

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2019

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Présenté par : *ALOUACHE Cherine*

Thème

*La résistance aux Beta lactame chez la flore bactérienne
(Gram négatifs) isolée des oiseaux migrateurs « Cigogne
Blanche ».*

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>M. CHERIFI A</i>	<i>MAB.</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mlle. DJENADI K</i>	<i>MAB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>M. SOUALAH-ALILA H</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. De Souk Ahras</i>	<i>Co-Promotrice</i>
<i>M. MESSAD S</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examinatrice</i>

Année Universitaire : 2019/2020

Remerciements

Je commence par remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, l'amour du savoir et surtout le courage et la patience pour effectuer ce modeste travail.

*Je commence par présenter nos vif remerciements aux membres du jury madame **CHERIFI A** et Madame **MESSAD S** pour l'intérêt qu'elle ont portée à mon travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.*

*J'exprime également mes profondes reconnaissances et mon vif remerciements à madame **DJENADI Katia**, qui m'a honoré de proposer et diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. J'étais satisfaite de votre bon enseignant, merci de m' avoir guidée avec patience et d' avoir consacré autant d' heures pour les corrections de ce manuscrit ; Je ne peux, madame , que sincèrement vous exprimer mon respect et mon gratitude.*

*Mes remerciements les plus cordiaux et toutes mes pensées de gratitude à ma Co-promotrice Madame **SOUALAH-ALILA Hana** qui a codirigé mon projet avec plein de sagesse, de générosité et de gentillesse.*

Enfin mes remerciements s' adressent plus particulièrement à ma famille, amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l' élaboration de ce travail

Dédicace

*Je dédie ce mémoire à
Mes parents*

*Ma mère **Malika**, 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, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*Mon père **Rabah**, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*A mes frères : **Nadjib, Amine, et mon beau-frère Youcef**
Merci de m'avoir soutenu et témoigné votre affection durant tout ce temps. J'ai toujours pu compter sur vous quel que soit le moment.
Restons unis et soyons à la hauteur de nos parents. Que DIEU vous bénisse.*

*A mes sœurs : **Kamilia, Lilia et son fils Arselane, Sabrina, Sandra et ma belle-sœur Janna**
Merci de m'avoir soutenu et témoigné votre affection durant tout ce temps. J'ai toujours pu compter sur vous quel que soit le moment.
Restons unis et soyons à la hauteur de nos parents. Que DIEU vous bénisse.*

*A mes amis(es) qui m'ont aidé de réaliser ce travail : **Yacine, Sadek, Moussa, Sarah, Imad, Fatima, Sarah, Sarah, Asma Redouane, Zahra**Merci beaucoup mes amis(es).*

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 1

Chapitre I : Recueil bibliographique sur la cigogne blanche

I.1 Aperçu général sur les *ciconiida*.....4

I.1.1 Présentation général de la cigogne blanche.....4

I.1.1.1 Nomenclature.....4

I.1.1.2 Systématique et sous espèces.....4

I.1.2 Identification.....6

I.1.3 Migration.....7

I.1.4 Écologie trophique.....8

I.1.5 Menace et protection.....8

I.1.6 Diversité de microbiote intestinale chez les cigognes.....9

I.1.6.1 Tube digestive des oiseaux9

I.1.6.2 Groupes bactériens principaux du microbiote des oiseaux.....9

Chapitre II : Les Beta lactames, antibiotiques et résistance

II.1 Les Beta lactames, molécules et mode d'action.....11

II.2 La résistance aux betas lactames.....12

II.2.1 Type de résistance13

II.2.1.1 La résistance intrinsèque (Naturel).....13

II.2.1.2 La résistance acquise.....13

II.2.2 Mécanismes de résistances.....14

II.2.2.1 Diminution de la perméabilité.....14

II.2.2.2 Hyperproduction de système d'efflux.....14

II.2.2.3 Modification des protéines liée à la pénicilline (PLP).....15

II.2.2.4 Production des betas lactamases.....15

II.3 La génétique et la dissémination des gènes de résistances aux betas lactamases.....	15
II.4 Le rôle de l'environnement dans l'émergence et la propagation des bactéries résistantes.....	16
II.5 Les déterminants de l'apparition et la diffusion des bactéries résistantes aux antibiotiques.....	17

Chapitre III: Méthodologies de l'étude du microbiote intestinale de la cigogne blanche

III. 1 Echantillonnage.....	19
III.2 Isolement, purification et identification du microbiote intestinale de <i>Ciconia ciconia</i>	19
III.2.1 Galerie biochimique (API20E).....	19
III.2.2 Identification avec la méthode de MALDI- TOF -SM.....	20
III.2.3 Identification moléculaire par (PCR 16s ARN).....	21
III. 3 Etude du profil de résistance.....	21
III. 3.1 Test de sensibilité aux betas lactames.....	21
III. 3.2 Détermination de la concentration minimal d'inhibition (CMI).....	21
III.4 Etude du mécanisme de résistances	22
III.4.1 La détection d'isolats producteurs de BLSE.....	22
III.4.2 La détection d'isolats producteurs de metallo-Beta lactamases.....	23
III.4.2.1 Carba NP test modifié.....	23
III.4.2.2 Test Hodge modifié.....	23
III.4.2.3 La détection de production des MBLs (type de carbapénémase).....	23
III.5 Identification des gènes de résistances.....	24

Chapitre IV : Diversité bactérienne et résistances chez les cigognes blanches

Conclusion.....	35
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Liste des abréviations

aadA:Aminoglycosideresistanceprotiens

ADN :AdénosideDisoxyrébonucléique

AMC: Ampicilline /Acide clavolunique

AMP: Amoxicilline+ acide clavolunique

AMP:AntimicrobialPeptides

AmpC:Ampicilinase

AMX:Amoxiciline

ATCC:AméricanType Culture Collection

ATM : Aztréonam

STEPs :Station d'Épuration

BLSE : Beta Lactamase à Spectre Etendu

C3G : Céphalosporine de troisième génération

CA-SFM: Comité de l'Antibiogramme de la SociétéFrançaise de Microbiologie

CAZ : Céftazidime

CAZ:Ceftazidime

CIPO : Conseil International de la Protection des Oiseaux

CMI: Concentration Minimale d'Inhibition

CMY:Céphamycinase

CO: Colistine

CTAB: CétyleTriméthylAmmoniumBromide

CTX : Céfotaxime

CTX-M:Céfotaximase-Munich

DDST : Double Disque Synergie Test

dNTP:DésoxyNucléotideTri Phosphate

EB:Enterobacteries

EDTA : Acide EthylèneDiamine Tétracétique

EPC : Entérobactéries Productrice de Carbapénemase

ETP : Ertapénéme

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FAO: Food and l'AgricultureOrganisation

FEP:Péfloxacine

IMP : Imipenème

IntI:Intégrase

SI:SéquenceInsertion

IZD : Diamètres des Zones d'Inhibition

K.O:KlebsiellaOxytoca

KCL: Chlorure de potassium

KPC: KlebsiellaPneumoniae Carbapénemase

MAC: Mac Conkey

LB: Luria-Bertani

MALDI-TOF: MatrixAssistedLaser Desorbtion and Ionisation –Time Offlight

MBL: Métallo-Béta_Lactamases

MCR: MobilizedColistineResistance

MEM: Méropénéme

MGcl2: Chlorurede Magnésium

MHT: LeTest Hodge Modifié

MM: *MorganellaMorganella*

NDM: New DelhiMétallo b-lactamase

OIF : Office Internationale des Epizooties traduit en anglais « world organisation for animal Health »

OMP : Protéines de la Membrane externe ou « Porine » traduit en anglais « Outer Membrane Protein »

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OXA: Oxacillinase (Oxacillin hydrolyzing abilities)

PBP: Pénicilline Binding Protéines

PCR: Polymerase Chain Reaction

PEDO: Pedobacter gene

PH: Potentiel Hydrogène

PLP : Protéines Liant la Pénicilline

PMQR: Plasmide Mediated Quinolone Resistance

QRDR: Quinolone Resistance Determinant Region

R. Ornithinolytica: Raoultella Ornithinolytica

SHV: SulfHydryl Variable

SUL: Sulfamide Resistance Gene

TEM : Témoniera

TET: Tetracycline Resistance proteins

THG: Transfert Horizontal de Gènes

UFC: Unité Formant Colonie

UV: Ultraviolet

VIM: Verona Integron-Encod

Liste des figures

Figure 01 : Un adulte de cigogne blanche.....5

Figure 02 : Claquement de cigogne blanche.....7

Figure 03 : Mode d'action d'amoxicilline.....12

Figure 04 : Complexité des interrelations entre les 04 écosystèmes (Animal/homme/sol/eau).....18

Figure05:Résultat d'un test de double synergie.....22

Introduction

Introduction

La majeure partie des germes pathogènes qui menacent la santé publique sont originaires de la faune sauvage, on parlera ainsi de la zoonose. La zoonose selon Darwin c'est : une maladie infectieuse transmissible ; dans les conditions naturelles des animaux vertébrés à l'homme et vice versa. En plus des chauves-souris, les oiseaux sont aussi l'un des réservoirs de microorganismes pathogènes des animaux domestiques et de l'humain. Le virus d'influenza (H1N1) porté par les oiseaux a marqué l'histoire par des épidémies de la grippe aviaire et la grippe Espagnole. Les oiseaux des régions urbaines peuvent porter des bactéries zoonotiques. Et leur possibilité de se déplacer sur de longues distances et s'installer au même environnement que l'humain peut contribuer dans la dissémination de l'agent pathogène entre l'oiseau, l'humain et l'animale domestique (Camacho *et al.*, 2016). La dissémination ne se limite pas uniquement aux germes pathogènes, mais ces oiseaux peuvent également participer dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement naturel et avoir un impact néfaste sur la santé publique (Han *et al.*, 2011).

L'être vivant le plus adéquat pour évaluer cette situation zoonotique c'est *Ciconiaciconia* ; la cigogne blanche. Une espèce d'oiseau vivant très proche de l'humain, les cigognes blanches construisent des nids sur des bâtisses de l'humain telles que les toits des bâtiments agricoles ou les poteaux électriques. De plus, les *Ciconiaciconias* sont des migrants transcontinentaux et peuvent avoir un rôle important dans la dispersion intercontinentale des microorganismes pathogènes et de la résistance aux antibiotiques. Par conséquent, la progéniture de l'oiseau infectée dans les environnements de reproduction peut transporter les microorganismes résistants ou sensibles vers leur lieu d'hivernage qui est l'Afrique. Non seulement, mais le comportement de l'oiseau et son occupation des aires à proximité des décharges ouvertes et des eaux usées, les met en risque de contamination avec des germes pathogènes et /ou résistants aux antibiotiques originaires du milieu hospitalier. Contribuant ainsi à la dissémination de la multirésistance aux antibiotiques dans l'environnement naturel (Nawrot *et al.*, 2009, Han *et al.*, 2011).

De nos jours, nombreuses sont les publications qui ont investi sur les bactéries et leur impact sur la vie et la survie des oiseaux, spécialement les oiseaux migrateurs traitant la diversité de la flore intestinale et le profil de résistance de ces souches bactériennes (Han *et al.*, 2011, Camacho *et al.*, 2016, Morakchi *et al.*, 2017, Bouaziz *et al.*, 2017). Et actuellement, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) définit la résistance aux antibiotiques comme un problème majeur de santé publique ; qui peut conduire à l'impasse thérapeutique. L'utilisation

excessive et inappropriée de ces molécules actives en médecine humaine et en médecine vétérinaire, induit l'émergence de la multiplication et de la propagation des bactéries multirésistantes **(Guyomard., 2016)**. Face à ce dilemme de zoonose et du fait que la résistance aux antibiotiques peut se transmettre entre l'homme, animaux et l'environnement. L'organisation Mondiale de la santé(OMS) coopère avec l'organisation Mondiale de la santé animale et la Food and agriculture organisation (FAO) au sein du concept « ONE HEALTH », dans le but de limiter la dissémination de ce problème de santé publique « La résistance aux antibiotiques » **(Briet., 2018)**.

Compte tenu de la possible implication de la faune migrateur dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les humains on s'est intéressé aux cigognes blanches et la flore intestinales de ces oiseaux migrants.

A défaut de la situation sanitaire de COVID 19 qui a touché le monde et notre pays, nous n'avons pas pu poursuivre la démarche expérimentale telle qu'elle a été programmée au début de l'année universitaire. De ce fait, nous nous sommes limité à une synthèse bibliographique dans laquelle on va vérifier l'hypothèse : Les oiseaux migrants peuvent être des véhicules de la résistance aux antibiotiques à travers le monde, contribuant ainsi à la dissémination de cette résistance dans l'environnement naturel et par la suite chez l'homme.

Ce présent manuscrit est divisé en quatre chapitres :

- Le premier chapitre : nous avons réalisé une étude bibliographique sur notre sujet d'étude « les cigognes blanches » dans leurs environnements
- Le deuxième chapitre est consacré pour la description actuelle de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement.
- Le troisième chapitre est consacré à la méthodologie de travail suivit pour réaliser une étude du microbiote intestinale des cigognes blanches.
- Le quatrième chapitre : présente une synthèse des principaux résultats obtenus dans des études similaires accompagné avec une discussion de ces derniers.

*Chapitre I : Recueil bibliographie
sur la cigogne*

La cigogne blanche (*Ciconiaciconia*), membre de la famille ciconiidés, affiliée à l'ordre de ciconiiforme c'est un oiseau paléarctique qui niche en Europe, en Asie occidentale et en Afrique du nord. Elle se caractérise par une taille qui varie de 90 -115 cm et un poids allant de 3 à 3,5 kg (**Le Demna, Natura., 2000 ; Jourde et Rebeyrat, 2011**). La cigogne blanche est l'un des échassiers le plus facile à observer. La cigogne blanche est un oiseau commun et typique de la campagne ouverte et cultivée dans de nombreuse partie de son aire de répartition. La cigogne blanche, une espèce anthropophile considérée comme une alliée de l'agriculture en raison dela quantité d'insectes nuisibles qu'elle consomme. Non seulement, mais elle est aussi connut pour sa consommation des orthoptères. Elle partage plusieurs éléments de leurs niches écologiques et donne une bonne illustration sur la disponibilité faunistiques des milieux qu'elle fréquente constituant ainsi des modèles et des indicateurs biologiques de choix pour la connaissance de l'état de écosystème et leur évolution (**Bouriach.,2016**).

