chauves-souris sont les seules mammifères volants qui appartiennent à l'ordre des chiroptères « volent avec les mains » et qui sont réparties partout dans le monde excepté l'Antarctique (**Schipper et al., 2008**). Aujourd'hui, on compte mille quatre cents espèces dans le monde (**Colombo, 2017**) dont vingt-six espèces en Algérie (**Kowalski et Rzebick Kowalska, 1991**). En 1983, **Gaisler** signala la présence de *Myotis nattereri* et l'apparition après son absence de *Pipistrellus pipistrellus* et *Myotis capaccinii* en Algérie (Sétif).

La longévité des chauves-souris peut atteindre 31 ans pour certaines espèces, avec une seule portée par an mais très rarement deux petits. Leur cycle de vie est répartie en quatre phases ; l'hibernation (du mois de Novembre au mois de Mars) durant laquelle elles prennent refuge dans des lieux calmes, tempérés et humides (troncs d'arbres, grottes,...), la phase estivale (Mai à Septembre), durant cette période elles se déplacent dans leur demeure d'été où les femelles se regroupent et mettent bas. La période de transition se trouve entre les deux phases précédentes, durant cette période, les chauves-souris reconstituent leurs réserves corporelles après avoir perdue leur poids durant l'hibernation ou bien se préparer à cette dernière (**LPO, 2004**).

Les chauves-souris ont une habitude alimentaire qui est très variée d'une espèce à une autre (**Calisher et al., 2006**). Elles se nourrissent de sang de mammifères, fruits, insectes et nectar (**Voigt et al., 2003**). En Algérie, les chauves-souris sont uniquement insectivores (**Ahmim, 2011**).

Il existe une relation entre les habitudes alimentaires et la flore présente dans le tractus gastro-intestinal. En effet, l'alimentation peut influencer sur la distribution de cette flore chez la chauve-souris (**Anand et Sripathi, 2004**). Elles peuvent transmettre à l'homme les infections par voie direct ou indirect par des hôtes intermédiaires (animaux de compagnie et bétail), cette transmission s'accroît lors d'une exposition accrue de l'activité de l'homme aux chauves-souris (**Moya et al., 2004; Pulliam, 2008; Pulliam et Dushoff, 2011**).

A l'université de Bejaïa, le professeur Touati et son équipe travaillent sur la résistance aux antibiotiques des souches cliniques, environnementales, alimentaires et chez les animaux (d'élevage, de compagnie). A notre connaissance il y'a qu'un seul travail sur la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes isolées chez la chauve-souris réalisé par Agsous en 2016 (mémoire de Master) a été effectué au niveau de l'université de Bejaïa.

L'objectif de ce travail a consisté en la recherche de la flore résistante aux antibiotiques chez la chauve-souris, cette étude s'articulera sur deux parties :

- Isolement et identification de bacilles à Gram négatif résistants aux C3G ou aux carbapénèmes et des entérocoques résistants à la vancomycine à partir de prélèvements de guano et d'écouvillonnages cloacaux en utilisant des géloses additionnées d'antibiotiques;

- Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques et déduction des phénotypes de résistance.



# **Matériel et méthodes**

### I. Prélèvements

Au cours de cette étude (du 13 Mars au 20 Mai 2017) des échantillons de guano ainsi que des écouvillonnages cloacaux de chauves-souris provenant des grottes d'Aokas et de Batna ont été collectés et acheminés au laboratoire de microbiologie de l'université de Bejaia pour être analysés.

### II. Pré-enrichissement

Les prélèvements ont été pré-enrichis dans le bouillon Trypticase Soja (TSB) puis incubés à 37°C/24h.



**Figure1** : Pré-enrichissement.

La composition des milieux de culture et réactifs utilisés est donnée dans l'annexe I.

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

#### III.1. Isolement et caractérisation phénotypique

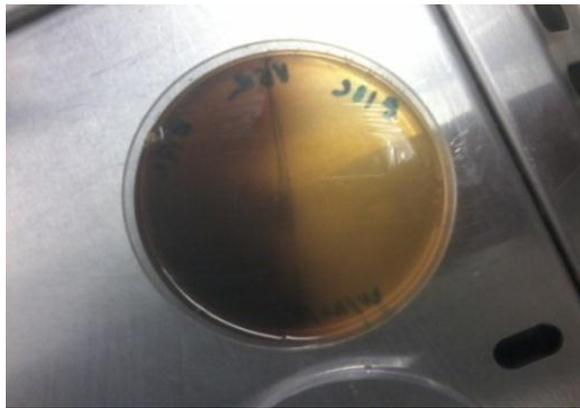
Un enrichissement a été réalisé en ajoutant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du Bouillon Rothe auquel de la vancomycine (VAN) (10µg /ml) et de la colistine (10µg/ml) ont été préalablement ajoutés. L'incubation a été effectuée 37°C/24h.

- **Isolement**

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du bouillon Rothe a été effectué sur la gélose Bile Esculine Azide de sodium (BEA) additionnée de vancomycine (10µg/ml) et de colistine (10µg/ml). Les boites ont été incubées à 37°C/ 24h.

- **Lecture**

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



**Figure2** : Aspect des colonies sur gélose BEA.

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram a été réalisée selon la méthode représentée dans l'annexe II. La coloration de Gram est une coloration qui permet de distinguer entre les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif, l'examen microscopique permet d'observer des cocci (couleur violette) en paire (diplocoque) ou en courtes chainettes (**Franz et Holzapfel, 2004**).

- **Catalase**

Afin de réaliser ce test, des colonies ont été déposées sur une lame, puis une goutte d'eau oxygénée a été mise sur cette dernière. Les bactéries produisent pendant la respiration du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), les bactéries le dégradent grâce à l'enzyme catalase, cette dernière dégrade le  $H_2O_2$  en eau et oxygène. La réaction d'effervescence signifie que la bactérie est catalase positive (**Marchal et al., 1982**).

- **Croissance et résistance à la chaleur**

Des colonies prélevées sur BEA ont étéensemencées dans 5 ml de TSB additionné de 0,25ml de glucose à 10%. Les tubesensemencés ont été incubés à 60°C/30min, puis

incubés à 37°C/24h. Les entérocoques sont capables de résister à la chaleur, la présence d'un trouble dans le tube indique que la souche pousse et résiste à la chaleur (Terzaghi et Sandine, 1975).

- **Croissance sur un Bouillon hyper-salé**

Un ensemencement dans un tubes de Bouillon hyper salé a été effectué puis incubés à 37°C/24h Les entérocoques sont tous capables de se développer en milieu hyper salé (6,5% de NaCl) contrairement aux streptocoques. La présence d'un trouble dans le tube indique un test positif (Schleifer et Kilpper-Balz, 1987).

- **Croissance dans un bouillon additionné de tellurite de potassium**

La culture bactérienne a été ensemencée dans du TSB (4,5 ml) auquel 0,5 ml de tellurite de potassium dilué au préalable à 1/250 (1 ml de tellurite dilué dans 249 ml d'eau distillée) puis incubé à 37°C/ 24h. Les souches d'*Enterococcus faecalis* sont les seules capables de se multiplier en présence de tellurite de potassium (Robert *et al.*, 1999).

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

La sensibilité des souches à la vancomycine a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie (CA-SFM-EUCAST, 2017). Un ensemencement par écouvillonnage a été effectué sur gélose MH, puis un disque de VAN a été déposé au centre de la boîte. Les souches ayant un diamètre inférieur à 12 mm (pour un disque de VAN de 5µg) ou inférieur à 16mm (pour un disque de VAN de 30µg) sont considérées résistantes (CA-SFM-EUCAST, 2017).

- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie par la plus petite concentration d'antibiotique dans laquelle la croissance bactérienne est inhibée après 18h d'incubation à 37°C (Archambaud,2009).

La détermination de la CMI vis-à-vis de la vancomycine a été réalisée en milieu liquide pour les souches d'entérocoques isolées sur (BEA). Un volume de 50 µl du bouillon Muller Hinton (MHB) a été distribué dans chaque cupule, puis 50 µl de

VAN(Concentration mère de 5120 µg/ml) a été ajouté dans la deuxième cupule (la première cupule servira de témoin négatif pour le contrôle de l'inoculum) et bien mélangé la solution avec la micropipette. Prélever 50 µl pour le mélanger avec la cupule adjacente et ainsi de suite jusqu'à la dernière et jeter les 50 µl restant(de la cupule 2 à 12) afin d'obtenir des dilutions allant de 256 à 0,25 mg/l de VAN. Enfin, 50 µl de la suspension bactérienne préparée dans le bouillon BMH a été ajouté dans chaque cupule en partant de la cupule la moins concentrée vers la plus concentrée. Incuber à 37°C/24h.

### **IV. Recherche de bactéries à Gram négatif**

#### **IV.1. Recherche de bacilles à Gram négatif résistants aux céphalosporines de troisième génération**

A partir du bouillon du pré-enrichissement, un enrichissement a été réalisé en ajoutant 40µl du bouillon TSB dans 160 µl de TSB additionné de Céfotaxime (CAZ) (4 µg/ml) et de vancomycine (32µg/ml) puis incubés à 37°C/24h.

