



جامعة بجاية  
Tasdawit n' Bgayet  
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

## MEMOIRE DE MAGISTER

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE  
Magister

Filière : Biologie

Spécialité : Microbiologie

Présenté par

M<sup>lle</sup> YOUSFI Massilia

Thème

**Caractérisation des phénotypes de résistance aux antibiotiques  
des souches bactériennes isolées d'infections chez les animaux  
de compagnie**

Soutenue le :

Devant le jury composé de :

Pr. KECHA Mouloud	Professeur (U.A.M., Béjaïa)	Président
Pr. TOUATI Abdelaziz	Professeur (U.A.M., Béjaïa)	Directeur de mémoire
Pr. BEDJOU Fatiha	Professeur (U.A.M., Béjaïa)	Examinatrice
Dr. AYAD Abdelhanine	MCA (U.A.M., Béjaïa)	Examinateur
Dr. HASSISSENE Lila	Docteur vétérinaire	Invitée

Année universitaire 2014-2015

# Remerciements

Mes remerciements s'adressent, d'abord, à mon encadreur : Pr. A. TOUATI. Je lui suis très reconnaissante de m'avoir offert l'opportunité d'intégrer son équipe, pour m'avoir formé, guidé, encouragé et dirigé. Qu'il trouve ici toute ma gratitude.

Mes remerciements les plus sincères vont aux membres du jury : au Pr. M.KECHA qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, aux Pr. F. BEDJOU et Dr .A. AYAD. Pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont également à l'égard du Dr. BAKOUR pour son aide à la réalisation du carba NP-Test ainsi que Mr BENSaid pour l'étude statistique

Je remercie chaleureusement Dr Hassissene, son équipe ainsi que Mlle A.Mairi pour m'avoir fourni toute l'aide dont j'avais besoin pour réaliser ce travail.

# *Dédicaces*

*A mes parents, les deux êtres les plus chères à mon cœur,  
tout les mots du monde ne pourront décrire ma  
reconnaissance ; pour m'avoir soutenu ; encouragé et aidé  
dans ce qu'il ya de plus importants à mes yeux, j'espere être  
toujours à la hauteur de vos espérances.*