Depuis les années 1930, la population de cigogne a enregistré une baisse. Cettebaisse s'est marquée après les années 1950 (**Boukhtache., 2009**). Néanmoins, les résultats de recensements internationaux organisés en 1994-1995 et 2004-2005 ont révèle un développement positif des populations des cigognes occidentales comprend environ 44000 couples dont 70% en Espagne (**Thomsen et Hotker., 2006**).

Suivant leurs trajectoire d'immigration les cigognes blanches d'Europe se divisent en deux groupes bien distinctes à savoir : une partie suit une voie orientale passant par le Bosphore ; la Turquie et la Palestine pour rejoindre l'Est africain et une autre emprunte une voie occidentale passant par la France ; L'Espagne ; le détroit de Gibraltar survole le Maroc ; puis la Mauritanie pour qu'elle aboutit et se dissémine entre le Camerone et Sénégal (**Khelili., 2012**).

La cigogne est un bon indicateur de la qualité de l'environnement naturel. Elle ne vive que dans les endroits où l'environnement n'est pas transformé. Dans ces lieux, ces oiseaux sont capables de trouver des aires d'alimentation riche, assurant ainsi leur survie. Si les cigognes quittent une zone ; ceci indique une baisse de sa valeur naturelle. Ainsi on peut considérer la cigogne blanche comme un sujet idéal pour l'étude d'une population d'oiseaux ; car elle contribue à l'acquisition de connaissance concrètes sur l'environnement et dépendance ; tout en façonnant une attitude active envers le monde environnant (**Khelili., 2012**).

I.1 Aperçu général sur les *Ciconiidae*

Ce sont des grands oiseaux aux pattes longues, au cou allongé et aux ailes longues et larges. Le cou et les pattes sont étendus à l'horizontal ces derniers trainant légèrement. La base palmée des pieds possède des habitudes aquatiques. Ils se nourrissent cependant dans les terrains plus secs que la plupart des oiseaux du même ordre (Khelili., 2019). Leur vol est extrêmement puissant et saisissant et elle prend une forme aérodynamique particulière distincte. (Boukhtache., 2009) .Les *ciconiidae* regroupent 17 espèces de cigogne, toutes sauf trois se retrouvent dans l'ancien Monde (Khelili., 2019).

I.1.1 Présentation générale de la cigogne blanche (*ciconiaciconia*)

I.1.1.1 Nomenclature

Le nom scientifique de la cigogne blanche (*Ciconiaciconia*), lui a été assigné par Linné en 1758. Actuellement, dans toute son aire de répartition, on entend parler de la cigogne blanche sous différents noms vernaculaires. Nous retiendrons ceux cités par (Boukhtache., 2009). Par exemple en anglais (white strock).

D'après Etchecopra et Hue., 1964 in Boukhtache., 2010 la cigogne blanche est appelée encore dans les régions Nord de l'Afrique. En arabe parlé (Algérie ; Maroc ; Tunisie ; La Mauritanie et du Sahara occidental) : Bellaredj, Berraredj , Hadj – Kacem. Et en berbère (Kabylie, Gourara, Aures) :Falcou.

I.1.1.2 Systématique et sous espèces

a. Systématiques

La cigogne blanche sont classé par Geroudet (1978) ; Schirer (1981) ; Oarley (1985) ; Greutz(1988) ; Bock (1994) ; Mahler etWeick(1994) et WhitField et Walker (1999) dans les taxons suivants(Khelili.,2012) :

- Règne :*Animalia*
- Sous règne :*Metazoa*
- Super embranchement :*Gnatosomata*
- Super classe :*Tetrapoda*
- Class : *Aves*
- Sous classe :*Crinates*

- **Ordre** : Ciconiiformes
- **Famille** : *Ciconiidae*
- **Genre** : *Ciconia*
- **Espèces** : *Ciconia Ciconia L ; 1758*
- **Synonyme** : *Ciconia alba bechestei*

b. Sous espèces de *Ciconia Ciconia* et leur distribution

Il existe dans le monde trois sous espèces de la cigogne blanche (Cramp & Simmons, 1977; Coulter *et al.*, 1991).

- Cigogne blanche (*Ciconia Ciconia alba* Linné ; 1758) : niche dans une partie de l'Asie mineure, en Europe centrale (Autriche, Bulgarie ; Portugal) ; En Afrique du nord (du Maroc à la Tunisie) ; En Afrique du sud (Province du Cap). Rencontrée en Afrique de l'ouest tous les mois de l'année sauf au moins de juin (Dekeyser & Derivot, 1966).

- (*Ciconia Ciconia asiatica* à Severtzov, 1872) : Son aire de reproduction se situe en Asie centrale et niche donc au Turkestan ; l'ancienne URSS ; ouzbékistan ; Tadjikistan et à l'extrême ouest de Sinkiang en Chine (Ceutz, 1988).

- Cigogne blanche orientale (*Ciconia Ciconia boyciana* Swinhoe ; 1873) : considérée souvent comme une espèce propre ; nidifiée en Asie orientale ; de l'Ussuri à la Corée et au Japon (COULTER *et al.*, 1991). D'après (Lowe *et al.*, 1994). La cigogne orientale *Ciconia Ciconia boyciana* figure sur la liste des oiseaux menacés dressée par le CIPO (Conseil International de la Protection des Oiseaux).



Figure 01 : Un adulte de cigogne blanche

(www.oiseau.net)

I.1.2 Identification

La cigogne blanche se caractérise par sa nidification dans le voisinage des humains et sa faible timidité, ce qui la rend l'oiseau le plus facile à étudier. Il est bien connu et populaire par son aspect caractéristique. Les adultes sont facilement reconnaissables à leur plumage blanc et noir, ailes robustes et larges à leur grand cou et brève queue, bec rouge vif et long droit et très pointu et pattes hautes minces de couleur rouge vif, rémiges primaires et secondaires noires et doigts reliés par une petite membrane (Khelili., 2019).

La distinction des sexes dans la nature est très difficile, le mâle est légèrement plus grand que la femelle environ 10% (Mata., 2010 ; Tryjanowski *et al.*, 2004). Ils ont un plumage identique. Cependant le mâle a le bec un peu plus long et un plus haut à la base (Cahier d'habitat).

Les jeunes ressemblent beaucoup aux adultes avec le bec noirâtre devenant progressivement rougeâtre à pointe noire, les pattes brun-rouge et le plumage est blanc avec du brun sur les ailes (Khelili., 2012 ; Cahier d'habitat).

Le vol de la cigogne blanche est un vol battu énergique sans souplesse mais efficace, qui lui permet d'acquérir une vitesse de croisière importante, pour ses déplacements migratoires de longue distance. La cigogne blanche utilise le courant d'air ascendante qui lui permet de gagner l'altitude sans grand effort. Elle porte le cou tendu en avant un peu incliné au-dessus de l'horizontale et les pattes dépassent la queue. La cigogne utilise aussi le vol plané pour ses déplacements locaux (Khelili., 2019).

La cigogne est un oiseau presque mutique ; ont un bruit caractéristique produit lors de claquements de bec prolongé et très sonores, tête renversée en arrière et touchant le dos lorsqu'elles prennent leur tour sur le nid (Figure 02) (Khelili., 2012). Par ailleurs les poussins produisent des sifflements et des grincements aigus qui sont de curieux matinalement et grincements pour mendier leur pitance (Bouklmoun *et al.*, 2015).



Figure 02 : Claquement des cigognes blanches ([www .oiseau.net](http://www.oiseau.net))

I.1.3 La migration

Selon Dorst *et al.*, la migration est un témoignage de la recherche des conditions optimales de suivi telles que la nourriture. Dans le cas où la nourriture n'est pas accessible, les populations qui vivent dans cet écosystème deviendront migratrices (Dorst *et al.*, 1971). Chaque année entre la fin du mois de juillet et la deuxième décennie du mois d'août ; le phénomène de migration s'effectue. Les cigognes quittent leurs lieux de reproduction pour se déplacer en sud d'Afrique pour y passer l'hiver sur les lieux de reproduction (Bouriach., 2016). Avant de commencer leurs migration ; les cigognes adaptent un régime alimentaire qui leur fera perdre du poids et atteindre une forme idéale pour le vol plané (Amold., 1992).

Les cigognes qui se reproduisent en Europe ; Asie et Afrique du Nord migrent vers leurs quartiers d'hivernage africain dès la fin de l'été (Juillet et Août), pour ne remonter vers le Nord à partir du mois décembre. Leur arrivée sur les lieux de nidifications s'étale jusqu'à la fin mars ; de nombreux migrateurs ne se déplacent que la nuit, alors que les cigognes migrent surtout le jour (Khelili., 2019). Il a été noté que la migration d'arrivée se fait par étapes alors que la migration de retour est massive et rapide pour éviter les conditions climatiques du Sahara. La migration de retour est la réciproque de l'aller, elle s'effectue après un séjour de quelques mois sur le continent africain (Boukalmounet *et al.*, 2015).

I.1.4 Régime alimentaire

La cigogne blanche est une espèce opportuniste qui s'alimente de tout ce qui est disponible dans son milieu. Son régime est complètement animale, elle récolte une grande variété des proies y compris : insectes (coléoptères et orthoptère); reptiles, petits mammifères, grenouilles, mollusques, crustacés, poissons, vers de terre surtout en début de saison quand les autres aliments sont encore rares et même des petits oiseaux (Fellag.,2006 ;Bouriache., 2016). Durant les saisons sèches, la cigogne change son régime d'alimentation des poissons et grenouilles vers les rongeurs. L'appétit insatiable de la cigogne peut l'amener à capturer des proies plus grosses (Fellag., 2006).

Les cigognes blanches nourrissent aussi aux urbaines et les décharges publiques qui peuvent contenir des déchets médicaux contaminés (Khelili., 2012). En Espagne les cigognes blanches utilisent les décharges à ciel ouverts comme une nouvelle source de nourriture surtout en hiver. Ceci a été également écrit en Algérie par Boukhemza., (2000) et Sbiki., (2008)(Boukhemza.,2000 ; Sbiki.,2008).

I.1.5 Menace et protection

Le déclin de la population mondiale de la cigogne blanche *CiconiaCiconia* durant la dernière décennie est associé avec l'augmentation des nombres d'accident; la majorité due à l'impact anthropogénique comme les pesticides, la Chasse, l'urbanisme et les réseaux électriques, et des facteurs naturels causés principalement par des maladies infectieuses(Bouriach.,2016). Non seulement, mais les décharges à ciel ouverts constituent aussi un danger potentiel pour la survie des cigognes blanches. Comme précédemment cité les décharges à ciel ouverts constituant l'une des sources de nourriture pour la cigogne surtout en hivers. Il est important de signaler que ces décharges peuvent contenir des restes de médicaments ou des hormones synthétiques, ce qui peut avoir des conséquences négatives pour les oiseaux à savoir, infections ou contaminations avec des germes multi-résistants(Boudra, Hadouche.,2015). Face à ces menaces de nombreux organismes sont mobilisés pour protéger ces oiseaux migrateurs. La cigogne blanche figure sur la liste des espèces concernées par la désignation de Zone de Protection Spéciale (ZPS) et la mise en œuvre des mesures de conservation spéciale concernant son habitat. La cigogne blanche est une espèce protégée conformément à la loi sur la protection de la nature, la convention de Bonn, la convention de Bern et la convention de Ramsar(Benharzalah., 2017, Bouriach., 2016).

I.1.6 Diversité de microbiota intestinale chez les cigognes

Un microbiote intestinal ou flore intestinale constitue un élément important pour l'hôte, il est impliqué de différentes façons dans la physiologie de son hôte. Il est également impliqué dans la digestion ainsi que la transformation et l'assimilation de composés non utilisables directement par l'hôte ainsi que différents processus métabolique (Philipe., 2015). Chez les animaux le microbiote intestinal est perturbé par le changement de régime alimentaire ; en plus de ce changement les animaux dans la nature peuvent également rencontrer dans l'environnement des composés tels que les antibiotiques, ces derniers peuvent influencer sur la diversité microbienne de la flore intestinale ainsi de provoquer l'émergence des bactéries résistantes et potentiellement pathogène (Vasai., 2013).

I.1.6.1 Tube digestive des oiseaux

Le tube digestive des oiseaux se développe selon l'âge, il est composé en plusieurs segments allant du bec au cloaque et étant composé du jabot. Les trois segments de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum, iléon) et des excréments sont les plus riches en microorganismes. Tandis que proventricule(estomac), gésier, pancréas, du rectum sont beaucoup moins riches en microorganismes dû à des conditions de croissance peu favorable à savoir le pH et les molécules antibactériennes(Vasai., 2013).

I.1.6.2 Groupe bactériens principaux du microbiote intestinal des oiseaux

Les résultats de séquençage de l'ARN 16S, ont révélé une grande diversité du microbiote intestinal chez la cigogne blanche.

- **Lactobacillales** : Un ordre bactérien qui regroupe des bactéries anaérobies facultatives, qui font partie de familles des *Lactobacillaceae*, *Entérococcaceae* et *Streptococcaceae*. La famille des *Lactobacillaceae* et le genre *Lactobacillus* présent de façon majoritaire au niveau de microbiote intestinal (Klein *et al.*, 1998). Ces bactéries sont capables d'adhérer aux muqueuses de la paroi intestinale permettant ainsi une colonisation du tube digestif (Velez *et al.*, 2007).
- **Bacteroidales** : Cet ordre est composé de bactéries anaérobies strictes avec une forte activité fermentative. Ces bactéries ont des activités hydrolytiques, cellulotiques, hémicellulolytique, amylolytiques et protéolytiques. Elles sont également capable de fermenter plusieurs glucides tels que le glucose, le saccharose ou plusieurs pentose (Fonty et Chaucheyras- Durand, 2007).

- ***Clostridiales*** : Ce groupe comprend des bactéries anaérobies strictes dont la famille la plus dominante c'est les *Clostridiaceae* et les *Ruminococcaceae*. Certaines espèces de ce groupe ont des activités cellulolytique, amylolytiques, lipolytiques et protéolytique. Elle présente également des activités fermentative avec activité saccharolytique ou utilisant des acides organiques (Fonty et Chaucheyras- Durand, 2007).