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du TSB a été effectué sur la gélose Mac Conkey additionnée de CAZ (4 µg/ml) et de VAN (32 µg/ml). Les boîtes ont été incubées à 37°C/ 24h.

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

Un enrichissement a été réalisé en ensemencant 40µl du bouillon TSB dans 160µl du TSB additionné de Méropénème (MEM) (1µg/ml) et de VAN (32 µg/ml). L'incubation a été effectuée 37°C/24h.

A partir du bouillon d'enrichissement, un ensemencement de 50µl du TSB a été effectué sur la gélose Mac Conkey additionnée de MEM (1µg/ml) et de VAN (32 µg/ml). L'incubation a été effectuée 37°C/24h.

##### **IV.2.1. Identification**

L'identification des souches a été effectuée sur la base de l'aspect des colonies sur milieu Chromagar (CHROMagar™ Orientation) (voir tableau I) et aussi les caractères

biochimiques par la réalisation d'une galerie biochimique classique, les différents tests utilisés sont présentés dans le tableau II (Denis *et al.*, 2007).

**Tableau I:** Aspect des colonies sur milieu Chromagar.

Espèces	Couleur des colonies
<i>Escherichia coli</i>	Colonies rose à pourpre
<i>KES (Klebsiella, Enterobacter, Serratia), Citrobacter</i>	Colonies bleu vert à bleues avec ou sans auréole violette
<i>Proteus mirabilis, Morganella, Providencia</i>	Colonies pâles à beiges, cernées d'une auréole ambre à marron.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonies muqueuses blanches brunâtres
<i>Acinetobacterbaumannii</i>	Colonies muqueuses blanches opaque

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

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

<b>Urée-Indole</b>	Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne. l'incubation est effectuée à 37°C/24h.	-Uréase. -Indole. -Tryptophane désaminase	<b>Uréase+</b> : Virage du milieu au rouge/ rose.  <b>Indole+</b> : Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes de réactif de Kovacs.  <b>TDA+</b> : Coloration marron du milieu après l'ajout de quelques gouttes de réactif TDA.
<b>Clark et Lubs</b>	Ensemencement du milieu par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne. L'incubation est réalisée 37°C/24h.	Type fermentaire.	<b>Test VP+</b> : virage au rouge cerise après l'ajout des réactifs VP I et VP II.  <b>Test RM+</b> : Coloration rouge après l'ajout du réactif RM.
<b>Citrate de Simmons</b>	Ensemencement de la pente de gélose par des stries Longitudinales et l'incubation est réalisée à 37°C/ 24h.	Utilisation du citrate comme seule source de Carbone.	Utilisation du citrate comme seule source de Carbone.
<b>Mannitol mobilité</b>	Ensemencement par piqure centrale, incubation à 37°C/24h	Utilisation du mannitol et recherche de la mobilité.	Coloration jaune du milieu : Fermentation du mannitol  Diffusion homogène (voile) : Mobilité.

### IV.2.2. Détermination des phénotypes de résistance aux $\beta$ -lactamines des bacilles à Gram négatif

### IV.3. Recherche de la production de BLSE

- **DD-test**

La production d'une BLSE a été détectée par le DD-test qui consiste à déposer des disques de Ceftazidime (CAZ : 30  $\mu$ g) et Céfotaxime (CTX : 30  $\mu$ g) à une distance de 20mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC : 20/10

µg). L'apparition d'une image de synergie entre AMC et CTX et/ou la CAZ indique la présence probable d'une BLSE (Jarlier *et al.*, 1988).

D'autres antibiotiques ont été déposés sur la même boîte : Aztréonam (ATM : 30 µg), Céfoxitine (FOX : 30 µg) et imipénème (IMP : 10 µg).

- **DD-test sur gélose Muller Hinton additionnée de cloxacilline**

Le test à la cloxacilline permet de mettre en évidence une BLSE masquée par la production d'une céphalosporinase. La cloxacilline (250 µg/ml) a été ajoutée à la gélose MH pour inhiber la production de céphalosporinase. La différence des diamètres d'inhibition des boîtes avec et sans cloxacilline (différence > 5 mm) permet de mettre en évidence la présence d'une BLSE (Drieux *et al.*, 2008).

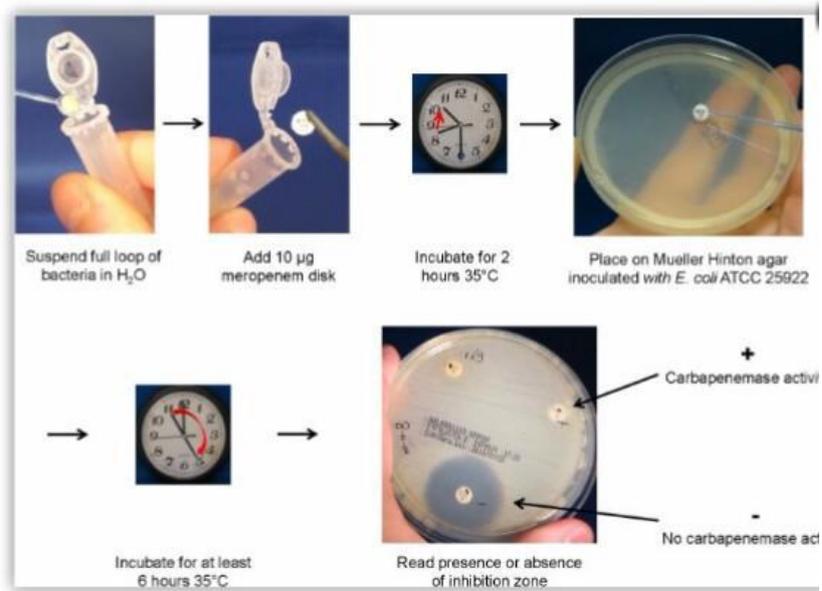
#### IV.4. Recherche de la production de carbapénèmases

- **Test CIM (carbapenem inactivation method)**

C'est un test phénotypique très récent qui permet la mise en évidence de la production d'une carbapénémase par les bactéries à Gram négatif. Le test est dit positif quand il y a absence d'une zone d'inhibition autour du disque de Méropénème (MEM : 10µg) suite à l'inactivation de ce dernier lors de son incubation dans la suspension bactérienne testée (Van der Zwaluwet *al.*, 2015). Ce test concerne les souches résistantes ou de sensibilité diminuée aux carbapénèmes.

Le test est réalisé comme suit (Figure 3) :

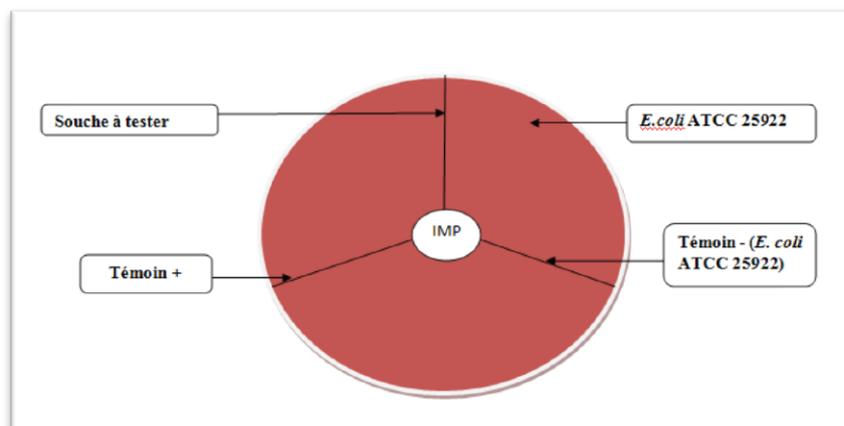
- Préparer 500µl d'eau physiologique dans des tubes Eppendorf ;
- Mettre en suspension une ose d'une souche productrice d'une carbapénémase (témoin positif : *Klebsiella pneumoniae* KPC) et une autre suspension de la souche à tester et ne rien ajouter au troisième tube (témoin négatif) puis homogénéiser au vortex ;
- Mettre un disque de méropénème dans les 3 tubes et incubé pendant 2h au minimum à 37°C ;
- Après incubation, retirer les disques et les déposer sur la gélose MH préalablement ensemencée par la souche *E. coli* ATCC25922 (sensible à tous les antibiotiques), puis incubé à 37°C pendant 24h.



**Figure 3 :** Etapes du Test CIM (Van Zwaluw *et al.*, 2015).

- **Test de Hodge modifié**

Le test Hodge modifié (MHT) est un test de dépistage phénotypique pour la recherche de la production de carbapénèmases. Ce test consiste à déposer un disque d'imipenème (10 µg) au centre d'une boîte de gélose Mac Conkey préalablementensemencée avec la souche de (*E.coli*ATCC25922). Ensuite la souche à tester, la souche témoin positif (*Klebsiella pneumoniae* KPC) et la souche témoin négatif(*E.coli*ATCC25922) ont été ensemencées sur la gélose sous forme de stries partants du disque vers le bord de la gélose puis incubées à 37°C/24h. La déformation de la zone d'inhibition et la formation d'un trèfle indique la production probable d'une carbapénèmase (Lee *et al.*, 2010, CA-SFM, 2013).