*A ma grand-mère, ma sœur et mon petit frère pour leur  
présence a mes cotés.*

# Liste des abréviations

**AAC** : Aminoglycoside Acetyl Transférase

**AAD** : Aminoglycoside Adenyl Transférase

**AK** : Amikacine

**AMC** : Amoxicilline-Clavulanate

**AmpC** : Céphalosporinases

**AN** : Acide Nalidixique

**APH** : Aminoglycoside Phosphotransférase

**ATCC** : American Type Culture Collection

**ATM** : Aztréonam

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

**C3G** : Céphalosporines de troisième génération

**C4G** : Céphalosporines de quatrième génération

**CASFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CAZ** : Céftazidime

**CIP** : Ciprofloxacine

**Cloxa** : Cloxacilline

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**CTX** : Céfotaxime

**CTX-M** : Céfotaximase-Munich

**DD-test** : Double Disque synergie test

**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

**ERT** : Ertapénème

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

**FEP** : Céfépime

**FOX** : Céfoxitine

**GN** : Gentamycine

**I** : Intermédiaire

**IMP** : Imipénème

**KPC** : Klebsiella Pneumoniae Carbapénémase

**LB** : Luria-Broth

**MC** : Mac Conkey

**MH** : Mueller-Hinton

**MβL** : Métallo-β-Lactamase

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

**R** : Résistant

**S** : Sensible

**SHV** : Sulfhydryl Variable

**SXT** : Triméthoprime-sulfaméthoxazole

**TE** : Tétracycline

**TEM** : Temoniera

**TIC** : Ticarcilline

**TOB** : Tobramycine

**TSA** : Trypticase Soja

**TSI** : Three Sugar Iron

**TZP** : Pipéracilline-tazobactam

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Classification des $\beta$ -lactamines dérivées de l'acide 6-amino-pénicillanique	<b>4</b>
<b>Figure 2:</b> Classification des $\beta$ -lactamines dérivées de l'acide 7-amino-céphalosporanique et monobactames	<b>7</b>
<b>Figure 3:</b> Structure usuelle d'un intégron de classe 1	<b>17</b>
<b>Figure 4:</b> Différents modes de transfert horizontal d'ADN chez les bactéries (Davies & Davies, 2010)	<b>18</b>
<b>Figure 5:</b> Dissémination plausible ou avérée des antibiotiques et de leurs résistances à travers différents écosystèmes (Davies & Davies, 2010)	<b>21</b>
<b>Figure 6:</b> Taux de résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux $\beta$ -lactamines	<b>38</b>
<b>Figure 7:</b> Taux de résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux autres antibiotiques	<b>38</b>
<b>Figure 8:</b> Comparaison entre les taux de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E. coli</i> isolées chez les chiens et chats	<b>38</b>
<b>Figure 9:</b> Indices de multirésistance calculés pour les 33 souches d' <i>E. coli</i>	<b>39</b>
<b>Figure 10:</b> Distribution des CMI vis-à-vis du CAZ et CTX des souches d' <i>E. coli</i> testées	<b>40</b>
<b>Figure 11:</b> Image de synergie pour la souche souche d' <i>E. coli</i> 79	<b>41</b>
<b>Figure 12:</b> Image de synergie obtenue pour la souche d' <i>E. coli</i> 174	<b>41</b>
<b>Figure 13:</b> Antibiogramme de la souche S65 sur gélose MH (a gauche) et gélose MH+cloxacilline (A droite)	<b>42</b>
<b>Figure 14:</b> Résultat du test de Hodge pour les souches d' <i>E. coli</i> 99 et 100	<b>43</b>
<b>Figure 15:</b> Résultat du Carba NP test modifié pour la souche 174	<b>43</b>
<b>Figure 16:</b> Résultat du test de l'inhibition à l'EDTA pour la souche d' <i>E. coli</i> 174	<b>43</b>
<b>Figure 17:</b> Arbre décisionnel permettant d'interpréter les mécanismes de résistance des souches d' <i>E. coli</i> isolées d'animaux de compagnie aux $\beta$ -lactamines	<b>44</b>
<b>Figure 18:</b> Amplification par PCR multiplexe des gènes carbapénèmases	<b>49</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau I:</b> Schéma de classification des $\beta$ -lactamases (Bush et Jacoby, 2010)	<b>10</b>
<b>Tableau II :</b> Phénotypes de résistances aux $\beta$ lactamines	<b>23</b>
<b>Tableau III :</b> Antibiotiques testés	<b>30</b>
<b>Tableau IV :</b> Interprétation des résultats du Carba NP test modifié	<b>32</b>
<b>Tableau V :</b> Préparation de la gamme d'antibiotiques	<b>34</b>
<b>Tableau VI :</b> Liste des amorces utilisées	<b>36</b>
<b>Tableau VII :</b> Conditions de la PCR multiplexe pour la détection des carbapénèmases	<b>36</b>
<b>Tableau VIII :</b> Résultats de l'antibiogramme complémentaire des souches <i>E. coli</i> résistantes à l'ertapénème	<b>39</b>
<b>Tableau IX :</b> Distribution des CMI des 08 antibiotiques testés	<b>41</b>
<b>Tableau X:</b> Phénotypes de résistance probables aux $\beta$ -lactamines des souches d' <i>E. coli</i>	<b>45</b>
<b>Tableau XI :</b> Sensibilité aux antibiotiques, CMI et phénotypes de résistance obtenus pour les transconjugants	<b>48</b>
<b>Tableau XII :</b> Types de BLSE rapportés chez les souches <i>E. coli</i> et autres entérobactéries isolées de chiens et chats	<b>52</b>
<b>Tableau XIII:</b> Types d'AmpC rapportés chez les souches d' <i>E. coli</i> et autres entérobactéries isolées de chiens et chats	<b>54</b>
<b>Tableau XIV* :</b> Les prélèvements recueillis	<b>III</b>

\* : Tableaux figurant en annexes

# Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction** **1**

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Mécanismes génétiques et biochimiques de la résistance aux antibiotiques

1. Les $\beta$ -lactamines	<b>4</b>
1.1. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique	<b>5</b>
1.2. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique	<b>7</b>
1.3. Monobactames	<b>8</b>
2. Mécanismes biochimiques de la résistance	<b>9</b>
2.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	<b>9</b>
2. 1.1. Les $\beta$ -lactamases	<b>9</b>
2. 1.2. Enzymes modifiant les aminosides	<b>11</b>
2.2. Modification de la cible	<b>11</b>
2.2.1. Enzymatique	<b>11</b>
2.2.2. Modifications mutationnelles	<b>11</b>
2.2.3. Séquestration de l'antibiotique	<b>12</b>
2.2.4. Protection de la cible	<b>12</b>
2.3. Baisse de la perméabilité membranaire	<b>12</b>
2.4. Efflux actif	<b>13</b>
3. Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques	<b>13</b>
3.1. Mutations	<b>14</b>
3.1.1. Au niveau de la cible	<b>14</b>



3.1.2. Au niveau du gène de régulation	14
3.1.3. Au niveau des gènes de porines	14
3.2. Acquisition de gènes	15
3.2.1 .Plasmides	15
3.2.2. Transposons	16
3.2.3. Intégrons	16
3.3. Différents modes de transferts horizontaux	17
4. Facteurs favorisant l'émergence et la diffusion des gènes de résistance	19

## **Chapitre II : $\beta$ -lactamines et *Escherichia coli***

1. Généralités	22
2. Résistance aux $\beta$ -lactamines	22
2.1. Pénicillinase acquise ou « Pénicillinase de haut niveau »	23
2.2. Pénicillinases résistantes aux inhibiteurs	24
2.3. $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE)	24
2.4. Céphalosporinases de haut niveau	26
2.5. Les carbapénèmases	27

## **Matériels et méthodes**

1. Souches bactériennes	29
A. Prélèvements	29
B. Isolement	29
C. Identification	29
2. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	29
3. Détermination des phénotypes de résistance	31
3.1. Recherche de la production d'une $\beta$ -lactamase à Spectre Etendu (BLSE)	31
3.2. Recherche de la production d'une céphalosporinase	31

3.3. Recherche de la production d'une carbapénémase	31
3.3.1. Test de Hodge et Carba NP test modifié	31
3.3.3. Recherche de la production de métallo- $\beta$ -lactamases (MBL)	33
4. Transfert par conjugaison	33
5. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices en milieu solide	34
6. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices par E.Teste	35
7. Caractérisation moléculaire des gènes carbapénémases	35
8. Traitement statistique	36

## **Résultats**

1. Souches bactériennes	37
2. Sensibilité des souches aux antibiotiques	37
3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	40
4. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par E.Teste	40
5. Analyse des phénotypes de résistance	41
6. Déduction des phénotypes de résistance	43
7. Taux de portage fécal des souches d' <i>E. coli</i> résistantes aux $\beta$ -lactamases à spectre étendu	46
8. Transfert par conjugaison	47
9. Caractérisation moléculaire des carbapénémases	49