*Chapitre II : Les Beta-lactames,
antibiotique et résistance*

Les maladies infectieuses ont été la principale cause de mortalité à travers le monde par l'apparition de plusieurs pandémies ce qui a causé la fin de multiples civilisations à travers le temps (**Kardss 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 (**VanHoeket al ,2011**). Depuis leur découverte jusqu'aux années 70 une douzaine de familles furent découvertes et sont utilisées de nos jours pour le traitement des maladies infectieuses (**Bassetti et al 2013**).

II .1. Les Beta lactames, molécule et mode d'action

Les Beta lactames sont les premières molécules qui ont une activité antimicrobienne. La première molécule utilisée est obtenue d'un champignon « *Penicillium notatum* ». L'étude de la consommation de cette molécule active entre 2000 et 2015, montre que la consommation d'antibiotique diminue chez les pays développés. Mais chez les pays en voie de développement la consommation d'antibiotique diminue légèrement. En 2015, quatre pays à savoir : Turquie, Tunisie, Algérie et la Roumanie ont un taux de consommation élevé (**Klein et al., 2018**). L'utilisation importante des Beta lactames pour lutter contre les infections bactériennes dans le milieu hospitalier est liée à la tolérance et l'efficacité thérapeutique (**Boruta, 2018**).

L'antibiotique peut avoir un effet bactéricide ou bactériostatique et agir à différents niveaux de la cellule bactérienne suivant des mécanismes d'action différents. Les Beta lactames inhibent l'activité des transpeptidases et ainsi arrêtent la synthèse du peptidoglycane alors la bactérie devient plus fragile (**Brisson.,2018**)(**Figure 03**).

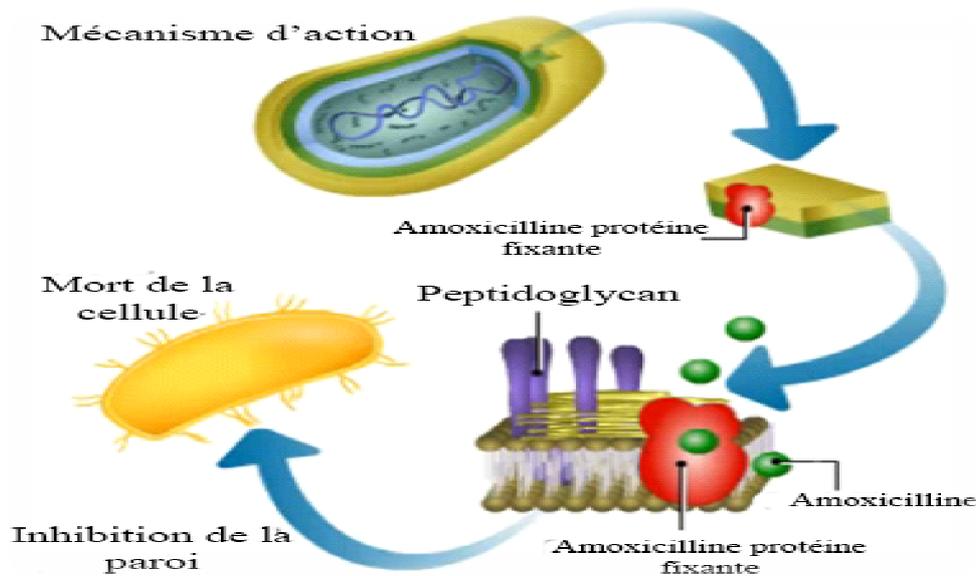


Figure 03 : Mode d'action d'amoxicilline

(Alexandre et Yugsan)

La famille des Beta lactames est divisée en quatre groupes à savoir les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames. La première molécule des Beta lactames c'est la pénicilline G très efficace contre les *Streptococcus*. Cependant avec le développement de la résistance à l'action de la pénicilline G à donner naissance à de nouvelles molécules de pénicilline à savoir : méthicilline, oxacilline, cloxacilline et la nafcilline antibiotique(White, 2012). Quelques années après, il y a une émergence des Beta Lactamases à Large Spectre (BLSE), et une nouvelle molécule est apparu c'est la témocilline. Actuellement, d'autres molécules sont utilisées à savoir : Ampicilline, amoxicilline, piperacilline et ticarcilline(Papp-Wallace *et al.*, 2015). Suite à la synthèse des Beta lactames par les bactéries, un second rang des molécules d'antibiotiques est utilisé : les céphalosporines, dont on distingue quatre générations distinctes.

II.2. La résistance aux Beta lactame

Malheureusement, dès le début de l'utilisation clinique des antibiotiques, ces bactéries pathogènes ont développés de la résistance à ces molécules actifs. Et cette résistance aux antibiotiques à rapidement constitué un problème de santé publique à l'échelle mondiale. A chaque apparition d'une nouvelle molécule d'antibiotique des bactéries résistantes à ces

molécules sont rapidement apparues (Hawkey ; 2008). En effet Fleming lançait déjà un avertissement face à une utilisation abusive des pénicillines dès 1945 lors de son discours d'acceptation de prix Nobel. Pour chaque nouvelle classe d'antibiotique développée et commercialisée, des souches bactériennes résistantes ont émergées. Ce phénomène a été amplifié par l'utilisation abusive des antibiotiques depuis un demi-siècle. En effet, des consommations élevées et utilisation inappropriée de ces molécules sont à l'origine de l'émergence et de la diffusion de la résistance (Muller., 2017).

II.2.1. Les types de la résistance

La résistance aux antibiotiques est un phénotype identifié chez de nombreuses espèces bactériennes. Certaines bactéries sont naturellement résistantes à des antibiotiques (possèdent un résistome). On parle d'une résistance naturelle (intrinsèque). Celle-ci constitue également un marqueur d'identification de la bactérie. D'autres échappent par des modifications génétiques. On parle d'une résistance acquise (extrinsèque) (Veysiere., 2019). Cette dernière peut se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférées d'un autre microorganisme (Moroh., 2014 ; Guyomard ., 2016).

II.2.1.1. La résistance intrinsèque (Naturel)

La résistance naturelle est stable ; transmise à la descendance mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal. Exemple de résistance naturelle : *Klebsiella* spp produit naturellement des Beta lactamases (Nouri, Ziadi., 2015). Les bactéries anaérobies sont naturellement résistantes aux aminosides (Lozniewskiet al., 2010). Les bactéries dépourvus de paroi (les mycoplasmes) présentent une résistance aux beta lactames (Normak et Normak., 2002).

II.2.1.2. La résistance acquise

Il s'agit d'un caractère qui concerne alors quelques souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable ; mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. Ce phénomène identifié au niveau des souches qui sont normalement sensibles. La résistance acquise résulte d'une modification génétique dans le génome de la bactérie. Cette dernière, lui permet d'avoir une tolérance à une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe la croissance des souches sensibles de la même espèce (Moroh., 2014 ; Lozniewski., 2010). La résistance acquise est engendrée soit *via* une mutation

chromosomique au niveau des gènes de résistance présent sur le chromosome. Non seulement, mais l'acquisition d'un nouveau phénotype de résistance, peut se faire *via* un transfert horizontal du gène de résistance. L'acquisition des nouveaux matériels génétiques peut se faire soit par échange direct de matériels chromosomiques soit par un échange d'un élément mobile le plus souvent un plasmide qui peut porter un à plusieurs gènes de résistance. Ces fragments d'ADN peuvent être transmis d'une bactérie donneuse à une bactérie dite receveuse. Cette transmission peut se faire entre deux espèces bactériennes différentes (Carle., 2010). Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction ; la transformation ou la conjugaison (Baudry et Brézellec., 2006).

II.2.2. Mécanisme de résistance

De manière générale, les bactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux antibiotiques. Et le mécanisme de résistance diffère suivant la classe de l'antibiotique et le groupe bactérien soit Gram négative ou Gram positif (Lagha., 2015).

II.2.2.1. Diminution de la perméabilité

Dans le cas des Gram négatifs la première cible des Beta lactame est la membrane cytoplasmique. Pour cela la molécule active doit pénétrer dans la cellule à travers des porines qui sont des canaux protéiques. Ainsi ; la sensibilité aux Beta lactames dépend de nombre de porines fonctionnelle. L'altération des porines induit une diminution de perméabilité aux antibiotiques. Cette altération de perméabilité peut être liée soit une réduction importante au niveau de production des porines, ou la production d'une porine mutée. Différents isolats cliniques d'*E. coli* caractérisés par une altération ou expression réduite des porines de type *OmpC* et/ ou *OmpF* ont démontré une susceptibilité réduite aux Beta lactames (Faure., 2009 ; Davinet *al.*, 2020).

II.2.2.2. Hyperproduction du système d'efflux

Le système d'efflux repose sur une pompe insérée dans la membrane. Elle est capable d'évacuer l'antibiotique hors de la bactérie grâce à un canal : cet efflux conduit à une diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique (ElAbdani., 2016). Des mutations dans les régions régulatrices des opérons de système d'efflux multi drogues peuvent conduire à une surexpression des systèmes d'efflux constitutifs ; associée ou non à une perte des porines, pour conférer une multi résistance aux antibiotiques. L'ampliation des

systèmes d'efflux dans la résistance aux Beta lactames est clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *Klebsiellapneumoniae*(Lagha., 2015).

II.2.2.3. Modification des protéines liantla pénicilline (PLP)

Chez les bactéries à Gram négative la résistance aux Beta lactames est liée à la modification des PLPs qui joue un rôle mineur dans la résistance en comparaison avec les Gram positives. Il existe différents cas d'altération des PLPs(Lagha., 2015) à savoir : diminution de l'affinité des PLPs pour les Beta-lactame (ex : *Streptococcus pneumoniae*), ou bien la synthèse d'une ou plusieurs PLPs insensible aux Beta lactames (ex : *Staphylococcus aureus*) (ElAbdani., 2016).

II.2.2.4. Production des Beta -lactamases

Chez les entérobactéries ; la production des Beta lactamases est le mécanisme prédominant de résistance aux Beta lactames. Les Beta lactamases sont des enzymes hydrolysant les Beta lactames. Ces enzymes sont localisées au niveau de l'espace péri plasmique chez les bactéries à Gram négatives. Selon la classification d'Ambler les Beta lactamases sont subdivisées en quatre Classes, à savoir : classe A : caractérisé par la présence d'un groupement de serine dans leur site actif, elle dégrade les pénicillines. Ces Beta lactamases sont inhibées par acide clavulanique ; classe B : regroupe tous les métallo-enzymes qui ne sont actives qu'en présence de Zn^{+2} . Elles sont donc inhibées par des chélateurs minéraux comme EDTA (Éthylène diamine tétra acétique). Elles sont impliquées dans la résistance aux carbapénèmes ; classe C : cette enzyme à une activité contre les céphalosporines. Et ils ne sont pas inhibées par acide clavulanique ; classe D : regroupe les oxacillines qui inhibent l'action des céphalosporines de troisième génération (Les Beta-lactamases à spectre étendu (BLSE)) et les carbapénèmes et résistent à l'action de l'acide clavulanique (Lagha., 2015 ; Hnich., 2017).

II.3. La génétique et la dissémination des gènes de résistance aux Beta lactames

La microflore environnementale partage la même niche écologique avec d'autres bactéries productrices des molécules antimicrobiennes (D'costa et al., 2007). Les bactéries naturellement résistantes contiennent un « résistome environnemental » qui est la source majeure d'acquisition des gènes de résistances au d'autres bactéries (Manson et al., 2010). Les microorganismes développent deux principaux mécanismes à fin d'assurer leur survie dans

l'environnement hostile. Le premier mécanisme est la mutation spontanée et le second le Transfert horizontal des gènes (**Partirdgeetal., 2011**). Le transfert horizontal des gènes c'est le mécanisme d'acquisition des gènes de résistance entre les bactéries de même espèce ou différentes espèces *via* les éléments génétiquement mobiles (plasmide, transposons, intégrons, SI) par différentes stratégies : Conjugaison, transformation ou transduction, translocation (**Alekshun., 2007 ; Bergogne., 2009**).

- ✓ **Par transduction** : l'ADN du plasmide est inclus dans un bactériophage et ensuite transmis par celui-ci après lyse bactérienne à une autre bactérie.
- ✓ **Par transformation** : l'ADN libre passe d'une cellule à l'autre et va altérer le génotype de la cellule réceptrice.
- ✓ **Par conjugaison** : elle s'effectue par passage des plasmides à travers des tubules protéiques provenant de l'extension des pilis d'une bactérie vers l'autre (pili sexuel).
- ✓ **Par translocation** : il se produit un échange de courtes séquences d'ADN (transposons) entre deux plasmides, ou entre un plasmide et une portion d'un chromosome bactérien situé à l'intérieur d'une cellule bactérienne. Un transposon peut transmettre une résistance unique ou multiple

II.4. Le rôle de l'environnement dans l'émergence et la propagation des bactéries résistantes

L'environnement aquatique et le réceptacle final de nombreuses bactéries résistantes aux antibiotiques principalement d'origine fécales ; ou bien issue de ruissèlement des sols et des effluents traités de stations d'épurations (STEPs). Dans les pays industrialisés la majeure partie des eaux usées issues des établissements de santé et l'usage domestiques subissent un traitement dans les stations d'épuration avant qu'elles soient rejetées dans les milieux aquatiques. Les écosystèmes aquatiques pourraient donc jouer un rôle clé dans le transfert des gènes de résistances aux antibiotiques entre communautés bactériennes allochtones et autochtones et constituant ainsi une voie de retour à l'homme. Des études récentes ont identifié la présence des bactéries porteuses des gènes de résistances codant pour des Beta lactamases (**Guyomard., 2016**).