**Figure 4 :** Hodge test modifié.



# **Résultats**

### I. Prélèvements

Au cours de cette étude, 120 échantillons de chauve-souris dont 86 prélèvements de guano (79 à Batna et 9 à Bejaia) et 34 écouvillonnages cloacaux de Bejaia (**tableau III**) ont été collectés au niveau de leur niche écologique (grottes) puis analysés.

**Tableau III** : Différents prélèvements effectués.

Code	Type de prélèvement	Date du prélèvement	Lieu du prélèvement
CS1 à CS7	Guano	04-2016	Aokas
CS8 à CS18	Ecouvillonnage	21-02-2017	Aokas
CS19 à CS 34	Ecouvillonnage	21-02-2017	Aokas
CS35 à CS 100	Guano	12-04-2017	Batna
CS101 à CS107	Ecouvillonnage	27-04-2017	Aokas
CS108 à CS120	Guano	12-04-2017	Batna
Total		<b>120</b>	

### II. Souches bactériennes

Sur un total de 120 prélèvements, 116 souches bactériennes ont été isolées dont 59 souches (50,86 %) sur gélose Mac Conkey additionnée de céftazidime, 22 souches (18,96%) sur gélose Mac Conkey additionnée de méropénème et 35 souches (30,17%) sur gélose BEA additionnée de vancomycine.

### III. Sensibilité des souches aux antibiotiques

#### III.1. Les entérocoques

Parmi les 35 souches testées vis-à-vis de la vancomycine, 16 ont été retrouvées résistantes et sont représentées dans le tableau suivant ainsi que les résultats des tests de leur l'identification.

**Tableau IV** : Résultats de la recherche et identification des entérocoques.

Code	Isolement sur BEA	Chromaga	Catalase	Diamètre vancomycine (mm)		Hyper salé	Tellurite de Potassium	Test à la chaleur	Identification
				6	(R)				
CS 38	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	-	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 40	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	-	+/-	<i>Enterococcus sp.</i>
CS 41	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 64	P	Bleu Turquoise	-	6	(R)	-	+	+/-	<i>Enterococcus sp.</i>
CS 71	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	-	+/-	<i>Enterococcus sp.</i>
CS 72	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 73	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	-	+/-	<i>Enterococcus sp.</i>
CS 83	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 93	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	-	+/-	<i>Enterococcus sp.</i>
CS 109	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 111	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 116	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	-	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 117	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	-	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 118	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	-	-	+/-	<i>Enterococcus sp.</i>
CS 119	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>
CS 120	P	Bleu turquoise	-	6	(R)	+	+	+/-	<i>Enterococcus faecalis</i>

(R) : Résistante, (P) : poussée

- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

Les CMI ont été effectuées chez 7 Souches d'entérocoques. Les résultats obtenus ont montré que toutes les souches testées sont sensible à la vancomycine (tableau V).

**Tableau V** : Résultat de la détermination de la CMI.

Code	Espèce	CMI (mg/l)	Interprétation
CS 64	<i>Enterococcus sp.</i>	< 0.25	(S)
CS 73	<i>Enterococcus sp.</i>	0.5	(S)
CS 83	<i>Enterococcus sp.</i>	< 0.25	(S)
CS 93	<i>Enterococcus faecalis</i>	< 0.25	(S)
CS 116	<i>Enterococcus faecalis</i>	< 0.25	(S)
CS 117	<i>Enterococcus faecalis</i>	< 0.25	(S)
CS 119	<i>Enterococcus faecalis</i>	< 0.25	(S)

### III.2. Bactéries à Gram négatif

#### III.2.1. Analyses des phénotypes de résistance

- **DD-test**

Sur 59 souches testées, une seule souche (CS 63 : *Kluyvera ascorbata*) a présenté une image de synergie (Figure 3), traduisant ainsi la production probable d'une BLSE. L'interprétation des diamètres en sensible, intermédiaire et résistant a été utilisé en suivant les recommandations du CASFM, 2013 et du CASFM- EUCAST, 2017.



**Figure 5**: Image de synergie de *Kluyvera ascorbata* CS 63.

- **DD-test avec la cloxacilline**

L'image de synergie peut être masquée par une céphalosporinase (chromosomique ou plasmidique). Les souches ayant présentées une résistance à la céfoxitine (16 souches) ont été testées sur gélose MH additionnée de cloxacilline. Aucune image de synergie n'a pu être observée après l'ajout de cloxacilline.

Le tableau ci-dessous résume les différents diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH sans et avec la cloxacilline.

**Tableau VI:** Comparaison entre les diamètres des zones d'inhibition sur gélose MH sans et avec cloxacilline.

Code	Espèce	Diamètre (mm)	AMC	IMP	ATM	CTX	FOX	CAZ	Image de synergie	Phénotype Probable
CS 31	<i>Enterobacter sp.</i>	Sur MH	9 (R)	28(S)	14(R)	6(R)	6(R)	6(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	32 (S)	NT	NT	34(S)	34(S)	20(R)	-	
		≠ (mm)	23	-	-	28	28	14		
CS 35	<i>Enterobacter sp.</i>	Sur MH	10(R)	31(S)	NT	14(R)	6(R)	10(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	36 (S)	NT	NT	36(S)	36(S)	18(R)	-	
		≠ (mm)	26	-	-	22	30	8		
CS 36	<i>Raoultella sp.</i>	Sur MH	6 (R)	29(S)	NT	9(R)	6(R)	9(R)	-	ND
		MH+CLOX	38 (S)	NT	NT	36(S)	36(S)	12(R)	-	
		≠ (mm)	32	-	-	27	30	3		
CS 37	<i>Enterobacter sp.</i>	Sur MH	8(R)	29(S)	NT	8(R)	6(R)	6(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	36 (S)	NT	NT	36(S)	40(S)	18(R)	-	
		≠ (mm)	28	-	-	28	34	12		
CS 38	<i>Raoultella sp.</i>	Sur MH	10 (R)	33(S)	NT	10(R)	6(R)	6(R)	-	ND
		MH+CLOX	18 (R)	NT	NT	30(S)	20(S)	26(S)	-	
		≠ (mm)	8	-	-	20	14	14		
CS 40	<i>Enterobacter sp.</i>	Sur MH	8 (R)	36(S)	NT	10(R)	6(R)	12(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	36(S)	NT	NT	36(S)	36(S)	20(R)	-	
		≠ (mm)	28	-	-	26	30	8		
CS 73	<i>Enterobacter sp.</i>	Sur MH	8 (R)	27(S)	13(R)	6(R)	6(R)	6(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	36 (S)	NT	NT	19(R)	19(S)	12(R)	-	
		≠ (mm)	28	-	-	13	13	6		

CS 75	BGN-NF	Sur MH	22 (S)	25(S)	13(R)	6(R)	6(R)	6(R)	-	ND
		MH+CLOX	23 (S)	NT	NT	18(R)	12(R)	15(R)		
		≠ (mm)	1	-	-	12	6	9		
CS 81	<i>Enterobacter</i> <i>sp.</i>	Sur MH	9 (R)	29(S)	9(R)	6(R)	6(R)	6(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	42 (S)	NT	NT	36(S)	40(S)	22(I)	-	
		≠ (mm)	33	-	-	30	34	16		
CS 85	BGN-NF	Sur MH	12 (R)	26(S)	16(R)	9(R)	6(R)	6(R)	-	ND
		MH+CLOX	36 (S)	NT	NT	36(S)	40(S)	20(R)	-	
		≠ (mm)	24	-	-	27	34	14		
CS 102	<i>Raoultella</i> <i>sp.</i>	Sur MH	6 (R)	23(S)	NT	6(R)	6(R)	6(R)	-	ND
		MH+CLOX	52(S)	40(S)	NT	28(S)	28(S)	36(S)	-	
		≠ (mm)	46	17	-	22	22	30		
CS 107	<i>Enterobacter</i> <i>sp.</i>	Sur MH	6 (R)	21(I)	NT	6(R)	6(R)	6(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	22 (S)	33(S)	NT	32(S)	24(S)	30(S)	-	
		≠ (mm)	16	12	-	26	18	24		
CS 114	<i>Enterobacter</i> <i>sp.</i>	Sur MH	6 (R)	22(S)	NT	10(R)	6(R)	6(R)	-	Hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique
		MH+CLOX	32 (S)	34(S)	NT	35(S)	26(S)	30(S)		
		≠ (mm)	26	12	-	25	20	24		
CS 116	<i>Klebsiella</i> <i>sp.</i>	Sur MH	7 (R)	22(S)	NT	6(R)	10(R)	8(R)	-	AmpC Plasmidique
		MH+CLOX	11(R)	27(S)	NT	6(R)	15(I)	10(R)	-	
		≠ (mm)	4	5	-	0	5	2		
CS 117	<i>Klebsiella</i> <i>sp.</i>	Sur MH	6 (R)	24(S)	NT	8(R)	6(R)	6(R)	-	AmpC Plasmidique
		MH+CLOX	34(S)	NT	NT	24(I)	36(S)	24(I)	-	
		≠ (mm)	28	-	-	16(R)	30	18		

NT :non testé, (R) : résistant,(S) : sensible, ND : non déterminé, BGN-NF : Bacille à gram négatif non fermentaire.