<b>Discussion et Conclusion</b>	<b>50</b>
---------------------------------	-----------

<b>Références Bibliographiques</b>	<b>58</b>
------------------------------------	-----------

## **Annexes**

L'utilisation depuis des décennies des antibiotiques dans le traitement des infections bactériennes, tant humaines qu'animales, s'est accompagnée de l'émergence chez les bactéries de résistance aux différentes classes d'antibiotiques. Le développement de ces résistances est dû à de nombreux facteurs, dont le plus important reste l'exposition des bactéries aux antibiotiques. Lorsque ces résistances bactériennes apparaissent chez des animaux recevant des antibiotiques, les flores bactériennes hébergées par ces derniers deviennent des réservoirs de gènes de résistance qui peuvent être transmis à l'homme, *via* les pathogènes zoonotiques ou les bactéries commensales (Leite-Martins et al., 2014). *Escherichia coli* est un agent pathogène important et un composant commun de la microflore commensale intestinale. Le vaste réservoir d'*E. coli* dans le tractus intestinal est une préoccupation potentielle puisqu'il peut servir d'un pool de bactéries multirésistantes aux antibiotiques. Un point essentiel concernant les souches d'*E. coli* multirésistantes aux antibiotiques est celui de la production de  $\beta$ -lactamases, en raison de l'importance des  $\beta$ -lactamines dans le traitement des infections animales et humaines et les possibilités de transmission de souches résistantes entre les animaux et les humains. Parmi ces  $\beta$ -lactamases, les  $\beta$ -lactamase à spectre étendu et les céphalosporinase plasmidiques sont les plus préoccupantes et émergentes chez les animaux et les humains. (Scott Weese, 2008).

L'évaluation de la multi-résistance chez les animaux de compagnie est difficile, car il y a peu de programmes de surveillance comparés aux données disponibles pour les animaux d'élevage. C'est un domaine important pour de futures recherches, en particulier en raison du potentiel d'infections bidirectionnelles avec les humains, et de l'amplification de la résistance dans les cabinets vétérinaires. Les chiens et les chats ont un contact plus direct et prolongé avec l'homme au sein du foyer familial et sont souvent nourris avec de la viande et/ou sous-produits carnés offrant de plus grandes possibilités dans l'acquisition et l'échange de bactéries pathogènes multirésistantes par voie oro-fécale. Ils doivent donc être considérés comme des réservoirs importants du transfert de la résistance entre les animaux et l'Homme (Darren, 2013)

Les autorités publiques ont pris conscience de ces problèmes de résistance aux antibiotiques, qui peuvent avoir des conséquences aussi bien en termes de santé publique qu'en matière d'économie. Ces problèmes de résistance ont en premier lieu un coût humain, ils peuvent engendrer des échecs thérapeutiques et donc conduire à une augmentation des taux de mortalité et de morbidité. De plus, les résistances les plus courantes sont celles qui touchent les molécules les plus anciennes, or ce sont ces molécules qui sont les plus abordables d'un point de vue financier. Les résistances aux antibiotiques obligent donc à utiliser des molécules plus récentes, et donc plus

coûteuses, mais qui ne sont pas toujours accessibles en quantité suffisante dans les pays en voie de développement (Hawkey, 2008).

La résistance aux antibiotiques est devenue un problème majeur de santé publique en Algérie. En effet, ces dix dernières années, il a été constaté une importante augmentation de la résistance aux antibiotiques en particulier chez les bacilles à Gram négatif. Ainsi de nombreux travaux ont été rapportés à ce sujet: Touati et *al* en 2006 ont isolé de l'hôpital de Bejaia des souches d'*Enterobacteriaceae* productrices de BLSE de types CTX-M-3 et CTX-M-15. Ces mêmes enzymes ont été également rapportées chez des souches d'*E. coli* isolées à l'hôpital d'Alger (Remdani-Bougoussa et *al.*, 2006) et depuis par plusieurs autres auteurs dans différentes régions du pays. Cependant ces rapports concernent dans la majorité des cas des souches cliniques et à notre connaissance aucun travail sur la résistance aux antibiotiques chez des souches bactériennes isolées d'animaux de compagnies n'a été publié en Algérie.

L'objectif de notre travail est l'étude du portage fécal des souches d'*E. coli* isolées d'animaux de compagnie. Pour cela nous avons adopté la démarche expérimentale suivante :

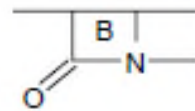
- Isolement et identification des souches d'*E. coli* à partir de prélèvements de selles
- Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques (antibiogramme et CMI) et caractérisation phénotypique des mécanismes de résistance (DD-test, Hodge test, inhibition à l'EDTA, ...etc.)
- Caractérisation moléculaire (PCR et séquençage) des gènes de carbapénèmases.