Les eaux usées domestiques qui arrivent dans les STEP s sont constitués d'un mélange complexe des bactéries commensales humaines et des bactéries environnementales qui vont entrer en contact avec des quantifiées considérables des antibiotiques ; mais aussi d'autres substances tels que les métaux lourds ou des biocides qui vont pouvoir affecter la

communauté bactériennes et le métabolisme des bactéries. Dans ces circonstances les STEPs peuvent agir comme des bioréacteurs favorisant l'apparition de la résistance aux antibiotiques. Une autre étude a révélé la présence des molécules d'antibiotiques telles que l'érythromycine et la roxithromycine; les quinolones, les nitroimidazoles et les sulfonamides dans les stations d'épurations (Parveau., 2011). Non seulement, mais l'utilisation des antibiotiques avec les animaux d'élevage peut également contribuer à la dissémination des bactéries résistantes aux antibiotiques et des molécules d'antibiotiques non dégradées par l'animale. De ce fait, contribuée à la contamination des eaux de surface par un drainage et contaminé les eaux de profondeur par percolation (Guyomard., 2016). La contamination ne se limite pas uniquement à l'eau, mais le sol aussi peut être contaminé soit par les excréments des animaux préalablement traités avec des antibiotiques, soit par l'épandage sur les champs des boues des stations d'épurations ou des fumiers et purines produits dans les étables. Un criblage de molécule d'antibiotique dans le sol a révélé une concentration de 0,3 ng de tétracyclines dans un kilogramme de sol. Ces résidus d'antibiotiques peuvent agir sur la flore tellurique et provoquer la résistance (Parveau., 2011).

II.5. Les déterminants de l'apparition et la diffusion des bactéries résistants aux antibiotiques

La résistance bactérienne a pris une telle ampleur de deux principaux déterminants, à savoir : La pression de sélection liée à l'utilisation abusive des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire. Et la diffusion de ces populations des bactéries résistances soit par des échanges interhumains à la fois de proximité (transmission manuelle, transmission intrafamiliale) mais aussi les échanges internationaux qui ont permis la diffusion mondiale des clones dites multi résistances, ou par des échanges entre animaux notamment les pratiques d'élevages intensifs. Non seulement, mais les échanges animal-homme que ce soit dans un contexte d'élevage ou *via* les animaux domestiques peuvent participer dans la dissémination de la résistance. Et également les échanges qui peuvent survenir au sein de l'environnement (Guyomard., 2016).

*Chapitre III : « Méthodologie de
l'étude du microbiote intestinale de
la cigogne blanche »*

III.1. Echantillonnage

Avant de procéder à une étude du microbiote intestinal d'un oiseau, on doit faire un échantillonnage d'excréments à la fin de mois Mars. Les fientes sont des déchets de nature organique, issue des intestins de l'oiseau. Ces échantillons à leurs états frais, ils sont considérés comme une niche écologique favorable aux microorganismes, soit originaire de l'intestin de l'individu ou des contaminants la flore tellurique et / ou de l'environnement de l'oiseau. Dans le but de garantir un bon acheminement et le maintien de la flore intestinale, ces échantillons sont conservés à 4°C.

III.2. Isolement, purification et identification du microbiote intestinale de *Ciconia ciconia*.

A l'arrivée des échantillons frais des fientes de *Ciconia ciconia* au laboratoire un isolement des souches sera effectué. Un gramme d'échantillon est mis en enrichissement dans le bouillon cœur cerveau (10 ml). Après une incubation de quatre heures à 37°C, 100µl de la suspension bactérienne est ensemencé suivant la méthode d'inondation sur un milieu non sélectif (LB). Une fois que les souches sont isolées on procèdera à la purification et l'identification. La purification sera élaborée suivant un repiquage répété sur un milieu gélosé sélective pour les Gram négative (Mac Conkey) (**Bouazizet et al., 2017 (Modifié)**).

L'identification phénotypique des présumées isolées sera élaborée suivant soit la méthode classique des galeries biochimiques (API 20E), ou bien suivant la méthode de MALDI-TOF SM (Matrix Assisted Laser Desorption And Ionisation –Time Of Flight-Spectrophotometry of Masse). On peut aussi élaborer une identification moléculaire suivant des PCR (Polymorphism Chain Reaction) (**Djenadi et al., 2019**).

III.2.1. Galerie biochimique (API 20E)

L'identification des isolats purifiés est élaborée en utilisant la galerie Api 20 E.

API 20E: est un système standardisé pour l'identification des bactéries Gram négatives principalement les entérobactéries constitue d'une bande en plastique avec 20 microtubes contenant des substrats biochimie sous forme déshydratée. La galerie regroupe les tests suivants : arginine dihydrolase, lysines, H₂S, uréase, tryptophane désaminase, indole, la fermentation des glucose, du mannitol, de nositol, saccharose, arabinose, amygdaline...etc. (**Swanson.,1980**).

➤ **Principe**

Le principe de base est de mettre un volume (1µl) de la suspension bactérienne dans les différentes cupules. Le virage de couleur des réactifs pendant la période d'incubation se traduit soit directement ou par l'addition des réactifs.

➤ **Techniques**

L'élaboration de cette galerie, recommande le suivi de plusieurs étapes à savoir :

Etape 01 : Préparation de la galerie : Dans le but d'hydrater les milieux une quantité d'eau est additionnée dans les cupules. Par la suite on insère la galerie dans la boîte d'incubation.

Etape 02 : Préparation de l'inoculum : Une suspension bactérienne d'opacité légère est préparée avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé et dissoute dans de l'eau physiologique.

Etape 03 : Inoculation de la galerie : Ajouter la suspension bactérienne dans les cupules des tests : CIT, VP, GEL. Ajouter l'huile de paraffine pour les caractères soulignés ADH, LDC, ODC, URE, H2S à fin d'assurer une anaérobiose. Incuber la galerie à 35-37°C pendant 18 à 24 heures.

Etape 04 : Détermination de l'espèce bactérienne : elle est faite par utilisation d'un catalogue Api 20 E (Debabza., 2015).

III.2.2. Identification avec la méthode MALDI-TOF-SM

L'identification des souches isolées peut se faire avec la méthode de Matrix Assisted Laser Desorption And Ionisation –Time Of Flight- Spectrophotometry Of Masse (MALDI-TOF-SM). Les souches sont déposées sur les cibles puis Co-cristallisées à l'aide de 0,5µl de matrice constituées d'une solution saturée d'acide alpha-cyano-4-hydroxycinnamique contenant 50% d'acétonitrile et 2,5% d'acide trifluoroacétique. Une procédure d'extraction des protéines bactériennes est réalisée. Elle consiste à dissocier une colonie dans 20µl d'acide formique à 25%. Par la suite 1µl de la suspension est alors déposé dans un puit ; Après séchage, 1µl de matrice est additionné. Les dépôts sont effectués sur des plaques comprenant 44 puits dont deux sont réservés au dépôt de la souche d'*E. coli* de référence. Après une saisie du plan de plaque à l'aide du logiciel SIR WEB MALDI TOF, les souches sont analysées à l'aide du SM AXIMA assurance. Après 500 tirs laser ; les ions chargés positivement sont extraits puis accélérés dans un champ électromagnétique (20Kv en mode linéaire). Le spectre généré est analysé sur un intervalle 2000-20000 masse/charge

(M/Z). Puis comparé à ceux présents dans la base des données spectrale Saramis version 2009 (Dauwalder *et al.*, 2010).

III.2.3. Identification moléculaire (PCR 16S ARN)

Les souches bactériennes sont identifiées par une technique d'amplification (PCR). Le mélange pour la PCR avaient un volume finale de 100ul avec 0,1uM d'amorces (Amorces universelles (Tableau I)) ; 200uM de chaque de nucléotides, 2,5U de Taqpolymerase dans un volume de tampon d'amplification (10mMHCL-Tris PH8, 3, 50Mm KCL, 1,5mMMgcl2). L'amplification d'ARN 16S est réalisée dans le thermocycleur suivant un cycle correspondant à l'amorce utilisée. Les produits de PCR ont été séquencés puis analysés avec les données de Genbank pour déterminer le genre et l'espace bactérienne (Djenadi *et al.*, 2018).

Au terme de l'identification une étude du profile de résistance de ces souches est élaboré suivant un antibiogramme ; qui se base sur la diffusion des disques d'antibiotiques de la famille des Beta lactames sur la gélose de Muller Hinton. Suit d'une détermination de la concentration minimale inhibitrice pour les souches résistante.

III.3. Etude du profile de résistance

III.3.1. Test de diffusion sur gélose

La sensibilité aux antibiotiques est évaluée suivant la méthode de diffusion des disques sur un milieu solide -Agar Muller Hinton-. Une densité bactérienne de 0,5 McFarland est ensemencé sur la gélose Muller Hinton dans laquelle des disques d'antibiotiques de Beta lactames sont ajoutés : Céfotaxime (CTX, 30ug) ; Ceftazidime (CAZ, 30ug) ; Aztréonam (ATM, 30ug) ; Ertapénème (ETP, 10ug) ; Méropénème (MEM, 10ug) et Imipénème (IMP, 10ug). Après 24 heures d'incubation, les isolats ont été classés comme « sensible », « intermédiaire », ou « résistants », selon la recommandation d'EUCAST 2014 (EUCAST, 2014).

III.3.2. Détermination de la Concentration Minimal Inhibitrice (CMI)

Les CMI est élaborée suivant la méthode de micro-dilution sur le milieu de Muller Hinton. Les CMI ont été interprétés conformément à la recommandation d'EUCAST (2015). Cette technique repose sur la mise en culture d'un inoculum bactérienne est standardisé (1 à 5 UFC/ml) en présence des séries des dilutions d'antibiotiques de raison de deux. Après une nuit d'incubation à 37°C, la lecture des résultats se fait par une évaluation visuelle de la turbidité des différents puits de la microplaque avec un lecteur de densité optique. La CMI correspond

à la plus petite concentration d'antibiotiques qui inhibe toute croissance visible de la bactérie, c'est-à-dire qu'aucun trouble n'est visible dans les puits correspondant à cette valeur. La valeur obtenue est comparée à la concentration critique (Soares., 2015).

III.4. Etude du mécanisme de la résistance

III.4.1. La détection d'isolats producteurs de BLSE

Le criblage de la résistance aux Beta lactamase, plus spécifiquement la production des BLSE, se base sur le teste de synergie « Teste de Double disque » (DD teste). Le test consiste donc a rechercher une image de synergie entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur d'un Beta lactamase : amoxicilline+acide clavulanique(AMC) et un disque de céphalosporine de troisième génération ou un monobactame(Aztréonam) (Rahal., 2005). Le teste consiste à déposer des disques de Cefotaxime(CAZ, 30ug) ; Céfotaxime(CTX, 30ug) ;Aztréonam(ATM, 30ug)et céfépine(FEP, 30ug) à une distance de 20mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline/acide clavulanique (AMC, 20/10ug)(Djenadi ., 2019). La présence d'une BLSE est confirmée lors d'une sensibilité diminuée à la céphalosporine de troisième génération, associée à une zone d'inhibition élargie vers le disque contenant l'acide clavulanique. Ce phénomène est en évidence une synergie entre la C3G et l'inhibiteur de b-lactamase avec un profil dit en « bouchon de champagne » (Boutal., 2017).

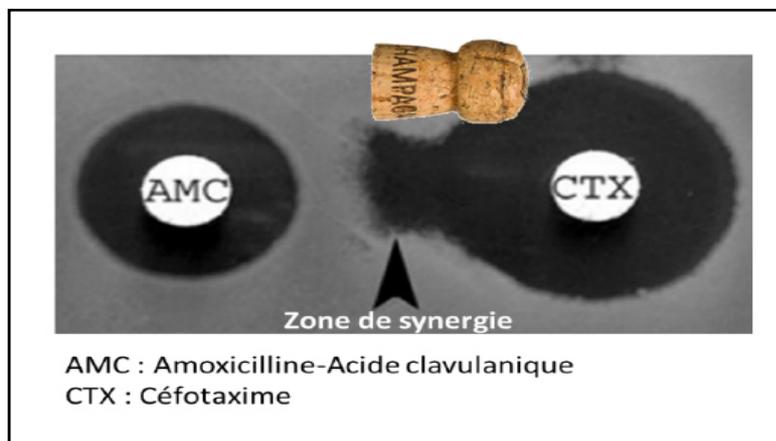


Figure 05: Résultat d'un test de double synergie (Boutal., 2017).

III.4.1. La détection d'isolats producteurs de Métallo-Beta Lactamase

III.4.1.1. Carba- NP- Test modifié

Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de carbapénèmes en acide carboxyle par une carbapénémase. Nous utiliserons le protocole du Carba NP test modifié (**Bakouret *et al.*, 2015**).

Un volume de 200 µl de tampon de lyse (CTAB : CetylTrimethyl Ammonium Bromide 0,02%) est disposé dans un tube Eppendorfs. Un ose calibré (10ul) des colonies bactériennes est dissociée dans le tampon de lyse, et vortexée 1à2min. Ce volume est reparti dans 2 tubes Eppendorfs (100ul de chacun) numérotés « A » et « B ». On ajoute 100µl de la solution A dans le tube « A » et 100µl de la solution A additionnée de carbapénèmes (6mg/ml) dans le tube Eppendorf « B ». Ces solutions sont vortexées et incubées à 37C° pendant un maximum de 2heures. La lecture visuelle de la couleur est réalisée dans chaque tube Eppendorfs (TB/III). Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur rouge/jaune ou rouge/orange ; tandis que la couleur du tube « A » reste inchangée dans le résultat négatif (**Bakour., 2015**). Ce test est réalisé en présence d'un témoin (+) et (-) pour sa validation.

III.4.1.2. Test de Hodge modifiée

Le test Hodge modifier (MHT) est un test de dépistage phénotypique pour la recherche de la production de carbapénémases. Ce test consiste à déposer un disque de carbapénème (10µg) au centre d'une boîte de gélose Mac Conkey (**Lee *et al.*, 2010 ; Bonnet., 2013**) préalablement ensemencé avec *E. coli* ATCC25922, avec 0,5 McFarland standard. Par la suite la boîte est laissée au repos pendant 15 min à une température ambiante (**Young *et al.*, 2002**). Ensuite la souche cible, la souche témoin positif (*K. Pneumonie*) et la souche témoin négative (*E. coli* ATCC 25922) sont ensemencées sur la gélose sous forme de strié portant de disque vers le bord de la gélose puis incubé à 37°C pendant une nuit. La déformation de la zone d'inhibition et la formation d'un trèfle indique la production probable d'une carbapénémase (**Lee *et al.*, 2010 ; Bonnet., 2013**).