- **Test de CIM**

Le test de CIM réalisé chez 16 souches était négatif. Ce résultat montre que ces souches résistent aux carbapénèmes par un mécanisme autre que la production de carbapénèmases.

- **Test de Hodge modifié**

Deux souches (CS71 et CS107) sont résistantes ou intermédiaires vis-à-vis de l'imipénème (Tableau VIII). L'image de trèfle était faiblement visible (Figure 5) avec la souche CS 107: *Enterobacter sp.*) ce qui indique que cette dernière produit probablement une carbapénémase, par contre aucune image de trèfle n'a été observée avec la souche (CS71).

**Tableau VII:** Résultats de l'antibiogramme pour les souches CS107 et CS71.

Code	Espèce	Date de prélèvement	Site de prélèvement	Type de prélèvement	IMP (10µ)	MEM (10µg)	ETP (10µg)	TEM (30µg)
CS71	<i>Pseudomonas sp.</i>	12-04-2017	Batna	Guano	6 (R)	6(R)	6(R)	6(R)
CS 107	<i>Enterobacter sp.</i>	27-04-2017	Aokas	Ecouvillonnage	19(I)	21(I)	18(R)	15(R)



**Figure 6:** Test de Hodge positif pour *Enterobacter sp.* CS107



# **Discussion et conclusion**

La découverte des antibiotiques en 1928 a changé la médecine, car leur utilisation a réduit d'une façon considérable les taux de morbidité et de mortalité lié aux maladies infectieuses (**Van Hoek *et al.*, 2011**).

L'âge de la découverte des antibiotique n'a pas duré longtemps car l'utilisation des antibiotiques d'une façon abusive et non contrôlée a donné lieu à l'apparition et à la dissémination de la résistance (**Diene *et al.*, 2012**).

Les bactéries résistantes aux antibiotiques se trouvant dans un environnement donné peuvent être transmises à d'autres bactéries et dans un autre environnement (**Mahmudur *et al.*, 2015**).

Les premières bactéries résistantes aux antibiotiques mises en évidence au niveau de la faune sauvage ont été isolées chez des oiseaux sauvages chez des souches d'*E. coli* résistantes à plusieurs antibiotiques (**Bonnedahl et Järhult, 2014**).

Les chauves-souris sont des mammifères qui ont un impact positif sur l'écosystème en se nourrissant d'insectes, ce qui a contribué à la diminution de l'utilisation de pesticides sur les cultures et aussi à l'élimination d'insectes nuisibles, leur guano est aussi considéré comme un excellent engrais naturel (**Ahmim, 2011**).Elles ont une capacité de voler et couvrent de longues distances et à habiter de diverses niches écologiques, ce qui a solliciter l'intérêt du monde pour ces mammifères étant de potentiels réservoirs et vecteurs d'agents infectieux et zoonotiques (**Kuzmin *et al.*, 2011**). Leur régime alimentaire peut influencer la flore gastro-intestinale (**Anand et Sripathi, 2004**).

La taille de notre échantillon ne nous permet pas de faire une comparaison directe de nos résultats avec d'autres études (notre comparaison va rester relative du fait que le nombre d'échantillons est différent).

Durant notre étude, nous avons isolé des bacilles à Gram négatif résistants aux C3G par production de BLSE ou de céphalosporinase.

La détection de souches productrice de BLSE chez la faune sauvage remonte seulement à 2006 (**Costa *et al.*, 2006**). Depuis plusieurs rapports ont été publiés (**Costa *et al.*, 2008 ; Poeta *et al.*, 2008 ; Literak *et al.*, 2009; Bonnedahl *et al.*, 2010 ;Guenther *etal.*, 2011 ;Loncaric *etal.*, 2013 ; Hasan *et al.*, 2013 ; Stedt *et al.*, 2015**).

Aucun article n'a été retrouvé sur pubmed rapportant la résistance des entérobactéries aux antibiotiques par la production d'une BLSE ou d'une AmpC chez les chauves-souris. Dans la présente étude, une seule souche *Kluyvera ascorbata*CS63 (isolée du guano dans une grotte à Batna) est productrice de BLSE. Cette espèce possède une BLSE naturelle de type CTX-M.

En Algérie, 2 rapports sur les entérobactéries productrices de BLSE provenant d'animaux sauvages ont été publiés (**Brahmi et al., 2015 ; Bachiri et al., 2016**).

Pour les carbapénèmases chez les animaux sauvages, peu d'études ont été rapportées (**Fischer et al., 2012; Fischer et al., 2013 ; Dias et al., 2014 ; Guerra et al., 2014**). En Algérie, **Brahmi et al.** ont rapporté deux souches d'*Acinetobacter baumannii* productrices d'OXA-23 isolées du poisson (**Brahmi et al., 2016**). Concernant les chauves-souris, l'étude réalisée par Agsous en 2016, dans le cadre de la préparation d'un master en microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire, 2 souches de *K. pneumoniae* ont été retrouvées productrices de carbapénèmases. Dans cette étude, 2 souches sont retrouvées résistantes aux carbapénèmes avec un test CIM négatif : *Pseudomonas sp.* CS71 isolée de guano (Batna) et *Enterobacter sp.* CS107 isolée d'écouvillonnage cloacal, signifiant l'absence de carbapénèmases. Le test de Hodge a été positif pour la CS10, mais cela ne prouve pas que cette souche est productrice de carbapénémase l'image de trèfle peut apparaître mais la souche n'est pas productrice de carbapénèmases (faux positif). La résistance aux carbapénèmes peut être quand il y'a une combinaison des mécanismes de résistance comme la perméabilité membranaire associé à une BLSE et AmpC (**Hoyos-Mallecot et al., 2017**). La surproduction du système MexEF-OprNest associée à une résistance aux carbapénèmes (imipénème et méropénème)(**Masuda et al. 1995 ; Köhler et al. 1997**) qui ne résulte pas d'une augmentation de l'efflux actif mais de la diminution concomitante de la production de la porine OprD (**Masuda et al. 1995**).

Plusieurs recherches ont été effectuées sur les entérocoques résistants à la vancomycine chez les animaux sauvages (**Poeta et al.,2007 ; Figueiredo et al.,2009 ; Radhouani et al., 2010 ; Silva et al., 2011 ; Oravcova et al., 2013**). En Algérie, 3 études ont été rapportées sur pubmed traitants des échantillons cliniques (**Aggoune et al., 2008 ;Djahmi et al., 2012 ; Moissenet et al., 2015**). Dans notre étude, 16 souches d'entérocoques ont révélé avec un antibiogramme standard un phénotype de résistance à la vancomycine dont 10 souches qui appartiennent probablement à l'espèce *Enterococcus*

*faecalis*. Cependant, les résultats des CMI ont révélé un phénotype sensible à la vancomycine. Cette différence peut être expliquée par le haut poids moléculaire de la vancomycine (**Camou, 2010**), limitant sa diffusion sur la gélose Mueller Hinton. Seule la détermination de la CMI de la vancomycine ou par toute technique ayant démontré des résultats équivalents à la techniques de référence permet réellement de dire que la souche est résistante ou sensible (**CASFM, 2012**).

En conclusion, l'utilisation en fréquence élevée et abusive des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire soit en thérapie ou comme facteurs de croissance mais aussi en agriculture et technologie alimentaire pourrait instaurer la pression sélective et la propagation de bactéries résistantes aux antibiotiques. La mise en évidence de bactéries résistantes aux antibiotiques chez la chauve-souris est indicateur de la dissémination de ces germes multi résistants dans différents écosystèmes, bien que les chauves-souris n'aient pas de contact naturel avec les antibiotiques et ni un contact direct avec l'activité humaine.

En perspective, les résultats de notre étude démontrent la présence probable de bactéries multi résistantes, ce qui conditionne le caractère dangereux pour la santé publique mais ils restent préliminaires, il est donc important de les prendre en compte et qu'ils stimulent et encouragent à faire d'autres recherches comme :

- Etude d'un grand effectif d'espèces de chauves-souris dans d'autres niches écologiques pour avoir une situation précise sur la résistance aux antibiotiques en Algérie ;
- Une caractérisation moléculaire de toutes les souches et leur identification afin de connaître leur origine.