# Chapitre 1 : Mécanismes biochimiques et génétiques de la résistance

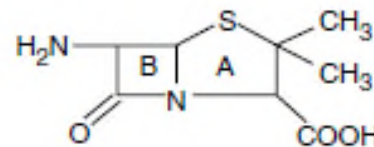
## 1. Les $\beta$ -lactamines

La famille des  $\beta$ -lactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence d'un cycle  $\beta$ -lactame indispensable à l'activité antibiotique (Fig. 1). La majorité des  $\beta$ -lactamines, dont le représentant le plus ancien est la pénicilline G, sont maintenant obtenues par hémisynthèse. Les  $\beta$ -lactamines, qu'elles soient naturelles ou produites par hémisynthèse, sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans leur structure de base. La structure du noyau de base, qui comporte toujours le cycle  $\beta$ -lactame, permet de répartir ces produits en trois grands groupes : les dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique, les dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et les monobactames (Bryskier 1999 ; Cavallo et *al.*, 2004 ; Ruppé, 2010)

### Cycle commun $\beta$ -lactame (B)

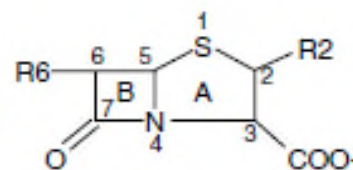


### Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique Cycle $\beta$ -lactame (B) + cycle thiazolidine (A)

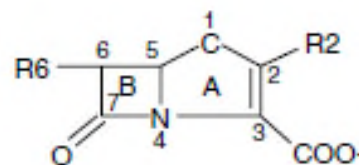


#### • Pénames (pénicillines)

- Pénicillines G et V sensibles aux pénicillinases
- Pénicillines antistaphylococciques résistantes aux pénicillinases : pénicillines M semi-synthétiques
- Pénicillines à large spectre (ampicilline et apparentés) et pénicillines actives sur *Pseudomonas aeruginosa* (carboxypénicillines et uréidopénicillines)
- Amidinopénicillines (pivmécillinam)
- Pénicillines sulfones (sulbactam et tazobactam)



#### • Carbapénèmes



#### • Clavames ou oxapénames

- Acide clavulanique

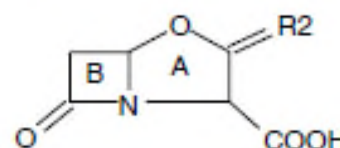


Figure 1 : Classification des  $\beta$ -lactamines dérivées de l'acide 6-amino-pénicillanique.

104 **1.1. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique**

105 Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle thiazolidine, spécifique des  
106 pénicillines. Il intègre le grand groupe de  $\beta$ -lactamines ayant un noyau péname,  
107 caractéristique des pénicillines, parmi lesquelles il y a lieu de distinguer au moins sept sous-  
108 groupes différenciés par leur structure chimique, leur stabilité, leur spectre et leur activité  
109 antibactérienne. D'autres  $\beta$ -lactamines ont un noyau qui dérive du noyau péname par  
110 substitution du soufre en position 1 (Figure 1) : (Cavallo et al., 2004)

- 111 • La substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un oxygène est à  
112 l'origine du noyau clavame. Le seul représentant actuellement utilisé est l'acide  
113 clavulanique, qui inhibe la plupart des  $\beta$ -lactamases de la classe A d'Amblar.
- 114 • La substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un atome de carbone est  
115 à l'origine du noyau pénème. Les carbapénèmes les plus utilisés sont l'imipénème, le  
116 méropénème et l'ertapénème.

117 **1.1.1. Les pénames** se répartissent en cinq principaux sous-groupes :

- 118 • La pénicilline G et ses dérivés : toutes ces pénicillines ont une activité identique contre  
119 les cocci à Gram positif et négatif, ainsi que contre quelques bacilles à Gram positif  
120 comme les corynébactéries ou les *Clostridium*. Les bacilles à Gram négatif sont  
121 naturellement résistants par imperméabilité.
- 122 • Les pénicillines antistaphylococciques (pénicillines M) : le premier produit obtenu, la  
123 diméthoxybenzylpénicilline (méthicilline) n'était administrable que par voie  
124 parentérale, alors que les isoxazolylpénicillines comme l'oxacilline et/ou la  
125 cloxacilline, la sont utilisables par voie orale. Cependant, ce sont des pénicillines à  
126 spectre étroit car, en dehors de *Staphylococcus aureus* producteur de pénicillinase, ces  
127 produits ont une moins bonne activité intrinsèque que la pénicilline G et ses dérivés.
- 128 • Les pénicillines à large spectre regroupant l'ampicilline et apparentés ainsi que les  
129 pénicillines anti-Pseudomonas : la première des aminopénicillines, l'ampicilline, a été  
130 obtenue en modifiant la benzylpénicilline par le branchement d'un radical aminé  
131 (NH<sub>2</sub>) sur sa chaîne latérale en position 6. Cette modification lui confère une  
132 meilleure stabilité en milieu acide et élargit le spectre à de nombreux bacilles à Gram  
133 négatif non naturellement producteurs de  $\beta$ -lactamases constitutives comme  
134 *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica* et *Shigella* spp. De même, il  
135 existe des analogues dont le plus utilisé est l'amoxicilline, qui a comme avantages une

136 meilleure pharmacocinétique, une meilleure absorption orale et une activité plus  
137 rapidement bactéricide que l'ampicilline. Les carboxypénicillines (carbénicilline,  
138 ticarcilline) sont des produits administrés par voie parentérale qui se différencient des  
139 aminopénicillines par un spectre encore plus étendu sur les bacilles à Gram négatif,  
140 englobant en particulier *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, ou des  
141 entérobactéries comme les *Proteus* indole positif, *Serratia* spp., *Enterobacter* spp. ou  
142 *Citrobacter freundii*. Les acyluréidopénicillines sont des pénicillines à large spectre  
143 d'utilisation parentérale. Les principales acyluréidopénicillines sont l'azlocilline, la  
144 mezlocilline et la pipéracilline. Le spectre d'activité de ces molécules est très large car  
145 il conjugue celui des aminopénicillines et celui des carboxypénicillines.