III.4.1.3 La détection de production des MBL (type de carbapénémases)

Les MBLs c'est un type de carbapénémases qui résiste aux acide clavulanique contrairement aux BLSE mais sont sensible (inhibé) par EDTA (acide

éthylénediaminetetraacétique) ; ce dernier va se fixer sur le site actif de l'enzyme au lieu des ions de Zn qui sont des cofacteurs de l'enzyme. Suivant le test de synergie.

- **Préparation des disques IMP/EDTA et performances de la méthode des disques IMP/EDTA pour la détection des MBLs.**

Une solution d'EDTA 0,5M est préparée (18,61g d'EDTA disodique 2H₂O dans 100ml d'eau distillée) et ajustée à pH 7,8 en ajoutant du NaOH. La solution est stérilisée par autoclavage.

Par la suite, et sur la première moitié de la boîte d'agar Muller-Hinton dans laquelle des souches ont été inoculées (0,5Mc Farland standards d'opacité) deux disques ont été déposés. L'un constitué de disque de 10µg d'imipénème ajouté avec 5 µl de solution d'EDTA et le second disque ne contient que 5µl de solution d'EDTA ; sur la seconde moitié, deux disques distendus de 1,5cm ont été déposés, l'un est de 10µg carbapénèmes et le second disque ne contient que 5µl de solution EDTA (Yong *et al.*, 2004).

Les diamètres de zones d'inhibition des disques IMP et IMP/EDTA ont été mesurés après 18 heures d'incubation. Une augmentation de la taille de la zone d'au moins 7mm autour du disque imipénème-EDTA par rapport aux disques imipénème sans EDTA est enregistrée comme une souche productrice de MBL (Deebaet *et al.*, 2011).

III.5 Identification des gènes de résistance

La résistance aux Beta lactamases chez les Gram négatives est principalement codée par des gènes de résistance à savoir bla_{AMPc}, bla_{GES}, bla_{CTX}, bla_{KPC}, bla_{IMP}, bla_{OXA-48} et bla_{NDM}. Le criblage des gènes de résistance se fait suivant une amplification des amorces spécifiques à chaque gène de résistance. Le tableau ci-dessous présente l'ensemble des amorces utilisées.

*Chapitre IV : Diversité bactérienne
et résistance chez les cigognes
blanches*

Les cigognes blanches sont des oiseaux qui occupent différents milieux à savoir les zones humides, les zones urbaines, les champs agricoles et les décharges ouvertes. Durant leur vie, ces oiseaux peuvent être exposés à une flore bactérienne très diversifiée, certaines même peuvent être pathogènes. Une analyse des séquences de l'ARN 16S par Han et ses collaborateurs ont révélé une diversité bactérienne importante. Sous des conditions d'aérobie *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Bacillus* spp., *Enterococcus avium*, *Enterococcus gallinarum*, *Pseudomonas* spp., *Alcaligenes* spp., *Enterobacter* spp., *Corynebacterium* spp., et *Proteus mirabilis* sont identifiées. Et sous les conditions d'anaérobie *E. coli*, *Clostridium tertium*, *En. faecalis*, et *P. mirabilis* sont identifiées (Han et al., 2011).

L'émergence et la propagation de la résistance parmi les isolats d'entérobactéries est une menace grave pour la santé publique. Les rapports sur les entérobactéries productrices de Beta lactamase ont augmenté dans le monde entier. Non seulement les isolats bactériennes humains, animal et même environnemental.

1-La diversité bactérienne dans la faune à l'échelle mondiale

L'isolement des *E. coli* productrices de Beta lactamase est déjà signalé chez les cigognes blanches par Alcalá et al. au nord de l'Espagne. Les BLSE les plus répandues dans cette étude étaient de type SHV-12 (Alcalá et al., 2016). Ces derniers restent une cause d'une infection communautaire en Espagne (Díaz et al., 2010). De plus l'un de ces isolats présente des mutations chromosomiques dans le promoteur de gène Amp^C. Les gènes *bla_{SHV-12}* connus comme le type de BLSE le plus porté par *E. coli* de la viande et volaille crue en Espagne (Egea et al., 2012). Ces facteurs ont conduit à considérer le potentiel zoonotique d'*E. coli* et l'existence d'un échange des clones ou structure génétique portant les gènes de BLSE entre l'homme, le bétail et oiseaux sauvages (Bonnedahl et al., 2009). Des *E. coli* productrices de BLSE ont été isolées en Portugal par Poeta et ses collaborateurs, à partir des fèces des mouettes trouvées dans l'île de Portugal (Poeta et al., 2008). Il est intéressant de noter que 73% des isolats des mouettes positifs aux BLSE abritaient le *bla_{TEM-52}* et que 27% des isolats contenaient le gène *bla_{CTX-M}*; une prévalence élevée des TEM-52 a également été récemment observée dans les isolats d'*E. coli* provenant d'animaux et les produits à base de viande et de poulet du Portugal (Machado et al., 2008). En plus de ces gènes de résistances aux Beta-lactames, une variété des gènes de résistance ont été observés (*cmlA*, *tetA*, *tetB*, *aadA*, *sul1*, *sul2*, et *sul3*) chez les *E. coli* productrices de BLSE; dans ces isolats des intégrons de classe 1 ou 2 ou les deux ont été détectés (Gudita et al., 2016).

L'isolement des *E. coli* productrices de Beta lactamase est aussi signalé en 2015 chez les mouettes de Franklin en Chili par Baez et ses collaborateurs (Baez *et al.*, 2015). Les résultats de cette étude montrent la présence d'*E. coli* productrices de BLSE de type CTX-M, dont le CTX-M-15 était le plus prédominant dans cette étude, les isolats d'*E. coli* productrices des BLSE appartenaient aux lignées qui sont très répandues chez l'homme de l'États unis et au Canada (Chen *et al.*, 2014 ; Denisuk *et al.*, 2013 ; Peirano *et al.*, 2012), alors qu'ils ont peine été trouvés au Chili (Baez *et al.*, 2010 ; Denisuk *et al.*, 2013), suggérant ainsi la mobilité d'*E. coli* producteurs de CTX-M-15 par des oiseaux migrateurs. Donc Baez et ses collaborateurs ont émis l'hypothèse que dans le nord de Chili, les goélands migrateurs conservant dans leur intestin des bactéries résistantes acquises au Canada et aux États unis. L'expérience de conjugaisons ont réussi à montrer la capacité de transfert de ces gènes de résistances à une autre bactérie (Baez *et al.*, 2010). Des *E. coli* productrices de BLSE sont identifiées au Pakistan dont (17, 3%), le CTX-M-15 est le plus prédominant (Mohsin *et al.*, 2017). Ce type de CTX-M-15 maintient une distribution mondiale et bien qu'il soit généralement associé aux isolats BLSE humains et animaux de compagnie. Il est également très courant chez la faune aviaire (Wang *et al.*, 2017). Une étude précédente a également indiqué un taux élevé de *bla*_{CTX-M-15} provenant d'isolats cliniques humains au Pakistan (Habeeb *et al.*, 2014). La propagation de ces isolats productrices de BLSE se fait *via* des plasmides, ce qui facilite le transfert des déterminants génétiques entre les différents échantillons que ce soit clinique ou pas, ce qui explique la dissémination de la résistance entre les différents oiseaux sauvages migrateurs et différents écosystèmes. En Tunisie des *E. coli* productrices de BLSE de type CTX-M-15 ont été aussi isolées dans la plupart des échantillons fécaux d'aviaires (Ben Yahia, 2017 ; Mohsin *et al.*, 2017).

Cette caractérisation génotypique est aussi détectée auparavant chez *E. coli* impliquée dans les infections nosocomiales en Tunisie et même dans le monde entier. Cela peut suggérer que le taux de portage des *E. coli* productrices des BLSE trouvé chez les oiseaux sauvages est de nature anthropique. Outre la production des CTX-M d'autres gènes de résistance sont aussi détectés chez des isolats d'*E. coli* portaient à la fois le *bla*_{CTX-M-15} et les gènes PMQR. Des études antérieures ont souligné que la résistance aux quinolones est couramment associée à la production de BLSE, induisant que les gènes codant pour la résistance aux Bêta-lactames et aux PMQR sont fréquemment rapportés sur les mêmes éléments génétiquement mobiles. (Ben yahia *et al.*, 2018).

Les animaux sauvages constituent un autre réservoir et transporteurs des déterminants pour les bactéries de résistances. Des BLSE ont été aussi isolées chez le cerf rouge par Alonso et ces collaborateurs, mais à des prévalences inférieures à celle isolée à partir des sangliers. *L'E. coli* - BLSE isolée dans ce travail abritaient le gène CTX-M-1 (Alonso et al., 2016). Le gène CTX-M est l'un des BLSE les plus répandus en Europe et bien qu'elle soit plus fréquemment chez les animaux destinées à l'alimentation mais également il est fréquemment rapportés chez l'homme (Valentin., 2014). Le transfert de *bla_{CTX-M-I}* est associée généralement à l'acquisition de plasmide de type *IncN* qui est signalé comme le principale vecteur de la diffusion horizontale du *bla_{CTX-M-I}* dans les isolats d'*E. coli* provenant des sources humaines et animales. En Catalogne des isolats productrices de Beta -lactamase de type (OXA-48, CMY1, SHV-12) sont isolés par Darwich et ces collaborateurs. Ces CTX-M et SHV-12, CMY1 sont principalement détectés dans *E. coli*, *K.pneumoniae*, *Proteus*, et *Providenciaspp* de la faune aviaires (Darwich et al., 2019).

2-La diversité bactérienne dans la faune Algériens

En Algérie des *E. coli* productrices de carbapénèmes ; de type OXA-48 sont détectées chez les cigognes blanches (*Ciconiaciconia*) par Bouaziz et al, .L'un des isolats d'*E. coli* productrice d'OXA-48 obtenu dans cette étude à co-exprime les gènes *bla_{CTX-M-15}* et *bla_{TEM}* (Bouaziz et al., 2017). Cette association des gènes de Beta lactamase n'a jamais été détecté dans les oiseaux migrateurs, cependant la production de BLSE et carbapénèmes chez les entérobactéries avait déjà été décrit chez les animaux de compagnies (Stolle et al., 2013).

Les entérobactéries ne sont pas les seules bactéries qui portent des déterminants de résistance. D'autres bactéries à Gram négatives sont aussi isolées des oiseaux sauvages urbains. En Algérie des bactéries à Gram négatives de type *Acétobacter spp* sont isolées des matières fécales des pigeons urbains. Ces isolats montrent une résistance aux carbapénèmes. L'identification moléculaire détermine la présence des gènes *bla_{OXA-23}*, *bla_{OXA-51}* et *bla_{OXA-58}* caractérisés par une grande variété de séquence et une grande variété d'*Acétobacter spp*. La présence de ces gènes de résistance chez les pigeons peut être le résultat de contact avec l'homme ou une mobilisation des gènes de résistance d'une bactérie environnementale (Morakchiet al., 2017).

Les animaux sauvages constituent un autre réservoir et transporteurs des déterminants pour les bactéries de résistances. En Algérie des études ont été réalisées par Bachiri et al, sur

les sangliers et les Macaques de Barbaries, montre la présence des entérobactéries de type *K.pneumoniae* et *E. coli* multi résistantes. Ces souches présentaient aussi une production de BLSE de type CTX-M-15(Bachiriet *al.*,2016). Ces souches sont déjà isolées en clinique chez l'homme dans de nombreux pays, animaux de compagnies et sauvages ainsi les isolats environnementale(Rossoliniet *al.*,2008 ;Lahlaouiet *al.*,2014). L'étude de Bachiri et ses collaborateurs était la première à signaler la présence de BLSE chez la souche *K.pneumoniae* chez les macaques barbaries. En plus des entérobactéries BLSE, des entérobactéries productrices des carbapénèmes de type OXA-48 sont identifiées chez le sanglier qui est le premier porteur des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmes chez les animaux sauvages en Algérie et en Afrique(Bachiriet *al.*,2017).

Ces études sont toutes réalisées sur les animaux qui ne sont pas en contact direct avec l'agent antimicrobien, donc le portage des bactéries productrices de Beta-lactamase est dû généralement à une contamination par une activité anthropogénique de plus de leurs habitudes alimentaires liées aux décharges et aux eaux usées.

En dehors de l'environnement clinique des molécules d'antibiotiques peuvent être détectées dans l'environnement naturel. Des antibiotiques sont présents naturellement dans le microbiote environnemental mais avec des faibles concentrations à celle trouvée dans le milieu clinique (Aminovet *al.*, 2009). La prévalence de ces molécules dans le sol prédit la détection des enzymes qui dégradent ces antibiotiques (D'Costa *et al.*, 2007) . Pour mieux comprendre les mécanismes de résistances dans l'environnement naturel des études sur l'écosystème tellurique et aquatique ont été réalisées.

3-La diversité bactérienne dans l'environnement à l'échelle mondiale

Divers gènes de *bla* sont détectés dans des échantillons isolés du milieu aquatique, on citera les *E. coli* productrices de BLSE isolé dans le lac de Banani à Bangladesh. La plupart de ces BLSE sont de type CTX-M-15, ce qui est actuellement le plus répandu dans le monde entier. Les rapports ont montré que le CTX-M-15 produit par *E. coli* est très commun dans la communauté et le milieu hospitaliers en Inde et sont susceptibles d'être multi résistants par rapport aux autres isolats productrices de CTX-M (Pitout *et al.*, 2010). Ce gène est déjà signalé dans l'eau fluviale et dans les volailles au Bangladesh (Kamruzzamanet *al.*,2013 ; Hasan B *et al.*,2012). De plus d'*E. coli*; des *E.cloacae* productrices de BLSE sont aussi détectées dans des échantillons environnementaux. Cette souche est identifiée pour la première fois dans la région Asiatique. La présence de cette souche peut être liée aux effluents

de ces eaux usées, parce que la souche est isolée à partir d'un échantillon d'eau prélevé à proximité des évacuations des eaux usées dans le lac, suggérant l'évacuation des eaux usées vers les eaux de surface ; une voie importante pour la transmission et la diffusion des BLSE à d'autres organismes. Les animaux et l'homme qui entoure cette zone pourraient présenter un risque potentiel d'infection résistante aux médicaments par contact direct avec le lac (Kamruzzaman *et al.*, 2013 ; Hasan B *et al.*, 2012).