## **Références bibliographiques**

**-A-**

- Agence Française de sécurité sanitaire des produits de santé. Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale, (2008).
- Agabou, A., Pantel A., Ouchenane, Z., Lezzar N., Khemissi, S., Satta, D. *et al.* First description of OXA-48-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone ST131 from patients hospitalised at a military hospital in Algeria. *Eur J. Clin Microbiol Infect Dis*, (2014); **33**:1641–1646.
- Aggoune, N., Chabani A., Tiouit, D., Naim, M., Rahal, K. Premier cas d'*Enterococcus faecalis* résistant à la vancomycine en Algérie. *Méd et mal infect*; (2008) ; **38**, 557-558.
- Ahmim, M. Les chiroptères d'Algérie. Synthèse des connaissances sur les chiroptères d'Algérie. Laboratoire d'écologie et environnement Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie .Université Abderrahmane MIRA. BEJAIA. ALGERIE, (2011).
- Anand, A.A., K., Sripathi Digestion of cellulose and xylan by symbiotic bacteria in the intestine of the Indian flying fox (*Pteropus giganteus*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, (2004) ;139: 65–69.
- Ambler, R.P. (1980). The structure of  $\beta$ -lactamases. *Phil Trans R Soc Lond Biol Sci.* 289: 321-331.
- Archambaud, M. Méthode d'évaluation de l'activité des antibiotiques *in vitro*. Laboratoire Bactériologie-Hygiène. CHU Rangueil Toulouse, (2009).

**-B-**

- Bachiri, T., Bakour, S., Ladjouzi, L., Thongpan, L., Roulain, J.M., Touati, A. High rates of CTX-M-1-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in wild boars and Barbary macaques in Algeria. *Global Antimicrobial resistance*, (2016) ; **S2213** 7165(16)30133-3.
- Bakour, F. Sahli, A. Touati and J.-M. Rolain. Emergence of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* ST512 isolated from cerebrospinal fluid of a child in Algeria. *New Resistant Microbes In Humans. New Microbe and New Infect*, (2015).; 3: 34.

- Bandoh, K., Muto, Y., Watanabe, K., Katoh, N., and Ueno, K. Biochemical properties and purification of metallo-B-lactamase from *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, (1991); 35(2): 371-372.
- Bassetti, M., Merelli, M., Temperoni, C., and Astilean, A. New antibiotics for bad bugs: where are we? *Ann Clin Microbiol Antimicrobiol*, (2013); 12 :22.
- Bebrone, C. Metallo-beta-lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their super family. *Biochem Pharmacol*, (2007); 74: 1686-701.
- Ben, Redjeb S., Ben Hassen, A., Hammami, A., and Kechrid, A. Epidémiologie des résistances bactériennes en Tunisie. "Résistance aux antibiotiques". *Press. Méd*, (2000), 1-5.
- Biswas, S., Brunel, J.M., Dubus, J.C., Reynaud Gaubert, M., Roulain, J.M. Colistin: an update on the antibiotic of the 21<sup>st</sup> century. *Expert Rev Anti Infect Ther*, (2012) ; 10,917-34.
- Bonedahl, J et Järhult, JD. Antibiotic resistance in wild birds. *Upsa J MedSci*. **119**,113-6.
- Boulanger, A., Naas, T., Fortineau, N., Figueiredo, S. and Nordmann, P. NDM-1-Producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. *Antimicrob. Agents Chemotherapy*, (2012); vol. 56 no.4: 2214-2215.
- Brahmi, S., Dunyach-Rémy, C., Touati, A. et Lavigne, JP. CTX-M-15- producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin Microbiol Infect*, (2015); **2**, 18-20.
- Brahmi, S., Touati, A., Cadière, A, Djahmi, N, Pantel, A, Sotto, A. First Description of Two Sequence Type 2 *Acinetobacter baumannii* Isolates Carrying OXA-23 Carbapenemase in *Pagellus acarne* Fished from the Mediterranean Sea near Bejaia, Algeria. *Antimicrob Agents Chemother*, (2016) ;**60**,2513-5.
- Bush, K., Jacoby, G.A. Updated functional classification of betalactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, (2010);**54**, 969-76.

-Calisher, C.H. Recent recognition of bats as reservoir hosts of emerging viruses. *Croatian Journal of Infection*, (2006); 26: 149–155.

-Camou, F. Les nouvelles options antibiotiques : Focus sur le traitement probabiliste des infections de matériel de stimulation. Réanimation médicale Saint André. Bordeaux, (2010).

-Cattoir, V. Les nouvelles  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation*, (2008), 203-209.

-Chuard, C. and Reller, L.B. Bile-esculin test for presumptive identification of Enterococci and Streptococci: Effects of bile concentration, inoculation technique, and incubation time. *Journal of Clinical Microbiology*, (1998); 36, 1135-1136.

-Colombo, R. Rénovation HQE de la cité mixte Paul Arène à Sisteron (04) abritant une colonie de molosse de Cestoni. Aménager, rénover et bâtir en favorisant la biodiversité Asellia Ecologie, (2017).

-Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Vinue, L., Coelho, A., Matos, M. *et al.* Mechanism of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates recovered from wild animals. *Microbial Drug Resistance*, (2008); Volume 14; 10.1089.

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

-Courvalain, P. et Leclercq, R., B-lactamines et entérocoques. AntibioGramme, (2016) ; Edition ESKA

#### **-D-**

-Denis, F., Poly M-C., Martin C. *et al.* Bacteriologies medical. Ellipses, (2007); 2<sup>ème</sup> édition. 573p.

-Dias, C., Serra CR., Simoens LC., Simoes M., Martinez-Murcia A., Saavedra MJ. Extended-spectrum B-lactamases and carbapenemases-producing *Aeromonas* species in wild animals from Portugal. *Vet Rec*; (2014); doi: 10.1136/vr.101803.

-Diene Seydina, M., Merhej, V., Henry, M., El Filali A., Roux V., Robert C. The Rhizome of the Multidrug-Resistant *Enterobacter aerogenes* Genome Reveals How New “Killer Bugs” Are Created because of a Sympatric Lifestyle, (2012);doi: 10.1093.

-Djahmi, N, Boutet-Dubois, A, Nedjai, S., Dekhil, M, Sotto, A., Lavigne, JP. Molecular epidemiology of Enterococcus sp. isolated in a university hospital in Algeria. *Scand J Infect*, (2012); Dis.44, 1-7.

-Dolejska, M., A. Cizek, I. Literak. High prevalence of antimicrobial-resistant genes and integrons in *Escherichia coli* isolates from Black-headed Gulls in the Czech Republic. *J. Appl. Microbiol*, (2007); 103, 11–19.

-Dortet, L, Oueslati, S, Jeannot, K, Tandé, D, Naas, T, Nordmann, P. Genetic and biochemical characterization of OXA-405, an OXA-48-type extended-spectrum  $\beta$  lactamase without significant carbapenemase activity. *Antimicrob Agents Chemother*, (2015);**59**:3823-8.

-Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W. & Jarlier, V. Phenotypic detection of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect*, (2008);14 (Suppl. 1), 90–103.

#### **-E-**

-Edwards, B. and I.M. Gould. "Antimicrobial stewardship: lessons from human healthcare Overview of the use of antimicrobials in humans Prudent and efficacious use of antimicrobials in healthcare settings Antimicrobial stewardship", (2012);31(1):135-144.

#### **-F-**

-Figueiredo, N., Radhouani, H., Goncalves, A., Rodrigues, J., Carvalho, C., Igrejas, G. *et al.* Genetic characterization of vancomycin-resistant enterococci isolates from wild rabbits. *J Basic Microbiol*, (2009); 49,491-494.

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

-Fischer, J., Schmoger, S., Jahn, S., Helmuth, R. et Guerra, B. NDM-1 carbapenemase-producing *Salmonella enterica subsp. enterica* serovar Corvallis isolated from a wild bird in Germany. *J Antimicrob Chemother*, (2013); **68**,2954-2956.

-Franz, CMAP, Holzapfel, WH. The genus *Enterococcus*: biotechnological and safety issues. In: Salminen A, von Wright A, Ouwehand A (eds) *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects*. Marcel Dekker, Inc, New York, (2004); pp. 199-248.

### -G-

-Gaisler, J., Kowalski, K. Results of the netting of bats in Algeria (Mammalia: Chiroptera) *Vest. Cs. Spoleo.Zool*, (1986); 50: pp 161-173.

-Grall, N., Andremont, A., Armand-Lefèvre, L. Résistance aux carbapénèmes: vers un nouvelle impasse ? *J Anti Infect*, (2011) ; 16, 1-16.

-Guenther, S., Ewers, C. et Wieler, LH. Extended-spectrum betalactamases producing *E. coli* in wild life, yet no other form of environmental pollution. *Front Microbiol*, (2011); 2,246.10.

-Guerra, B., Fischer, J. et Helmuth, R.. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Vet Microbiol*, (2014);**171**,290-7.

### -H-

- Hasan, B., Sandergren, L., Melhus, A., Drobni, M., Hernandez, J., Waldenstrom, J. *etal.* Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* in wild birds and free-range poultry, Bangladesh. *Emerging infectious diseases*, (2013); 18,2055-2058.

-Hawkey P.M. The growing burden of antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother*, (2008) ; 62 : i1-9.