- 146 • Les amidinopénicillines : le pivmécillinam, ester oral du mécillinam, est la seule  
147 amidinopénicilline actuellement disponible. Elles sont très actives sur certaines  
148 entérobactéries des voies urinaires, avec une affinité particulière pour les PLP2 d'*E.*  
149 *coli*, mais peu actives sur l'ensemble des bactéries à Gram positif.
- 150 • Les pénicillines sulfones : les principaux composés de ce sous-groupe sont le  
151 sulbactam et le tazobactam. Bien qu'ayant une activité antibactérienne propre à de  
152 fortes concentrations, ce sont surtout des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases.

### 153 **1.1.2. Carbapénèmes**

154 Ils sont caractérisés par un noyau pénème et dérivent de la thiénamycine, produite  
155 naturellement par *Streptomyces cattleya*.. Les carbapénèmes possèdent en position 6 un  
156 groupement hydroxyéthyle en position *trans* à la place des groupes amino-acyl en *cis* portés  
157 par les autres  $\beta$ -lactamines. Ce groupement assure une stabilité importante vis-à-vis de  
158 l'action d'une grande variété de  $\beta$ -lactamases et augmente l'activité vis-à-vis d'espèces  
159 comme *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp et *Citrobacter* spp. L'imipénème est  
160 peu inactivé par les  $\beta$ -lactamases bactériennes. Le méropénème a une activité légèrement  
161 supérieure à l'imipénème sur l'ensemble des bacilles à Gram négatif. L'ertapénème possède  
162 une activité comparable à celle du méropénème sur les bactéries à Gram positif et la plupart  
163 des bacilles à Gram négatif, mais cette activité reste très inférieure à celle du méropénème  
164 pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. (Cavallo et al., 2004 ).

165 **1.2. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique**

166 Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former  
 167 l'acide 7-amino-céphalosporanique ou 7-ACA (noyau céphème), qui distingue les  
 168 céphalosporines des pénicillines. Suivant les substituants en R3 et R4, on distingue les  
 169 céphalosporines, les céphamycines et les oxacéphèmes (Figure 2). La particularité du noyau  
 170 céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés  
 171 antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en  
 172 plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables (Bryskier 1999 ; Ruppé, 2010)

173 .

174

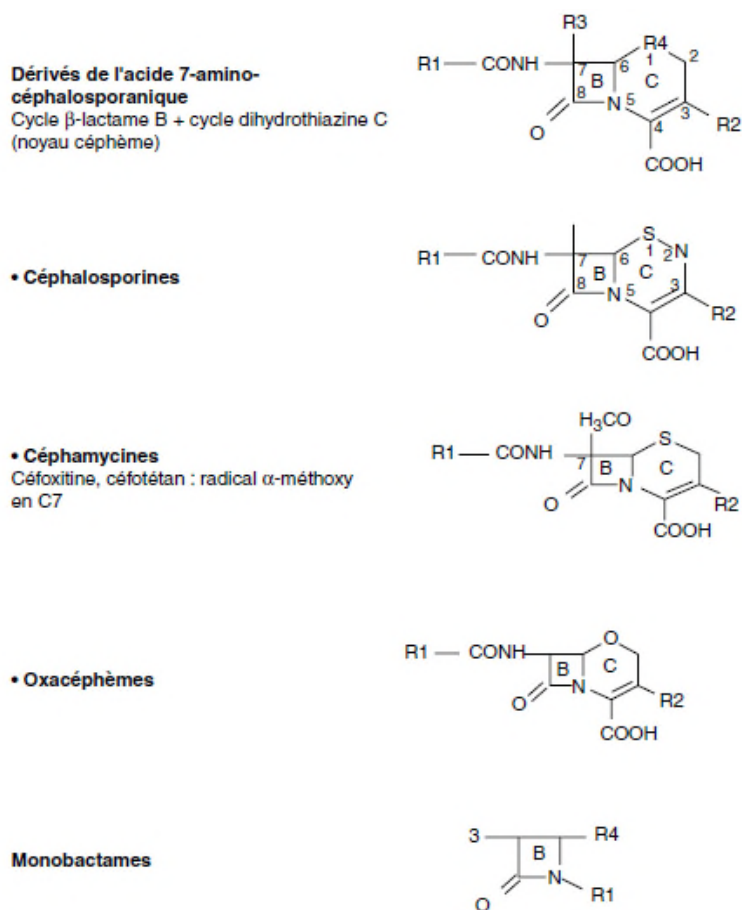


Figure 2 : Classification des  $\beta$ -lactamines dérivées de l'acide 7-amino-céphalosporanique et monobactames



175 Les céphalosporines de première génération ont un spectre limité aux cocci à Gram positif,  
176 essentiellement les streptocoques et les staphylocoques sensibles à la méthicilline et à  
177 quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinase inductible comme *E. coli*, les  
178 salmonelles, *P. mirabilis* ou *Klebsiella* spp. Elles sont hydrolysées facilement par les  $\beta$ -  
179 lactamases acquises (Cavallo et al., 2004).

180 .

181 Les céphalosporines de deuxième génération ont un spectre un peu élargi au sein des  
182 entérobactéries, avec des variations suivant les molécules. Les céphamycines comme la  
183 céfoxitine et le céfotétan leur sont rattachées du fait de leur spectre très proche, étendu à  
184 certaines entérobactéries productrices de BLSE et aux anaérobies à Gram négatif (Cavallo et  
185 al., 2004).