En 2016, Environ de 30% d'*E. coli* productrices de BLSE sont isolées à partir d'échantillons de l'eau de rivière au sud de Taiwan par Chen et ses collaborateurs. La souche résistante fréquemment détectée est *E. coli* de type CTX-M-9. La plupart des *E. coli* identifiée dans le sud de Taiwan sont caractérisées avec une incidence des pollutions élevées et avec un grand nombre de poulets. Dans ces régions l'utilisation d'antibiotiques est dix fois plus élevées chez les poulets que chez les porcs. D'autre part, les lignées d'*E. coli* isolées dans cette étude sont trouvées précédemment dans les isolats de poulets, ces isolats des infections humaines en Chine, Chili et Canada. La présence des souches multirésistantes dans la rivière peut être reliée à la qualité de l'eau (la contamination d'eau par les effluents, les ruissellements...) (Chen *et al.*, 2016).

Les entérobactéries productrices de BLSE sont déjà identifiées comme résistantes à d'autres antibiotiques surtout avec les quinolones (Naziret *et al.*, 2011 ; Ruiz *et al.*, 2012). Une association BLSE-quinolone est déterminée dans de nombreuses études (Jung *et al.*, 2009, Szczepanowski *et al.*, 2009 et Dolejska *et al.*, 2011). Sur 21 isolats producteurs de *bla_{CTX}*, les gènes de type *qnrB1* et *aac (6)-ib-cr* sont décrits en Allemagne (Szczepanowski *et al.*, 2009) et en République Tchèque et USA (Dolejska *et al.*, 2011 ; Jung *et al.*, 2009). En Italie (6,8%) entérobactéries résistantes aux CTX sont isolées dans les STEPs par Caltagirone et ses collaborateurs (Caltagirone *et al.*, 2017). Le gène *mcr-1* à médiation plasmidique est récemment rapporté provenant d'animaux destinés à l'alimentation, des légumes, des porteurs asymptomatiques et patients hospitalisés en Chine (Liu *et al.*, 2016). En ce qui concerne le compartiment environnemental, *mcr-1* est signalé en Malaisie (Zurfeh *et al.*, 2016), fleuve Suisse (Li *et al.*, 2016), et eaux usées d'Espagne (Ovejero *et al.*, 2017). Dans les présentes études, une variante *mcr-1.2* est détectée dans le 7TE *E. coli* sur un plasmide conjugatif de type IncX4 nommé pIBMC-MCR1.2. Autres plasmides similaires IncX4 portant le déterminant *mcr-1* sont signalés en Chine, Estonie, Afrique du Sud et très récemment l'Italie, dans différents entérobactéries d'origine clinique et animale (DiPilato *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016; Poiret *et al.*, 2016). Le potentiel de propagation des plasmides hébergeant *mcr-1* dans les

micro-organismes multiresistants posent des défis importants pour les stratégies de traitement et de contrôle des infections, comme lorsque les Beta lactames, les aminosides ou les quinolones sont inefficaces. La colistine sert comme alternative finale. L'avènement de la colistine transmissible de la résistance indique que l'évolution des entérobactéries à la pharmaco-résistance est inévitable (**Biswaset al., 2012**).

En 2017, Piedra et ses collaborateurs ont identifiés des entérobactéries producteurs de carbapénémases à partir d'échantillons des sédiments recueillis d'une rivière de Labregat en Espagne (**Piedra et al., 2017**). Les entérobactéries producteurs de carbapénémase isolées dans l'étude de Oteo et ses collaborateurs sont : *E. coli* (n=3 pour Kpc2), *K. pneumoniae* (KPC2), *K. oxytoca* (KPC2, VIM-1), *E. cloacae* (KPC1, IMI-2) et en fin *R. ornithinolytica* (VIM-1). Le *bla_{VIM-1}* était le premier à être identifiée chez *K. oxytoca*. Les deux gènes *bla_{KPC2}* et *bla_{VIM1}* ont été détectés dans les mêmes plasmide IncN d'une *K. oxytoca* étant le premier cas signalé à partir d'une souche environnemental ; des études en Espagne montrent que les KPC étaient rare contrairement au *bla_{OXA-48}* et *bla_{VIM}*, ainsi aucune étude révélée la présence de *bla_{IMI}* (**Oteo J et al., 2015**). Des études faites sur des bacilles à Gram négatives saprophytes dans des sédiments d'une zone urbaine, on permet d'isoler des souches à risque minime pour la santé publique à savoir : *pseudomonasspp*, *aeromonasspp*, *shewanellaspp*, et des *vibriosspp* mais les *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Shewanella* sont considérés comme des réservoirs des gènes de GES, CTX-M, VIM, OXA. Ces gènes peuvent être transferts par la suite aux bactéries pathogènes (**Scotta et al., 2011** ; **Poirelet et al., 2004** ; **Rossolini et al., 2001**).

4-La diversité bactérienne dans l'environnement Algériens

En Algérie Tafoukt et ses collaborateurs ont détectés des isolats producteurs d'OXA-48 dans les échantillons de l'eau provenant de la rivière de Soummam, Sidi Aich, Béjaia. Les souches de type *Raoultella ornithinolytica* et *citrobacterspp* productrices d'OXA-48 sont détectées pour la première fois en Algérie (**Tafoukt et al., 2018**). Cependant ce gène OXA-48 est déjà obtenu de *Raoultella ornithinolytica* dans les isolats clinique en Liban (**Al-Bayssari et al., 2016**). En Afrique de nord, une seule étude marocaine a identifié la production d'OXA-48 dans l'isolat de *Serratia marcescens* récupéré dans l'eau (**Potron et al., 2011**). Il est important de signaler que dans l'étude de Tafoukt et ses collaborateurs, les échantillons de rivière du Soummam sont contaminés par les zones urbaines, industrielles et agricoles (**Tafoukt et al., 2018**).

L'étude de la résistance aux antibiotiques au niveau de la STEP est importante, car ces données sont représentatives de l'évolution qui peut se produire dans l'environnement aquatique.

Alouache et ses collaborateurs ont montré une prévalence des isolats producteurs des BLSE identifiés tels que les *K.pneumonie* et *E. coli*. Ces résultats sont cohérents avec les études rapportant la présence de BLSE dans le milieu aquatique en générale et les STEPs en particulier avant et après traitement. Les isolats après traitement ont porté une résistance importante par rapport à l'affluent. Des intégrons de classe 1 ont été détectés dans 35 des 40 isolats producteurs des BLSE. Cette forte prévalence est liée au rôle de ces éléments dans la propagation des souches résistantes aux antibiotiques. Des études moléculaires montrent la présence des gènes de BLSE de type bla_{CTX-M-15} et bla_{CTX-M-3}, ces résultats sont conformes aux études en milieu clinique rapportées en Algérie (Alouache *et al.*, 2014)

Des nouvelles techniques doivent être utilisées pour détecter des nouveaux déterminants ainsi que de nouveaux mécanismes. La méta-génomique peut révéler des nouveaux mécanismes pertinents sur le plan clinique ou environnemental comme montre dans l'étude de Djenadi et ses collaborateurs sur l'écosystème aquatique et tellurique. Ils ont détectés de nouveaux gènes non cliniques dans les souches *K.pneumonie* et *Morganella morganii*. Les résultats obtenus montrent que *K.pneumonie* héberge un gène identique au bla_{DHA}. D'autre part cette équipe a isolé des souches de *Morganella morganii* du sol de la rhizosphère. Ces souches portent des gènes de TEM-116. Cependant, dans la même étude une souche de *K.oxytoca* isolée de l'eau profonde exprime une résistance aux carbapénèmes. Cette résistance est liée à une protéine prédite (Djenadi *et al.*, 2018). Ashbolt et ses co-auteurs pensaient que l'augmentation des bactéries résistantes dans l'environnement est due à la prolifération sous sélection environnementale induite par les antibiotiques et autres molécules chimiques à savoir : biocides, métaux lourds, ou bien induite par une mutation génétique ou acquise par un transfert horizontal des gènes (Ashbolt *et al.*, 2013).

De plus même d'autres gènes de carbapénémases de type MBL sont aussi détectés dans les échantillons de sol isolés de différents pays incluant l'Algérie, l'Allemagne, l'Espagne...etc. Dans cette étude Gudeta et ses collaborateurs sept nouveaux gènes sont isolés de sept nouvelles souches. Ces MBL appartiennent de sous-groupe B1 ou B3, les gènes (bla_{PEDO1} de sous-groupe B1) et (bla_{PEDO2}, bla_{CPS1}, bla_{ESP1}, bla_{MSI1}, et bla_{SPG1} de sous-groupe B3). Ces nouveaux gènes sont différents de ceux détectés en milieu clinique. (Gudeta *et al.*, 2016).

L'ensemble de ces gènes identifiés dans l'environnement naturel et les stations d'épurations peuvent contaminés la faune. La contamination peut se faire de façon directe ou indirecte. D'où l'obligation de donner plus d'importance à la pollution et les procéder de protection de l'environnement.

Conclusion

Conclusion

La résistance aux antibiotiques c'est un problème majeur qui attaque la santé publique à travers le monde, cette résistance ne se limite pas seulement au milieu clinique ; les déterminants ainsi les bactéries de résistance se propagent même dans l'environnement naturel. Ce dernier constituer une source importante de contamination de la faune sauvage.

Les animaux sauvages en particulier les oiseaux sauvages migrateurs sont des potentiels réservoirs des bactéries et des gènes de résistance, cette résistance s'explique par un phénomène complexe qui le transfert horizontal des gènes, de leur habitudes alimentaire ainsi de leurs contacts directs avec environnements naturels qui sont déjà contaminés par l'activité anthropogénique.

Les oiseaux sauvages migrateurs jouent aussi un rôle important dans le cycle de désamination et de la propagation des déterminants et des bactéries de résistances d'un écosystème à un autre, par leur mode migratoire ils peuvent transférer la résistance au cours de leur voie de migration même dans des environnements non touchés par l'activité anthropogéniques via ces fèces.

Des contrôles d'utilisation d'antibiotiques et évaluation des techniques de traitement des effluents avant de leur jeter dans l'environnement naturel est nécessaire afin de minimiser la propagation ainsi le transfert des déterminants et des bactéries

En fin des études futures doit être réalisées pour mieux comprendre les mécanismes de résistance afin de les contrôler.

Références bibliographiques

Les références bibliographiques

A

- **AL-BAYSSARI, C, OLAITAN, A, LEANGAPICHART, T, et al.** Whole-genome sequence of a blaOXA-48-harboring Raoultella ornithinolytica clinical isolate from Lebanon. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, vol. 60, no 4, p. 2548-2550.
- **ALCALÁ, L, ALONSO, C A, SIMÓN, C, et al.** Wild birds, frequent carriers of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Escherichia coli of CTX-M and SHV-12 types. *Microbial ecology*, 2016, vol. 72, no 4, p. 861-869.
- **ALEKSHUN, M N. et LEVY, S B.** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 2007, vol. 128, no 6, p. 1037-1050.
- **ALONSO, C A, GONZÁLEZ-BARRIO, D, TENORIO, C, et al.** Antimicrobial resistance in faecal Escherichia coli isolates from farmed red deer and wild small mammals. Detection of a multiresistant E. coli producing extended-spectrum beta-lactamase. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 2016, vol. 45, p. 34-39.
- **ALOUACHE, S, ESTEPA, V, MESSAI, Y, et al.** Characterization of ESBLs and associated quinolone resistance in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates from an urban wastewater treatment plant in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 2014, vol. 20, no 1, p. 30-38.
- **AMINOV, R I.** The role of antibiotics and antibiotic resistance in nature. *Environmental microbiology*, 2009, vol. 11, no 12, p. 2970-2988.
- **AMOLD PH.** Cigogne. Ed. la nué bleu. DNA. 1992 Strasbourg, 142 p
- **ASHBOLT, N J., AMÉZQUITA, A, BACKHAUS, T, et al.** Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. *Environmental health perspectives*, 2013, vol. 121, no 9, p. 993-1001.

B

- **BACHIRI, T, BAKOUR, S, LADJOUZI, R, et al.** High rates of CTX-M-15-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in wild boars and Barbary macaques in Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 2017, vol. 8, p. 35-40.
- **BÁEZ, J, HERNÁNDEZ-GARCÍA, M, GUAMPARITO, C, et al.** Molecular characterization and genetic diversity of ESBL-producing Escherichia coli colonizing the migratory Franklin's gulls (Leucophaeus pipixcan) in Antofagasta, North of Chile. *Microbial drug resistance*, 2015, vol. 21, no 1, p. 111-116.
- **BASSETTI, M, MERELLI, M, TEMPERONI, C, et al.** New antibiotics for bad bugs: where are we?. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 2013, vol. 12, no 1, p. 22.
- **BAUDRY, C et BRÉZELLE, H.** *Microbiologie, immunologie*. 2006. Wolters Kluwer France.