- Hoyos-Mallecot, Y., Ouzani, S., Dortet, L., Fortineau, N., Naas T. Performance of the Xpert® Carba-R v2 in the daily workflow of a hygiene unit in a country with a low prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *J Antimicrobial Agents*, (2017); doi: 10.1016/j.ijantimicag.2017.01.025

**-J-**

-Jacoby, G.A. AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* (2009); 22, 161-82.

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

**-K-**

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

-Kim, T., P.I. Oh and A.E. Simor. “The economic impact of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals”. *Infect Control Hosp Epidemiol*, (2001); 22(2):99-104. Doi:10.1086/501871.

-Kim van der Zwaluw, Angela de Haan, Gerlinde N., Pluister, Hester J, Bootsma *et al.* The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods, (2015); DOI:10.1371.

-Klein, G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. *Int J Food Microbiol*, (2003);**88**(2-3), 123-31.

-Knox J.R. Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type  $\beta$ -lactamases: mutations, specificity, and three-dimensional structure. *Antimicrob. Agents Chemother*, (1995); 39(12): 2593-2601.

-Köhler, T., Michea-Hamzhepour, M., Henze, U., Gotoh, N., Curty, L. K. and Pechere, J. C. Characterization of MexE-MexF-OprN, a positively regulated multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol*, (1997); 23(2): 345-54.

-Kowalski, K., Rzebick Kowalska, B.– Mammals of Algeria – Polish academy of sciences –, (1991) ; 353 P.

-Kuzmin, I-V., Bozick, B., Guagliardo, S-A., Kunkel, R., Shak, J-R., Tong, S.,

*et al.* Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerg Health Threats*, (2011); **4**, 7159.

**-L-**

-Lancefield, R.C. A serological differentiation of human and other groups of hemolytic streptococci. *J Exp Med*, (1933); **57**, 571-595.

-Lee, K., Kim, C.K., Yong, D., Jeong, S.H., Yum, J.H., Seo, Y.H.Y. Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods*, (2010); **83**: 149–152.

-Liassine, N. Problème des pathogènes à Gram négatif résistants aux antibiotiques en milieu hospitalier. *Schweiz Med Wochenschr*, (2000); **130**: 1930-1936.

-Literak, I., R. Vanko., M. Dolejska A. Cizek R. Karpiskova. Antibiotic resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* in Russian rooks (*Corvus frugilegus*) wintering in the Czech Republic. *Lett. Appl. Microbiol*, (2007); **45**, 616–621.

-Ligue de protection des oiseaux. (2004).

-Livermore, D.M. "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev*, (1995); **8**(4): 557-584.

-Loncaric, I., Stalder, G.L., Mehinagic, K., Rosengarten, R., Hoelzl, F. et Knauer, F. 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. *LOS ONE*, (2013) ;**8**,840-48.

-Lytikäinen, O., Kanerva, M., Agthe, N., Möttönen, T., Ruutu, P. Healthcare associated infections in Finnish acute care hospitals: a national prevalence survey. *J Hosp Infect*, (2008); **69**, 288-294.

**-M-**

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

-Marchal, N., Bourdon, J.L., Richard, C. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin, Paris, (1982).

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

-Masuda, N., Sakagawa, E. and Ohya, S. Outer membrane proteins responsible for multiple drug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*, (1995); **39**(3): 645-9.

-Medeiros, A.A. (1984).  $\beta$ -lactamases. *Bnt. Med. Buli.* 40: 18-27.

-Merens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J.-D., Jeannot, K. *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires*, (2011); N° 435 // 49.

-Meslin, F.X. Global aspects of emerging and potential zoonoses: A WHO perspective. *Emerging Infectious Diseases*, (1997); 3: 223–228.

-Moissenet, D., Richard, P., Granados, M., Mérens, A., Fournier, D., Fines-Guyon, M. *etal.* Transfer between an Algerian and a french hospital of four multi drug resistant bacterial strains together via a single patient. *Int J Burns Trauma*, (2015); 5, 82-5.

-Moura, I., Torres, C., Siva, N., Somalo, S., Igrejas, G., Poeta, P. Genomic description of antibiotic in *Escherichia coli* and enterococci isolates from healthy Lusitano horses J, *Equine Vet, Sci*, (2013); 33(12), 1057-1063.

-Moya, A., Holmes, E.-C., and Gonzalez-Candelas, F. The population genetics and evolutionary epidemiology of RNA viruses. *Nat. Rev. Microbiol*, (2004); 2 : 279–288.

-Murray, B. E. The life and times of the *Enterococcus*. *Clin. Microbiol.* (1990); 3, 46-65.

#### -N-

-Nordmann, P., Cuzon, G., and Naas, T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis*, (2009); 9 : 228-236.

-Nordmann, P., Naas, T., and Poirel, L. Global spread of carbapenemase producing enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis*, (2011); 17 : 1791–1798.

-Nordmann, P. et Poirel, L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. *Clin Microbiol Infect*, (2014); 20:821-30.

**-O-**

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

-Olatain, A.O., Morand, S. et Rolain, J.M. Mechanisms of polymyxin resistance : acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol*, (2014); 5,1-18.

-Oravcova, V., Ghosh, A., Zurek, L., Bardon, J., Guenther, S., Cizek, A. *et al.* Vancomycin resistant enterococci in rooks (*Corvus frugilegus*) wintering throughout Europ. *Environ Microbiol*, (2013); 15,548-556.

-Oteo, J., Hernández, J.M., Espasa, M., Fleites, A., Sáez, D., Bautista, V. Emergence of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* and the novel carbapenemases OXA-244 and OXA-245 in Spain. *J Antimicrob Chemother*, (2013); 68:317-21.

**-P-**

-Paterson, D.L. and Bonomo, R.A. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*, (2005); 18: 657-686.

-Paulsen, I. T., Banerjee, L., Myers, G. S., Nelson, K. E., Seshadri, R. S., Read, T. D. *et al.* Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Science*, (2003);299, 2071-2074.

-Philippon, A., Arlet, G. and Jacoby, G.A. Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*, (2002); 46: 1-11.

-Pitout, J.D. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther*, (2012); 10, 1165-76.

-Poeta, P., Costa, D., Igrejas, G., Rodringue, J. and Torres, C. phenotypic and genotypic characterization of antimicrobial resistance in faecal enterococci from wild boar (*Sus scrofa*). *Vet microbial*, (2007); 25,368-374.

-Pulliam, J.R. Viral host jumps: moving toward a predictive framework. *EcoHealth*, (2008);5: 80–91.

-Pulliam, J.R., Epstein, J.H., Dushoff, J., Rahman S.A., Bunning M., Jamaluddin, A.A. *et al.* Agricultural intensification, priming for persistence and the emergence of Nipah virus: a lethal batborne zoonosis. *J. R. Soc. Interface*, (2011); 9 : 89–101.

#### **-R-**

-Radhouani, H., Poeta, P., Pinto, L., Miranda, J., Coelho, C., Carvalho, C. *et al.* Proteomic characterization of van A-containing *Enterococcus* recovered from Seagulls at the Berlengas Natural Reserve, W Portugal. *Proteome Sci*, (2010); 8,48-60.

- Roberts, M.C., Sutcliffe, J., Courvalin, P., Jensen, L.B., Rood, J., Seppala, H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother*, (1999);43, 2823-2830.

#### **-S-**

-Sande-Bruinsma, N.V., Grundmann, H., Verloo, D., Tiemersma, E., Monen, J., Goossens H. *et al.* *Emerging Infectious Diseases*, (2008);Vol. 14, No. 11 : 1722-1730.

-Santos, T., Silva, N., Igrejas, G., Rodrigues, P., Micael, J., Rodrigues, T., *et al.* Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus* spp. and *Escherichia coli* from wild birds of Azores Archipelago. *Anaerobe*, (2013); 24 : 25–31.

-Schipper, J., J.S. Chanson, F. Chiozza, N.A. Cox, M. Hoffmann *et al.* The status of the world's land and marine mammals: *diversity, threat and knowledge*. *Science*, (2008); 322, 225–230.

-Schleifer, K.H. and Kilpper-Balz, R. Molecular and Chemotaxonomic approaches to the classification of Streptococci, Enterococci and Lactococci: a review system. *Applied Microbiology*, (1987); vol. 10, no. 1, p. 1-9.

-Schwaber, M.J, and Carmeli, Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother*, (2007); 60: 913-920.

-Senkyrikova M., Husikova V., Chroma M., Sauer P., Bardon J., Kolar M. *Acinetobacter baumannii* producing OXA-23 detected in the Czech Republic. Springer verlag, (2013); doi: 10.1186/2193-1601-296.

-Silva, N., Igrejas, G., Vaz, J., Araujo, C., Cardoso, L., Rodrigues, J., Torres, C et Poeta, P. Virulence factors in enterococci from partridges (*Alectoris rufa*) representing a food safety problem. *Foodborne Pathog*, (2011); 8,831-833.