186 Les céphalosporines de troisième génération se distinguent par un accroissement  
187 important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des  $\beta$ -lactamases  
188 comme les pénicillinases de type TEM ou les céphalosporinases chromosomiques des  
189 entérobactéries, de *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Cependant, en cas d'hyperproduction de la  
190 céphalosporinase chromosomique ou de production de BLSE, ces céphalosporines sont  
191 inactivées. Elles sont par ailleurs moins efficaces sur les staphylocoques que les  
192 céphalosporines de première génération. Les principales molécules disponibles par voie  
193 parentérale sont le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftazidime et le ceftizoxime (Cavallo et al.,  
194 2004). Les dernières céphalosporines injectables de troisième génération commercialisées  
195 (céfépime, cefpirome) sont appelées par certains « de quatrième génération » présentent un  
196 gain d'activité sur les cocci à Gram positif, une activité sur *P. aeruginosa* et une meilleure  
197 résistance à l'hydrolyse par les céphalosporinases hyperproduites (Cavallo et al., 2004).

### 198 **1.3. Monobactames**

199 Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au  
200 cycle  $\beta$ -lactame (Figure 2). Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit. Il possède une  
201 activité comparable à celle des céphalosporines de troisième génération en raison de sa bonne  
202 stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases. Son activité s'étend à *P. aeruginosa*. Il n'a en revanche  
203 aucune activité sur les bacilles à Gram positif et les anaérobies.

## 204 **2. Mécanismes biochimiques de la résistance aux antibiotiques**

### 205 **2.1. Inactivation enzymatique**

206 Un des mécanismes de résistance les plus répandus et des plus efficaces consiste, pour  
207 les bactéries, à modifier la structure de l'antibiotique de façon à lui faire perdre sa capacité à  
208 se lier à sa cible cellulaire et, par conséquent, à l'inhiber. Il repose sur la production  
209 d'enzymes pouvant hydrolyser l'antibiotique (ex:  $\beta$ -lactamines) ou le modifier (ex :  
210 aminosides) (Paterson, 2005)

#### 211 **2.1.1. Les $\beta$ -lactamases**

212 Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes, naturelles ou acquises, produites par les bactéries  
213 et qui provoquent l'hydrolyse du cycle bêta-lactame (Vodovar et *al.*, 2013). Depuis leur  
214 découverte à la fin des années 1940 chez des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à  
215 la pénicilline G, plusieurs centaines de  $\beta$ -lactamases ont été identifiées chez diverses espèces  
216 bactériennes, pathogènes ou non, d'où la nécessité de les classer.

217 Actuellement, il existe deux différentes classifications de  $\beta$ -lactamases : la classification  
218 moléculaire d'Ambler et la classification fonctionnelle de Bush et Jacoby (Tableau N°I). La  
219 classification d'Ambler est fondée sur l'homologie des séquences en acides aminés des  $\beta$ -  
220 lactamases. Elle divise ces enzymes en quatre groupes (A à D) selon la structure primaire de  
221 l'enzyme. Les enzymes des classes A, C et D sont dites à sérine, alors que la classe B  
222 regroupe les métallo- $\beta$ -lactamases (type métallo-enzymes), qui ont besoin d'ions  $Zn^{2+}$ . Tandis  
223 que la classification de Bush et Jacoby basée sur le spectre d'hydrolyse des substrats et les  
224 inhibiteurs d'enzymes, regroupe les  $\beta$ -lactamases en trois grands groupes (1, 2 et 3) avec  
225 plusieurs sous-groupes (Bush et Jacoby, 2010).

226 Le profil d'hydrolyse des  $\beta$ -lactamases conditionne en grande partie le profil de  
227 sensibilité aux  $\beta$ -lactamines des bactéries qui les produisent. Toutefois, des mutations  
228 spontanées conduisant à la surexpression ou introduisant des changements précis dans la  
229 structure primaire des  $\beta$ -lactamases peuvent accroître l'activité de celles-ci vis-à-vis de  $\beta$ -  
230 lactamines relativement résistantes à l'hydrolyse enzymatique. Ainsi, dans les années 1990  
231 sont apparues des variantes des pénicillinases à spectre restreint (de type SHV, TEM ou OXA  
232 par exemple) capables d'inactiver les céphalosporines de troisième génération et nommées  
233 pour cette raison  $\beta$ -lactamases à Spectre Étendu (BLSE) (Le Turnier, 2009).

234 **Tableau I : Schéma de classification des  $\beta$ -lactamases (Bush et Jacoby, 2010)**

Bush et Jacoby (2009)	Ambler	Substrats préférés	Inhibée par		Enzymes représentatives
			AC ou TZB	EDTA	
1	C	Céphalosporines	non	non	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	C	Céphalosporines	non	non	GC1, CMY-37
2a	A	pénicillines	oui	non	PC1
2b	A	Pénicillines, Céphalosporines à spectre large*	oui	non	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	Céphalosporines à spectre étendu**, Monobactames	oui	non	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15
2br	A	Pénicillines	non	non	TEM-30, SHV-10
2ber	A	Céphalosporines à spectre étendu, Monobactames	non	non	TEM-50
2c	A	Carboxypénicillines	oui	non	PSE-1, CARB-3
2ce	A	Carboxypénicillines, Céfépime	oui	non	RTG-4
2d	D	Cloxacilline	variable	non	OXA-1, OXA-10
2de	D	Céphalosporines à spectre étendu	variable	non	OXA-11, OXA-15
2df	D	Carbapénèmes	variable	non	OXA-23, OXA-48
2e	A	Céphalosporines à spectre étendu	oui	non	CepA
2f	A	Carbapénèmes	variable	non	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	B(B1)	Carbapénèmes	non	oui	IMP-1, VIM-1, CcrA, NDM-1
	B(B3)	Carbapénèmes	non	oui	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	B(B2)	Carbapénèmes	non	oui	CphA, Sfh-1