- BAKOUR, S., GARCIA, V., LOUCIF, L., et al.** Rapid identification of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New microbes and new infections*, 2015, vol. 7, p. 89-93.
- **BEN YAHIA H, SALLEM, R, TAYH, G, et al.** Detection of CTX-M-15 harboring *Escherichia coli* isolated from wild birds in Tunisia. *BMC microbiology*, 2018, vol. 18, no 1, p. 26.
- BENHARZALLAH, N.** Contribution à l'étude de la bio-écologie de la Cigogne Blanche (*Ciconiaciconia*, Aves, *Ciconiidae*) dans le Constantinois. 2017. Thèse de doctorat. Université de Biskra-Mohamed Khider.
- BERGOGNE-BÉRÉZIN, E et DELLAMONICA, P.** *Antibiothérapie en pratique clinique* 1999. (DEPRECIATED).
- BISWAS, S, BRUNEL, J-M, DUBUS, J-C, et al.** Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert review of anti-infective therapy*, 2012, vol. 10, no 8, p. 917-934.
- BOGAERTS, P, REZENDE DE CASTRO, R, DE MENDONÇA, R, et al.** Validation of carbapenemase and extended-spectrum β -lactamase multiplex endpoint PCR assays according to ISO 15189. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2013, vol. 68, no 7, p. 1576-1582.
- BONNEDAHL, J, DROBNI, M, GAUTHIER-CLERC, M, et al.** Dissemination of *Escherichia coli* with CTX-M type ESBL between humans and yellow-legged gulls in the south of France. *PloS one*, 2009, vol. 4, no 6, p. e5958.
- BONNET, R., CARON, F., CAVALLO, J. D., et al.** COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE. 2013.
- **BORUTA, T.** Uncovering the repertoire of fungal secondary metabolites: From Fleming's laboratory to the International Space Station. *Bioengineered*, 2018, vol. 9, no 1, p. 12-16.
- BOUAZIZ, A, LOUCIF, L, AYACHI, A, et al.** Migratory white stork (*Ciconiaciconia*): a potential vector of the OXA-48-producing *Escherichia coli* ST38 clone in Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 2018, vol. 24, no 4, p. 461-468.
- BOUDRA ,F, HADDOUCH ,S.** Contribution à la reproduction de la cigogne blanche (*CiconiaCiconia*).2015.Thèse de mémoire. Université de8 Mai 1945 Guelma, 97 p.
- BOUKALMOUN, S, MENASRIA S, MENASIRA S.**Le statut de la cigogne (*CiconiaCiconia*) dans le coté sud de la wilaya de Guelma.2015.Thèse de mémoire.Université de Guelma.
- **BOUKHEMZA, M.** Étude bio-écologique de la Cigogne blanche (*Ciconiaciconia* L., 1775) et du Héron garde-bœufs (*Bubulcus ibis* L., 1775) en Kabylie. Analyse démographique, éthologique et essai d'interprétation des stratégies trophiques. *Nat. Agro., El Harrach. (Alger)*, 2000.
- BOUTAL, H.** Développement et validation de tests de détection rapide de la résistance aux antibiotiques. 2017. Thèse de doctorat.
- BOURIACH, M.** *Ecologie de reproduction de la cigogne blanche (Ciconiaciconia) dans un milieu anthropisé, Dréan, nord-est d'Algérie.* 2015. Thèse de doctorat.

-**BRISSON, L.** *Apprivoisement de l'hôte et domestication de sa flore commensal: antibiorésistance des E. coli isolées des fèces d'animaux sauvages captifs et non captifs.* 2018. Thèse de doctorat.

C

-**CALERO-CA' CERES W, ME'NDEZ J, MARTI'N-DIAAZ J, et al.** The occurrence of antibiotic resistance genes in a Mediterranean river and their persistence in the riverbed sediment. 2017.

- **CALTAGIRONE, M, NUCLEO, E, SPALLA, M, et al.** Occurrence of extended spectrum β -lactamases, KPC-type, and MCR-1.2-producing Enterobacteriaceae from wells, river water, and wastewater treatment plants in Oltrepò Pavese area, Northern Italy. *Frontiers in microbiology*, 2017, vol. 8, p. 2232.

-**CAMACHO, M, HERNÁNDEZ, J M, LIMA-BARBERO, J F, et al.** Use of wildlife rehabilitation centres in pathogen surveillance: A case study in white storks (*Ciconiaciconia*). *Preventiveveterinarymedicine*, 2016, vol. 130, p. 106-111.

-**CARLE, S.** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important!. *Pharmactuel*, 2009, vol. 42.

- **CHEN, P-A, HUNG, C-H, HUANG, P-C, et al.** Characteristics of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from multiple rivers in Southern Taiwan. *Applied and environmental microbiology*, 2016, vol. 82, no 6, p. 1889-1897.

-**CRAMP, Set SIMMONS, K. E.** *Birds of Europe, the Middle East and North Africa.* Oxford University Press, Oxford, 1988.

-**CREUTZ, G. DER WEISS-STORCH,** *Ciconiaciconia.* Die NeueBrehm-BüchereiNummer 375. A. 1988.

-**COULTER, M C., WANG, Q, et LUTHIN, C S. (ed.).** *Biology and Conservation of the Oriental White Stork, CiconiaBoyciana.* Savannah River Ecology Laboratory, 1991.

D

-**DARWICH, L, VIDAL, A, SEMINATI, C, et al.** High prevalence and diversity of extended-spectrum β -lactamase and emergence of OXA-48 producing Enterobacterales in wildlife in Catalonia. *PLoS One*, 2019, vol. 14, no 8, p. e0210686.

-**DAVIN-REGLI, A, MASI, M, et PAGÈS, J-M.** Le rôle des porines dans la résistance aux antibiotiques. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2020, vol. 2020, no 519, p. 28-37.

-**DAUWALDER, O., FREYDIÈRE, A.-M., MEUGNIER, H., et al.** Utilisation de la spectrométrie de masse pour l'identification bactérienne: évaluation du système Axima®/Saramis®/SirWeb MALDI TOF®. *Bio tribune magazine*, 2010, vol. 37, no 1, p. 6-11.

- D’COSTA, V M., GRIFFITHS, E, et WRIGHT, G D.** Expanding the soil antibiotic resistome: exploring environmental diversity. *Current opinion in microbiology*, 2007, vol. 10, no 5, p. 481-489.
- DEBABZA, M.** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques: étude bactériologique et moléculaire.2015. *Departement De Biochimie: Université Badji Mokhtar-Annaba*.
- DEKEYSER & DERIVOT.** Les oiseaux de l’ouest africain I Ed .I.F.A.N.Dakar, 507p.
- DENISUIK, A.J., P.R. LAGACE’-WIENS, J.D. PITOUT, M.R. et al**Zhanel, and Canadian AntimicrobialResistance Alliance. 2013. Molecular epidemiology of extended-spectrum b-lactamase-, AmpC b-lactamase- and carbapenemase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolated from Canadian hospitals over a 5 year period.
- DÍAZ, M A., HERNÁNDEZ-BELLO, J R., RODRÍGUEZ-BAÑO, J, et al.** Diversity of Escherichia coli strains producing extended-spectrum β -lactamases in Spain: second nationwide study. *Journal of clinical microbiology*, 2010, vol. 48, no 8, p. 2840-2845.
- DI PILATO, V, ARENA, F, TASCINI, C, et al.** mcr-1.2, a new mcr variant carried on a transferable plasmid from a colistin-resistant KPC carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae strain of sequence type 512. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, vol. 60, no 9, p. 5612-5615.
- DJENADI, K, ZHANG, L, MURRAY, A K., et al.** Carbapenem resistance in bacteria isolated from soil and water environments in Algeria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2019, vol. 15, p. 262-267.
- DJENADI K.** Isolation, purification, phenotypic and genotypic identification and characterization of imipenem-resistant Gram-negative bacilli isolated from a variety of natural samples.2018. Thèse de doctorat. Université de Bejaia.
- DOLEJSKA, M, FROLKOVA, P, FLOREK, M, et al.** CTX-M-15-producing Escherichia coli clone B2-O25b-ST131 and Klebsiella spp. isolates in municipal wastewater treatment plant effluents. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2011, vol. 66, no 12, p. 2784-2790.

E

- EGEA, P, LÓPEZ-CERERO, L, TORRES, E, et al.** Increased raw poultry meat colonization by extended spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in the south of Spain. *International journal of foodmicrobiology*, 2012, vol. 159, no 2, p. 69-73.
- EL ABDANI S.** Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. 2016. Thèse de doctorat.
- ENDIMIANI, A, HUJER, A M., PEREZ, F, et al.** Characterization of bla KPC-containing Klebsiella pneumoniae isolates detected in different institutions in the Eastern USA. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2009, vol. 63, no 3, p. 427-437.
- EUCAST, T.** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. *Version 5.0, 2015*, 2015.

F

-FAURE, S. *Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines blaCTX-M-9 entre Salmonella et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique*. 2009. Thèse de doctorat.

- FELLAG, M. *Ecologies trophique des poussins de la Cigogne blanche Ciconiaciconia (Linné, 1758) dans la vallée du Sébaou, en Kabylie (Algérie)*. 2006. Thèse de doctorat. INA.

-FONTY, G. CHAUCHEYRAS- DURAND F. *Les Écosystèmes Digestifs*, 2007.

G

-GUDETA, D D, BORTOLAIA, V, AMOS, G, *et al.* The soil microbiota harbors a diversity of carbapenem-hydrolyzing β -lactamases of potential clinical relevance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, vol. 60, no 1, p. 151-160.

-GUYOMARD RABENIRINA, S. *Résistance aux antibiotiques des entérobactéries en Guadeloupe: importance en milieu communautaire et diffusion environnementale*. 2016. Thèse de doctorat. Antilles.

H

-HABEEB, M. A., HAQUE, A., IVERSEN, A., *et al.* Occurrence of virulence genes, 16S rRNAmethylases, and plasmid-mediated quinolone resistance genes in CTX-M-producing Escherichia coli from Pakistan. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 2014, vol. 33, no 3, p. 399-409.

-HANICH .H. *La résistance bactérienne : Mécanisme et méthodes de détection au laboratoire*. Thèse de doctorat. 2017. Université SIDI Mohamed Ben Abdelah. P108.

-HAN, J-I, JANG, H-J, LEE, S-J, *et al.* Bacterial flora of the intestine in normal captive Oriental white storks. *한국임상수의학회지*, 2011, vol. 28, no 5, p. 516-518.

- HAQUE, a, YOSHIKUMI, a, SAGA, T, *etal.* ESBL-producing Enterobacteriaceae in environmental water in Dhaka, Bangladesh. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2014, vol. 20, no 11, p. 735-737.

- HASAN, B, SANDEGREN, L, MELHUS, Å, *et al.* Antimicrobial drug-resistant Escherichia coli in wild birds and free-range poultry, Bangladesh. *Emerging infectious diseases*, 2012, vol. 18, no 12, p. 2055.

- HAWKEY, P. M. The growing burden of antimicrobial resistance. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2008, vol. 62, no suppl_1, p. i1-i9.

J

-JUNG, C. M., HEINZE, T. M., STRAKOSHA, R, *et al.* Acetylation of fluoroquinolone antimicrobial agents by an Escherichia coli strain isolated from a municipal wastewater treatment plant. *Journal of applied microbiology*, 2009, vol. 106, no 2, p. 564-571.

K

- KAMRUZZAMAN, M., SHOMA, S, BARI, SM N, *et al.* Genetic diversity and antibiotic resistance in Escherichia coli from environmental surface water in Dhaka City, Bangladesh. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 2013, vol. 76, no 2, p. 222-226.
- KARDOS, N et DEMAIN, A L. Ernst Chain: a great man of science. *Applied microbiology and biotechnology*, 2013, vol. 97, no 15, p. 6613-6622.
- KLEIN, G, PACK, A, BONAPARTE, C, *et al.* Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 1998, vol. 41, no 2, p. 103-125.
- KHELILI, N. *Contribution à l'étude écologique de la reproduction des Cigognes blanches Ciconiaciconia dans la wilaya de Tébessa (Est de l'Algérie)*. 2012. Thèse de doctorat. Université de Tébessa-Larbi Tébessi.
- KHELILI, N et HOUHAMDI, M. Etude écologique de la Cigogne blanche (Ciconiaciconia) Dans les Hauts Plateaux algériens. 2019.
- KLEIN, E Y., VAN BOECKEL, T P., MARTINEZ, E M., *et al.* Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2018, vol. 115, no 15, p. E3463-E3470.

L

- LAGHA, N Ep BENMESMOUDI. *Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat*. 2015. Thèse de doctorat.
- LAHLAOUI, H, KHALIFA, A. B, et MOUSSA, M. B. Epidemiology of Enterobacteriaceae producing CTX-M type extended spectrum β -lactamase (ESBL). *Medecine et maladies infectieuses*, 2014, vol. 44, no 9, p. 400-404.
- LEE, K, KIM, C K, YONG, D, *etal.* Improved performance of the modified Hodge test with MacConkey agar for screening carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *Journal of microbiological methods*, 2010, vol. 83, no 2, p. 149-152.
- LI, A, YANG, Y, MIAO, M, *et al.* Complete sequences of mcr-1-harboring plasmids from extended-spectrum- β -lactamase-and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, vol. 60, no 7, p. 4351-4354.
- LIU, Y-Y, WANG, Y, WALSH, T R., *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet infectious diseases*, 2016, vol. 16, no 2, p. 161-168.
- LOWE, K. W., GOULD, E., FORSHAW, J., *et al.* *Contribution à l'étude Etho-écologique de la genette (Genettagenetta L.). Régime alimentaire et utilisation de l'espace*. 1984. Thèse de doctorat. Thèse DEA .Univ Bordeaux, 22p.

- **LOZNIIEWSKI A., RABAUD C., NANCY.** Résistance bactérienne aux antibiotiques
Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins. 2010.
4 p.

M

-**MACHADO, E, COQUE, T M., CANTON, R, et al.** Antibiotic resistance integrons and extended-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae isolates recovered from chickens and swine in Portugal. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2008, vol. 62, no 2, p. 296-302.

-**MANSON, J M., HANCOCK, L E., et GILMORE, M S.** Mechanism of chromosomal transfer of *Enterococcus faecalis* pathogenicity island, capsule, antimicrobial resistance, and other traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, vol. 107, no 27, p. 12269-12274.

-**MAO, D-P, ZHOU, Q, CHEN, C-Y, et al.** Coverage evaluation of universal bacterial primers using the metagenomic datasets. *BMC microbiology*, 2012, vol. 12, no 1, p. 66.

-**MATA, A, MASSEMIN-CHALLET, S, C, M, et al.** Seasonal variation in energy expenditure and body composition in captive White Storks (*Ciconiaciconia*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2010, vol. 155, no 1, p. 19-24

- **MOHSIN, M,RAZA, S, SCHAUFLER, K, et al.** High prevalence of CTX-M-15-Type ESBL-producing *E. coli* from migratory avian species in Pakistan. *Frontiers in microbiology*, 2017, vol. 8, p. 2476.

-**MORAKCHI, H, LOUCIF, L, GACEMI-KIRANE, D, et al.** Molecular characterisation of carbapenemases in urban pigeon droppings in France and Algeria. *Journal of global antimicrobial resistance*, 2017, vol. 9, p. 103-110.