-Stedt, J., Bonnedahl, J., Hernandez, J., Waldenström, J., McMahon, B.J., Tolf, C. *et al.* Carriage of CTX-M type extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in gulls across Europe. *Acta Vet Scand*, (2015); 57:74.

-Stoesser, N., Sheppard, A.E., Peirano, G., Anson, L.W., Pankhurst, L., Sebra, R. Genomic epidemiology of global *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)- producing *Escherichia coli*, (2017): doi: 10.1101/111914.

- Sun, Jian, YongChang Xu, Rongsui Gao, Jingxia Lin, Wenhui Wei, Swaminath Srinivas *et al.* Deciphering MCR-2 Colistin Resistance. *Mbio*, (2017); 8: e00625-17.

#### -T-

-Tansarli, G.S., D.E. Karageorgopoulos, A., Kapaskelis and M.E Falagas. "Impact of antimicrobial multidrug resistance on inpatient care cost: an evaluation of the evidence". *Expert Rev Anti Infect Ther*, (2013); 11(3): 321-31. Doi: 10.1586/eri.13.4.

-Teixeira, L.M., Carvalho, M.da. G.S., Facklam, R.R., Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen J.H. *et al.* *Enterococcus*. In Manual of clinical microbiology, (2007); 9th edition 1, 430-54. ASM Pres DC USA.

-Telke, A.A., Rolain, J.M. Functional genomics to discover antibiotic resistance genes the paradigm of resistance to colistin mediated by ethanolamine phosphotransferase in *Shewanella algae* MARS 14. *Int J Antimicrob Agents*, (2015); 46,648-652.

#### -V-

-Van Hoek, A.H., Mevius, D., Mullany, P., Roberts, A.P., Aarts, H.J. Acquired antibiotic resistance genes. *Front Microbiol*, (2011); 2, 203-22.

-Voigt, C.C., F. Matt, R., Michener, T.H. Kunz. Low turnover rates of carbon isotopes in tissues of two nectar-feeding bat species. *Journal of Experimental Biology*, (2003); 206: 1419–1427.

-Vora, S., and Auckenthaler, R. Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique?. *Rev Med Suisse*, (2009); 5: 1991-1994.

**-W-**

-Werner, G., Coque, T.M., Hammerum, A.M., Hope, R., Hryniewicz, W., Johnson, A *et al.* Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Bull*, (2008);13(47), 37-39.

-[www.lahey.org](http://www.lahey.org) (consulté le 01/06/2017).



# **Annexes**

## ANNEXE I

### Composition des milieux de cultures

#### Gélose EMB

Agar (Lactose, Eosine – Bleu de méthylène Saccharosée) sélectif pour l'isolement des entérobactéries pathogènes).

#### Composition

Constituants	g/l
Peptone	10
Phosphate dopotassique	2
Lactose	5
Saccharose	5
Eosine	0,4
Bleu de méthylène	0,065
Agar	18

#### Préparation

Dissoudre 40g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C, pH=7,2 +/- 0,2

#### Gélose MAC – CONKEY

C'est un milieu sélectif, pour l'isolement des Salmonelles, Shigelles, ainsi que des bactéries coliformes dans les eaux, les produits alimentaires, pharmaceutiques et biologiques.

#### Composition

Constituants	g/l
Peptone de caséine	15
Extrait de viande	3
Lactose	10
Chlorure de sodium	5
Sels biliaires	5
Rouge neutre	0,07
Agar	20
Cristal violet	0,001

#### Préparation

Dissoudre 58g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C. pH=7,1 +/- 0,1



### Gélose MUELLER HINTON

Milieu non sélectif pour l'étude de la sensibilité ou la résistance des germes pathogènes envers les antibiotiques. Il constitue également un excellent milieu de base pour la fabrication de géloses au sang.

#### **Composition**

Constituants	g/l
Extrait de viande	3
Hydrolysate acide de caséine	17,5
Amidon	1,5
Agar	16

#### **Préparation**

Dissoudre 38 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

pH= 7,3

Si nécessaire, ajouter après refroidissement à 45-50°C à 10% du

Sang défibré.

### Gélose CITRATE de SIMMON

Milieu synthétique de différenciation des Entérobactériacées et de certains champignons sur la base de leur métabolisme du citrate présent comme seule source de carbone.

#### **Composition**

Constituants	g/l
Ammonium dihydrogenophosphate	1
Phosphate dipotassique	1
Chlorure de sodium	5
Citrate de sodium	2
Sulfate de magnésium	0,2
Bleu de Bromothymol	0,08
Agar	18

#### **Préparation**

Dissoudre 27,28 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

pH= 6,6 +/- 0,1

### Gélose TSI (triple Sugar Iron)

Milieu d'identification rapide pour les Entérobactéries. Il permet de mettre en évidence la fermentation du lactose ou de glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et la production d'hydrogène sulfuré.

## Composition

Constituants	g/l
Peptone de viande	15
Proteose peptone	5
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Glucose	1
Saccharose	10
Lactose	10
Citrate de Fer ammoniacal	0,3
Chlorure de sodium	5
Sodium Thiosulfate	0,3
Rouge de phénol	0,05
Agar	18

## Préparation

Dissoudre 70.65 g dans un litre d'eau distillée, répartir à raison de 7ml par tube à vis incliné, autoclaver 15 min à 121 °C.  
pH= 7,4 +/- 0,1

## Gélose VRBL

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre est utilisée uniquement pour le dénombrement de certaines Entérobactéries (*E. coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*).

## Composition

Constituants	g/l
Peptone de viande	7
Extrait de levure	3
Glucose ou Lactose	10
Sels biliaires	2
Chlorure de sodium	5
Cristal violet	0,002
Rouge neutre	0,03
Agar	18

## Préparation

Dissoudre 45 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.  
pH= 7,3  
Le milieu est généralement ensemencé par la méthode de la boîte coulée.

## Gélose BEA

Milieu sélectif des bactéries du genre *Streptococcus* appartenant au groupe D et les bactéries du genre *Enterococcus*.



## Composition

Constituants	g/l
Extrait de viande	3
Peptones	17
Extrait de levure	5
Citrate de sodium	1
Citrate de fer	0,5
Chlorure de sodium	5
Esculine	1
Bile de bœuf ( désoxycolate)	10
Azide de sodium	0,25
Agar	13

## Préparation

Dissoudre 55.75 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C.

pH= 7.1

## Bouillon CŒUR – CERVEAU

Adapté à la croissance des micro-organismes quel que soit leur mode respiratoire.

## Composition

Constituants	g/l
Cœur – cerveau infusion	37

## Préparation

Dissoudre 50 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

pH= 7,4 +/- 0,2

## Bouillon de ROTHE (S/C ; D/C)

Bouillon glucosé à l'Azide de sodium pour la recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux, (test présomptif).

## Composition

Constituants	g/l	S/C	D/C
Peptone de caséine		20	40
Extrait de viande		1,5	3
Glucose		4	8
Chlorure de sodium		5	10
Phosphate di potassique		2,7	5,4
Phosphate mono potassique		2,7	5,4
Azide de sodium		0,2	0,4

## Préparation

Dissoudre 36.1 de poudre de TOTHE S/C ou 72.2 g de poudre de ROTHE D/C dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121 °C.

pH= 6,9 +/- 0,1

## **Bouillon TSB**

Le TSB est un milieu nutritif universel exempt d'inhibiteurs et d'indicateur, il est hautement nutritif et permet une croissance abondante de la plupart des germes aérobies ou anaérobies, prévus pour un large éventail d'application.

### **Composition**

Constituants	g/l
Peptone de caséine	17
Peptone de farine de soja	3
D glucose	2,5
Phosphate di potassique	2,5
Chlorure de sodium	5

### **Préparation**

Dissoudre 30g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15min à 121 °C.

pH= 7,3 +/- 0,1

**Tableau VIII** : liste des réactifs utilisés durant cette étude.

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

## ANNEXE II

### Etapes de la coloration de Gram

#### ✓ Réalisation de frottis

- Mettre une goutte d'eau physiologique sur une lame propre ;
- Prélever une colonie bactérienne dans une boîte puis émulsionner le prélèvement dans la goutte et étaler sur la lame ;
- Fixer à la chaleur (faire passer la lame dans la flamme du bec bunsen puis laisser refroidir).

#### ✓ Coloration du frottis

- Déposer quelques gouttes du violet de gentiane (1mn) ;
- Déposer quelques gouttes de lugol et laisser quelques secondes ;
- Décolorer à l'éthanol (95 °) jusqu'à ce que le violet ne s'écoule plus du frottis (5 à 10 secondes) ;
- Rincer à l'eau ;
- Contre coloration avec de la fuchsine diluée (1 min) ;
- Rincer à l'eau et sécher la lame ;
- Déposer une goutte d'huile à immersion puis observer ( $\times 100$ ).

## ANNEXE III

**Tableau IX:** Interprétation des diamètres critiques des zones d'inhibitions selon les recommandations actualisées du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie, 2013 et 2017.