235

236 \* : Inclus les céphalosporines de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération excepté les céphamycines237 \*\* : Inclus les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> et/ou 4<sup>ème</sup> excepté les céphamycines

238 **2. 1.2. Enzymes modifiant les aminosides**

239 Les aminosides ont en commun un ou plusieurs cycles glucosidiques et un cycle  
240 cyclohexane substitué, en position 4,6 pour la majorité d'entre eux (Ex :amikacine,  
241 tobramycine...). Ce sont des des molécules cationiques, stables aux variations de température  
242 et de pH, très hydrosolubles, qui possèdent un large spectre antibactérien et dont les effets  
243 bactéricides sont concentration-dépendants. Les aminosides peuvent perdre leur capacité à se  
244 fixer sur leur cible, le ribosome, lorsque certaines de leurs fonctions –OH ou –NH<sub>2</sub> sont  
245 modifiées par des enzymes bactériennes stéréospécifiques (Phospho-transférases,  
246 Nucléotidyl-transférases, Acétyl-transférases). Ces enzymes sont acquises par les bactéries  
247 pathogènes à l'occasion d'échanges génétiques avec des espèces environnementales (Davies,  
248 1997). L'exemple de l'acétyl-transférase AAC(6')-Ib-cr montre comment des mutations  
249 peuvent élargir la spécificité d'une enzyme à plusieurs familles d'antibiotiques, en  
250 l'occurrence ici les aminosides et les fluoroquinolones (Lambert et *al.*, 1997).

251 **2.2. Modification de la cible**

252 **2.2.1. Enzymatique**

253 Un mécanisme fréquemment utilisé par les bactéries pour se soustraire à l'action des  
254 antibiotiques revient à produire des enzymes qui, en modifiant les cibles cellulaires, leur font  
255 perdre leur affinité pour les agents anti-infectieux. Récemment un processus de modification  
256 enzymatique du ribosome a été mis en évidence chez des bactéries résistantes aux aminosides.

257 La méthylation de l'ARN 16S en position G1405 par des enzymes dénommées ArmA,  
258 RmtA, RmtB, RmtC, RmtD et RmtE codées par des gènes plasmidiques localisés dans des  
259 transposons prévient la fixation des aminosides sur le ribosome et abolit totalement leur  
260 action antibactérienne. La résistance de haut niveau résultante de cette modification constitue  
261 une menace potentielle pour l'avenir des aminosides car elle affecte la presque totalité des  
262 membres de cette importante famille thérapeutique (Fritsche, 2008).

263 **2.2.2. Modifications mutationnelles**

264 La résistance aux antibiotiques peut résulter de mutations spontanées qui, en  
265 introduisant des substitutions d'acide aminés dans les cibles moléculaires, leur font perdre  
266 leur affinité pour les agents inhibiteurs. De nombreux exemples de ce type de mécanismes ont  
267 été rapportés dans la littérature pour différentes familles d'antibiotiques (Lambert, 2008). La  
268 résistance aux quinolones est principalement chromosomique, généralement due à une  
269 diminution d'affinité de l'antibiotique pour sa cible. Ceci est dû à une modification de l'ADN

270 gyrase et/ou de la topoisomérase IV par mutations ponctuelles. À noter que ce mécanisme est  
271 le seul responsable du phénotype de résistance de haut niveau aux fluoroquinolones. Les  
272 mutations apparaissent quasi exclusivement dans de courtes régions conservées des deux  
273 protéines appelées « *Quinolone Resistance-Determining Regions* » (QRDR) (Bozdogan et  
274 Appelbaum, 2004).

### 275 **2.2.3. Séquestration de l'antibiotique**

276 Lorsqu'il n'existe pas de solutions efficaces pour inactiver l'antibiotique ou diminuer  
277 l'affinité de la cible, les bactéries peuvent être contraintes de séquestrer l'agent inhibiteur  
278 pour en neutraliser les effets. Cette stratégie a été évoquée pour tenter d'expliquer la  
279 résistance aux carbapénèmes chez les mutants « déprimés » de certains bacilles à Gram  
280 négatif surproduisant leur céphalosporinase « chromosomique », en raison de la relative  
281 stabilité de ces  $\beta$ -lactamines vis-à-vis de l'enzyme (Fritsche, 2008).

### 282 **2.2.4. Protection de la cible**

283 Il s'agit d'une protection réversible de la cible. Ce type de mécanisme est illustré par la  
284 résistance de type Qnr aux quinolones. Il repose sur la production de protéines appelées Qnr  
285 (*quinolone resistance*) qui sont d'origine plasmidique et possèdent toutes une structure  
286 tertiaire pseudohélicoïdale similaire à celle de l'ADN. Ces protéines vont se fixer sur les  
287 topoisomérases II et IV en empêchant la fixation ultérieure des quinolones. Les protéines de  
288 type Qnr confèrent toutes un haut niveau de résistance aux quinolones de première génération,  
289 alors qu'elles confèrent un bas niveau de résistance aux fluoroquinolones (Fritsche, 2008).