- **MORITZ, C F., SNYDER, RE., RILEY, L W., et al.** Antimicrobial Drug-Resistant Gram-Negative Saprophytic Bacteria Isolated from Ambient, Near-Shore Sediments of an Urbanized Estuary: Absence of β -Lactamase Drug-Resistance Genes. *Antibiotics*, 2020, vol. 9, no 7, p. 400.

- **MOROH, J-L.** *Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de Morindamorindoides*. 2013. Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale-Brest.

-**MULLER, A.** *Bon usage des antibiotiques: résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé*. 2017. Thèse de doctorat.

N

-**NAWROT, R., BARYLSKI, J., TOMASZEWSKI, Let al.,** Identification of bacterial species in white stork chicks in Poland using PCR method and sequencing of bacterial 16SrRNA. *Pol J Env Stud*, 2009, vol. 18, p. 301-304.

- **NAZIR, H, CAO, S, HASAN, F, et al.** Can phylogenetic type predict resistance development?. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2011, vol. 66, no 4, p. 778-787.

-NORMARK et NORMARK. "Evolution and spread of antibiotic resistance". *Journal of Internal Medicine*, 2002, Vol 252, p.91-106.

O

-OVEJERO, C. M., DELGADO-BLAS, J. F., CALERO-CACERES, W., *et al.* Spread of mcr-1-carrying Enterobacteriaceae in sewage water from Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2017, vol. 72, no 4, p. 1050-1053.

-OTEO, J, ORTEGA, A, BARTOLOMÉ, R, *et al.* Prospective multicenter study of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from 83 hospitals in Spain reveals high in vitro susceptibility to colistin and meropenem. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2015, vol. 59, no 6, p. 3406-3412.

P

-PAPP-WALLACE, K M., BAJAKSOUZIAN, S, ABDELHAMED, A M., *et al.* Activities of ceftazidime, ceftaroline, and aztreonam alone and combined with avibactam against isogenic Escherichia coli strains expressing selected single β -lactamases. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 2015, vol. 82, no 1, p. 65-69.

-PARTRIDGE, S R. Analysis of antibiotic resistance regions in Gram-negative bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 2011, vol. 35, no 5, p. 820-855.

-PARVEAU, P. *Bactéries multirésistantes dans l'environnement (recherche dans les effluents de la ville de Toulouse)*. 2011. Thèse de doctorat.

- PEIRANO, G, VAN DER BIJ, A K., GREGSON, D B., *et al.* Molecular epidemiology over an 11-year period (2000 to 2010) of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli causing bacteremia in a centralized Canadian region. *Journal of clinical microbiology*, 2012, vol. 50, no 2, p. 294-299.

- PETROPOULOU, D, TZANETOU, K, SYRIOPOULOU, V P., *et al.* Evaluation of imipenem/imipenem+ EDTA disk method for detection of metallo- β -lactamase-producing Klebsiella pneumoniae isolated from blood cultures. *Microbial Drug Resistance*, 2006, vol. 12, no 1, p. 39-43.

- PHILIPPE, G., INRA JOUY-EN-JOSAS. Des microbiotes et des hommes. *Revue de microbiologie*. 2015. p 4.

-PIEDRA-CARRASCO, N, FÀBREGA, A, CALERO-CÁCERES, W, *et al.* Carbapenemase-producing enterobacteriaceae recovered from a Spanish river ecosystem. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no 4, p. e0175246.

-PITOUT, J DD. Infections with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Drugs*, 2010, vol. 70, no 3, p. 313-333.

-POETA, P, RADHOUANI, H, IGREJAS, G, *et al.* Seagulls of the Berlengas natural reserve of Portugal as carriers of fecal Escherichia coli harboring CTX-M and TEM extended-spectrum beta-lactamases. *Applied and environmental microbiology*, 2008, vol. 74, no 23, p. 7439-7441.

-**POIREL, L, KIEFFER, N, LIASSINE, N, et al.** Plasmid-mediated carbapenem and colistin resistance in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *The Lancet Infectious Diseases*, 2016, vol. 16, no 3, p. 281.

- **POTRON, A, NORDMANN, P, LAFEUILLE, E, et al.** Characterization of OXA-181, a carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2011, vol. 55, no 10, p. 4896-4899.

R

-**RAHAL K.** Standardisation de l'antibiogramme en Médecine Humaine à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 4^{ème} édition, 2005, 95p.

- **ROSSOLINI, G M, CONDEMI, M A, PANTANELLA, F, et al.** Metallo- β -lactamase producers in environmental microbiota: new molecular class B enzyme in *Janthinobacterium lividum*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2001, vol. 45, no 3, p. 837-844.

-**ROSSOLINI, G. M., D'ANDREA, M. M., et MUGNAIOLI, C.** The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, 2008, vol. 14, p. 33-41.

- **RUIZ, E, SÁENZ, Y, ZARAZAGA, M, et al.** qnr, aac (6)-Ib-cr and qepA genes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp.: genetic environments and plasmid and chromosomal location. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 2012, vol. 67, no 4, p. 886-897.

S

- **SBIKI, M.** Contribution à l'étude comparative des niches trophiques de deux échassiers de la région de Tébessa: La Cigogne blanche (*Ciconiaciconia*) et le Héron garde-bœufs (*Ardea ibis*). *Mémoire de Magister. 2018. Université de Tébessa.*

-**SCOTTA, C, JUAN, C, CABOT, G, et al.** Environmental microbiota represents a natural reservoir for dissemination of clinically relevant metallo- β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2011, vol. 55, no 11, p. 5376-5379.

-**SHAW, K S., GOLDSTEIN, R E. Rosenberg, HE, X, et al.** Antimicrobial susceptibility of *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* recovered from recreational and commercial areas of Chesapeake Bay and Maryland Coastal Bays. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no 2, p. e89616.

-**SOARES, A.** Sensibilité de 291 souches de *Escherichia coli* urinaires à l'amoxicilline-acide clavulanique: quels résultats pour quelles méthodes?. 2015.

-**STOLLE, I, PRENGER-BERNINGHOFF, E, STAMM, I, et al.** Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2013, vol. 68, no 12, p. 2802-2808.

- **SWANSON, EVRYLL C. et COLLINS, MICHAEL T.** Use of the API 20E system to identify veterinary Enterobacteriaceae. *Journal of clinical microbiology*, 1980, vol. 12, no 1, p. 10-14.

- SZCZEPANOWSKI, R, LINKE, B, KRAHN, I, *et al.* Detection of 140 clinically relevant antibiotic-resistance genes in the plasmid metagenome of wastewater treatment plant bacteria showing reduced susceptibility to selected antibiotics. *Microbiology*, 2009, vol. 155, no 7, p. 2306-2319.

T

-TAFOUKT, R, TOUATI, A, LEANGAPICHART, T, *et al.* Characterization of OXA-48-like-producing Enterobacteriaceae isolated from river water in Algeria. *Water research*, 2017, vol. 120, p. 185-189.

-THOMSEN, K. et HÖTKER, H. The sixth international white stork census: 2004-2005. *Waterbirds around the world. The Stationery Office, Edinburgh*, 2006, p. 493-495.

-TIAN, G-B, WANG, H-N, ZOU, L-K, *et al.* Detection of CTX-M-15, CTX-M-22, and SHV-2 extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in Escherichia coli fecal-sample isolates from pig farms in China. *Foodborne pathogens and disease*, 2009, vol. 6, no 3, p. 297-304.

-TRYJANOWSKI, P, JERZAK, L, et RADKIEWICZ, J. Effect of water level and livestock on the productivity and numbers of breeding white storks. *Waterbirds*, 2005, p. 378-382.

V

- VALENTIN, L, SHARP, H, HILLE, K, *et al.* Subgrouping of ESBL-producing Escherichia coli from animal and human sources: an approach to quantify the distribution of ESBL types between different reservoirs. *International Journal of Medical Microbiology*, 2014, vol. 304, no 7, p. 805-816.

- VAN HOEK, AHAM, MEVIUS, D, GUERRA, B, *et al.* Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in microbiology*, 2011, vol. 2, p. 203.

-VASAI, F. *Etude de la composition du microbiote intestinal des canards. Impact du gavage, de l'ajout d'un probiotique (Lactobacillus sakei) et d'un composé organométallique (cadmium)*. 2013. Thèse de doctorat. Pau.

- VEYSSIERE, A, J. L. *La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires 2019*. Thèse de doctorat. Université BORDEAUX .P7.

- VÉLEZ, M P, DE KEERSMAECKER, S CJ, et VANDERLEYDEN, J. Adherence factors of Lactobacillus in the human gastrointestinal tract. *FEMS microbiology letters*, 2007, vol. 276, no 2, p. 140-148.

W

-WANG, J, MA, Z-B, ZENG, Z-L, *et al.* Response to Comment on "The role of wildlife (wild birds) in the global transmission of antimicrobial resistance genes". *Zoological Research*, 2017, vol. 38, no 4, p. 212.

-WHITE, RJ. The early history of antibiotic discovery: empiricism ruled. In : *Antibiotic Discovery and Development*. Springer, Boston, MA, 2012. p. 3-31.

Y

-YONG, D, LEE, K, YUM, J H, *et al* .Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-β-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *Journal of clinical microbiology*, 2002, vol. 40, no 10, p. 3798-3801.

Z

-ZIADI CHIBANE F, NOURI M. Etude bactériologique et résistance aux antibiotiques de *Klebsiella pneumoniae*. *Mémoire présenté en vue l'obtention du Diplôme Master.2014. Univ des Frères Mentouri Constantine*.

- ZURFUH, K, POIREL, L, NORDMANN, P, *et al*. Occurrence of the plasmid-borne mcr-1 colistin resistance gene in extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae in river water and imported vegetable samples in Switzerland. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 2016, vol. 60, no 4, p. 2594-2595.

Les références électroniques

-LE DEMNA, LA FUSAGX., Catalogue des espèces et habitats des sites natura 2000 de la région wallonne. Disponible sur : <http://biodiversite.wallonie.be>. Consulter le (10/09/2020).

-www.oiseau.Net

-*Cahiers d'Habitat « Oiseaux » - MEEDDAT- MNHN. Cigogne blanche, Ciconiaciconia*(Linné, 1758). Disponible sur : <https://inpn.mnhn.fr/docs/cahab/fiches/Cigogne-blanche.pdf>. Consulter le (10/09/2020).

- ALEXANDRE et YUGANSAN. Résistance à l'amoxicilline. Disponible sur : <http://tpeay.e-monsite.com/pages/ii-amoxicilline.html>. Consulter le (10/09/2020).

Résumé

Le résumé : La résistance aux antibiotiques est l'un des dilemmes de santé publique humaine. De plus, une mauvaise utilisation de molécules antibiotiques en thérapie humaine et animale peut avoir un rôle important dans la généralisation de la résistance multidrogue aux antibiotiques. De la nature et de l'environnement hospitalier, plusieurs souches bactériennes ont exprimés une résistance à de nombreuses molécules d'antibiotiques. L'eau et les eaux usées peuvent jouer un rôle important dans la diffusion du gène de résistance. D'autre part, le sol constitue un réservoir de gène résistant. De plus, les animaux sauvages peuvent véhiculer des gènes résistants et des bactéries résistantes dans le monde entier. Cette dissémination de la résistance incite à s'appuyer sur une revue systématique de la résistance aux antibiotiques chez la faune algérienne afin de mettre en évidence la prévalence de la résistance dans la faune algérienne et les voies de transmission. Pour y parvenir, nous avons traité trois parties différentes: les bactéries les plus résistantes observées chez la faune, la manière dont les bactéries résistantes échangent entre la faune et l'autre hôte impliqué et regardons l'association possible avec certains traits écologiques de l'hôte.

Mots clés : La faune algérienne, résistante aux antibiotiques, bactéries.

Abstract:

Resistance to antibiotic is one of human health public dilemma. Moreover, misuse of antibiotic molecules in human and animal therapy may have an important role in widespread of multidrug resistance to antibiotic. From nature and hospital environment several bacterial strains expressed resistance to numerous antibiotics molecules. Water and wastewater may play an important role in the dissemination of resistance gene. On another hand, soil constitutes a reservoir for resistant gene. Moreover, wildlife animal may vehicle resistant gene and resistant bacteria in all over the world. This resistance dissemination motivate as to build on a systematic review of the antibiotic resistance in Algerian wildlife in order to highlight on the resistance prevalence in Algerian wildlife and transmission pathways. To achieve this points we treated three different part: the most resistant bacteria observed in wildlife, the way that the ciation with certain ecological traits of the host.

Key words: Algerian Wildlife, Antibiotic resistant, bacteria

ملخص

تعتبر مقاومة المضادات الحيوية إحدى معضلات الصحة العامة للإنسان. بالإضافة إلى ذلك، يمكن أن يكون لسوء استخدام جزيئات المضادات الحيوية العلاج البشري والحيواني دور في تعميم مقاومة الأدوية المتعددة للمضادات الحيوية. من الطبيعة وبيئة المستشفى، تمتلك العديد من السلالات البكتيرية مقاومة للعديد من جزيئات المضادات الحيوية. يمكن أن يلعب الماء ومياه الصرف دورًا مهمًا في انتشار جين المقاومة. من ناحية أخرى، تشكلت لأرض بدون احتياطي. بالإضافة إلى ذلك، يمكن أن تحمل حيوانات البرية جينات مقاومة وبكتيريا مقاومة في جميع أنحاء العالم. إن انتشار المقاومة هذا يشجعنا على الاعتماد على مراجعة منهجية لمقاومة المضادات الحيوية في الحيوانات الجزائرية من أجل تسليط الضوء على انتشار المقاومة في الحيوانات الجزائرية وطرق انتقالها. لتحقيق ذلك، تعاملنا مع ثلاثة أجزاء مختلفة: البكتيريا الأكثر مقاومة التي لوحظت في الحيوانات، والطريقة التي تتبادلها البكتيريا المقاومة بين الحيوانات والمضيف الآخر المعني، والنظر في الارتباط الممكن مع سمات معينة في المضيف.

الكلمات المفتاحية : حيوانات جزائرية مقاومة للمضادات الحيوية بكتيريا.