Antibiotique	Abréviation	Charge du disque	Diamètre critique		Marque
			≥S	<R	
<b>Amoxicilline/AC. Clavulanique</b>	AMC	30µg	≥19	<19	Himedia
<b>Aztreonem</b>	ATM	30µg	≥26	<21	Bio-rad
<b>Céfoxitine</b>	FOX	30µg	≥19	<15	Cypress diagnostic
<b>Céfotaxime</b>	CTX	30µg	≥26	<23	Himedia
<b>Ceftazidime</b>	CAZ	30µg	≥26	<21	Himedia
<b>Ertapeneme</b>	ERT	10µg	≥25	<22	Bio-rad
<b>Imipenenme</b>	IMP	10µg	≥22	<16	Cypress diagnostic
<b>Meropeneme</b>	MEM	10µg	≥22	<16	Bio-rad
<b>Temocilline</b>	TEM	30µg	≥20	<20	Bio-rad
<b>Vancomycine</b>	VAN	30µg	≥16	<16	Bio-rad
<b>Vancomycine</b>	VAN	5µg	≥12	<12	Bio-rad

## ANNEXE IV

**Tableau X:** Résultats du test de synergie.

Code	AMC(30µg)	IPM (10 µg)	(30 µg)CTX	ATM(30µg)	FOX(30 µg)	CAZ(30 µg)	Synergie
CS1	11(R)	26(S)	18(R)	-	19(S)	22(I)	-
CS2	12(R)	22(S)	13(R)	12(R)	20(S)	28(S)	-
CS3 <sub>1</sub>	14(R)	25(S)	12(R)	14(R)	23(S)	22(I)	-
CS3 <sub>2</sub>	9(R)	35(S)	12(R)	-	25(S)	14(R)	-
CS4	8(R)	40(S)	18(R)	10(R)	19(S)	18(R)	-
CS5	12(R)	33(S)	6(R)	14(R)	21(S)	20(R)	-
CS6	6(R)	30(S)	10(R)	6(R)	22(S)	6(R)	-
CS7	10(R)	22(S)	17(R)	13(R)	22(S)	17(R)	-
CS10	11(R)	31(S)	19(R)	22(I)	25(S)	8(R)	-
CS12	6(R)	26(S)	12(R)	15(R)	26(S)	6(R)	-
CS13	16(R)	30(S)	10(R)	11(R)	20(S)	8(R)	-
CS15	16(R)	32(S)	16(R)	28(S)	22(S)	6(R)	-
CS17	6(R)	26(S)	6(R)	12(R)	19(S)	6(R)	-
CS22	8(R)	27(S)	12 (R)	17(R)	20(S)	6(R)	-
CS26	8(R)	28(S)	12(R)	17(R)	21(S)	6(R)	-
CS27	6(R)	25(S)	6 (R)	12(R)	20(S)	6(R)	-
CS31	9(R)	28(S)	6 (R)	14(R)	6(R)	6(R)	-
CS33	6(R)	24(S)	6 (R)	11(R)	6(R)	6(R)	-
CS34	6(R)	24(S)	6 (R)	12(R)	6(R)	6(R)	-
CS35	10(R)	31(S)	14(R)	-	6(R)	10(R)	-
CS36	6(R)	29(S)	9 (R)	-	6(R)	9(R)	-
CS37	8(R)	29(S)	8 (R)	-	6(R)	6(R)	-
CS38	10(R)	33(S)	10 (R)	-	6(R)	6(R)	-
CS40	8(R)	36(S)	10 (R)	-	6(R)	12(R)	-
CS63	14(R)	40(S)	14(R)	-	6(R)	9(R)	+
CS71	10(R)	10(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	-
CS73	8(R)	27(S)	27(S)	13(R)	6(R)	6(R)	-
CS75	22 (S)	25(S)	25(S)	13(R)	6(R)	6(R)	-
CS81	9(R)	29(S)	29(S)	9(R)	6(R)	6(R)	-
CS85	12(R)	26(S)	26(S)	16(R)	6(R)	6(R)	-
CS101	7(R)	22(S)	22(S)	-	18(I)	8(R)	-
CS102	6(R)	23(S)	23(I)	-	6(R)	6(R)	-
CS103	14(R)	28(S)	28(S)	-	19(S)	13(R)	-
CS104	8(R)	23(S)	23(I)	-	21(S)	7(R)	-
CS105	6(R)	25(S)	25(I)	-	20(S)	9(R)	-
CS106	8(R)	24(S)	24(I)	-	26(S)	8(R)	-
CS107	6(R)	21(I)	21(R)	-	6(R)	6(R)	-
CS108	10(R)	30(S)	30(S)	-	26(S)	7(R)	-
CS110	7(R)	23(S)	23(I)	-	20(S)	6(R)	-
CS111	10(R)	29(S)	29(S)	-	20(S)	7(R)	-
CS112	10(R)	28(S)	28(S)	-	26(S)	9(R)	-
CS113	11(R)	29(S)	29(S)	-	28(S)	9(R)	-
CS114	6(R)	22(S)	22(R)	-	6(R)	6(R)	-
CS116	7(R)	22(S)	22(R)	-	10(R)	8(R)	-
CS117	6(R)	24(S)	24(I)	-	6(R)	6(R)	-
CS118	9(R)	29(S)	29(S)	-	22(S)	8(R)	-

**Tableau XI: Résultats de la galerie classique. Compléter**

Code	BN	TSI					CS	Mannitol mobilité		Clark et Lubs		Urée Indole			EPEI	Oxy	ONPG	Chromagar	Identification
		G	L	S	H2S	Gaz		M	Mob	RM	VP	U	Ind	TDA					
CS31	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS35	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS36	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	Bleu vert	<i>Raoultella</i> <i>Sp.</i>	
CS37	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS38	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	Bleu vert	<i>Raoultella</i> <i>Sp.</i>	
CS40	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS63	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-			-			Bleu vert	<i>Kluyvera</i> <i>ascorbata</i>	
CS71	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-			Bleu vert		
CS73	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-			Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS75	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-			-			Blanches opaque	ND	
CS81	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-			Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS85	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-			Bleu vert	ND	
CS102	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-			Bleu vert	<i>Raoultella</i> <i>sp</i>	
CS107	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-			Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>sp</i>	
CS114	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-			Bleu vert	<i>Enterobacter</i> <i>Sp</i>	
CS116	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-			Bleu vert	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>	
CS117	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-			Bleu vert	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i>	

EPEI : Eau péptonée exempte d'indole

**Tableau XII : Résultats du test CIM.**

Code	Diamètre MEM (10 mg) (mm)	Interprétation
8	28	S
14	30	S
28	26	S
32	26	S
39	29	S
51 <sub>1</sub>	29	S
51 <sub>2</sub>	28	S
43	29	S
44	26	S
45	28	S
46	28	S
56	26	S
58	27	S
59	29	S
60	28	S
104	26	S

## Résumé

Les chauves-souris sont les seuls mammifères qui ont la capacité de voler, parcourent de longues distances et ont un régime alimentaire très varié, ce qui influence sur la répartition de la flore gastro-intestinale.

L'objectif de notre étude est la recherche de la flore résistante aux antibiotiques chez la chauve-souris.

Un total de 120 prélèvements (Guano et écouvillonnages cloacal) ont été collectés au niveau de la région de Bejaia (Grotte d'Aokas) et de Batna. Après isolement et identification, les phénotypes de résistance aux antibiotiques ont été déterminés par l'utilisation de tests phénotypiques (DD-test, test à la cloxacilline, test de CIM, test de Hodge). Les CMI des souches d'entérocoques vis-à-vis de la vancomycine ont été déterminées.

Une seule souche est retrouvée productrice de BLSE (*Kluyvera ascorbata*) et 2 souches sont résistantes aux carbapénèmes (*Pseudomonas sp.* et *Enterobacter sp.*). Aucune souche d'*Enterococcus* n'a été retrouvée résistante à la vancomycine.

Les chauves-souris peuvent être des réservoirs et vecteurs de bactéries résistantes aux antibiotiques, ce qui constitue une menace pour la santé publique.

**Mots-clés :** chauves-souris, résistance aux antibiotiques, BLSE, Carbapénèmes, Entérocoques.

## Abstract

Bats are the only mammals which have the capacity to fly, cover long distance and have a various alimentary diet which can influence on the distribution of the gastro intestinal flora.

The objective of our study is to screen antibiotic resistant bacteria in bats.

120 samples (Guano and cloaca swabs) were carried out at the caves of Bejaia (Aokas) and Batna. After isolation and identification, antibiotic resistance phenotypes were determined by the use of phenotypic tests (DD-test, cloxacillin, CIM test and Hodge test). MICs of *Enterococcus* strains to vancomycin were determined.

A single strain is found producing ESBL (*Kluyvera ascorbata*) and 2 strains are resistant to carbapenem (*Pseudomonas sp.* and *Enterobacter sp.*). No strain of *Enterococcus* was found resistant to vancomycin.

Bats can be a reservoir and vector of antibiotic-resistant bacteria, what constitute a threat to public health.

**Key-words:** Bats, antibiotic resistance, ESBL, carbapenemases, Enterococci.