## 290 **2.3. Baisse de la perméabilité membranaire**

291 A l'exception des polymyxines et peut être des aminosides, les antibiotiques actifs sur  
292 les bactéries à Gram négatif traversent la membrane externe par diffusion passive à travers les  
293 porines. La diminution quantitative ou des modifications dans la région de constriction interne  
294 de ces canaux protéiques peuvent freiner la pénétration intracellulaire des agents  
295 antibactériens et conférer, de ce fait, un bas niveau de résistance à plusieurs familles  
296 d'antibiotiques. Par exemple, une mutation dans la séquence du gène *ompF* codant pour une  
297 porine de *E. coli* entraîne une résistance aux  $\beta$ -lactamines (Harder et al, 1981).

298 **2.4. Efflux actif**

299 Un processus assez répandu dans le monde vivant pour maintenir l'homéostasie  
300 cellulaire consiste à refouler de façon active les agents nocifs dans le milieu extérieur. Ces  
301 systèmes d'efflux, encore appelés « pompes », ont été mis en évidence dans les années 80 par  
302 Stuart Levy chez des souches d'*E. coli* résistantes à la tétracycline. De très nombreux autres  
303 transporteurs ont été identifiés depuis chez presque toutes les espèces bactériennes (Poole,  
304 2005). Les transporteurs d'efflux sont regroupés en 5 familles selon la source d'énergie  
305 utilisée et selon des critères de taille et de structure protéique. Certains d'entre eux sont  
306 intrinsèques et d'autres apportés par des éléments génétiques mobiles. La surproduction d'un  
307 système d'efflux actif se traduit généralement par une augmentation modérée des CMI  
308 (augmentées de 2 à 16 µg/ml) des substrats de la pompe. Par exemple chez *E. coli*, la pompe à  
309 efflux AcrAB-TolC et sous contrôles multiples et joue un rôle majeur dans la résistance aux  
310 fluoroquinolones par efflux. Les mutations survenant dans le gène *acrR* (répresseur de *acrAB*)  
311 augmentent l'activité de la pompe et parallèlement, les mutations inactivant *marR* (répresseur  
312 de *marA*) permettent à MarA d'activer *acrAB*, *tolC* et un gène diminuant la traduction de  
313 *ompF*, aboutissant à une diminution de l'influx et une augmentation de l'efflux des  
314 fluoroquinolones (Toyotaka et al., 2013). Il est à noter que les niveaux de résistance les plus  
315 élevés sont observés chez les espèces les moins perméables aux antibiotiques, telles que *P.*  
316 *aeruginosa* (Ziha-Zarifi et al., 1999).

317 **3. Mécanismes génétiques de la résistance aux antibiotiques**

318 La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. Quelques exemples de la  
319 résistance naturelle peuvent être cités : la résistance aux glycopeptides chez les bactéries à  
320 Gram négatif est due à l'incapacité de ces grosses molécules à traverser la membrane externe.  
321 Les bactéries peuvent également acquérir la résistance via des mutations dans les gènes  
322 endogènes, l'acquisition de gènes de résistance exogènes ou des mutations dans les gènes  
323 acquis. À noter que les souches présentant des hauts niveaux de résistance comportent  
324 généralement de multiples mécanismes de résistance.

325 **3.1. Mutations**

326 **3.1.1. Au niveau de la cible**

327 Du fait de la forte spécificité de l'interaction d'un antibiotique avec sa cible, il est  
328 logique que des altérations de cette dernière au niveau des sites de liaison puissent diminuer  
329 l'affinité. La probabilité que ces cibles moléculaires soient modifiées avec une affinité  
330 diminuée pour l'antibiotique dépend de l'impacte de ces changements sur la fonction  
331 physiologique de la cible. En pratique, cet impact est relatif car de nombreuses modifications  
332 altérant l'affinité de la cible pour l'antibiotique ont été observées tandis que la plupart de ces  
333 cibles préservent une fonction physiologique suffisante pour permettre la survie de la cellule.  
334 Un bon exemple de cette résistance par mutation concerne la rifampicine. Malgré son activité  
335 bactéricide sur un très large spectre de bactéries, son utilisation est limitée par le risque  
336 d'émergence de mutants résistants. La résistance à la rifampicine est due à des mutations  
337 ponctuelles dans l'un des six domaines conservés du gène *rpoB* codant pour la sous-unité  $\beta$   
338 de l'ARN polymérase (Jin, 1988).

339 **3.1.2. Au niveau du gène de régulation**

340 Chez plusieurs souches d'*Enterobacteriaceae*, l'expression du gène *ampC* est inductible  
341 en réponse à une exposition aux  $\beta$ -lactamines. Cette inductibilité est dépendante de deux  
342 gènes régulateurs *ampR* et *ampD*. L'hyperproduction de *ampC* chez les souches  
343 naturellement productrices est liée principalement à des mutations au niveau du gène *ampD*  
344 (Jacoby, 2009).

345 **3.1.3. Au niveau des gènes de porines**

346 La membrane externe des bactéries à Gram négatif est une barrière lipidique perméable  
347 à quelques antibiotiques. Par conséquent, la plupart des molécules pénètrent dans l'espace  
348 périplasmique via des canaux ioniques appelés porines. La résistance de bas niveau chez  
349 plusieurs espèces bactériennes à Gram négatif a été attribuée à l'expression de porines dites  
350 « lentes ». En d'autres termes, le passage des molécules par ces porines a lieu beaucoup moins  
351 fréquemment. Les bactéries peuvent également subir des mutations qui réduisent la quantité  
352 de ces porines au niveau de leur membrane externe. Ces changements ne suffisent pas par  
353 eux-mêmes à conférer une résistance mais ils peuvent compléter la résistance due à  
354 d'autres mécanismes (Nikaido, 2003).

355 **3.2. Acquisition de gènes**

356 La dissémination des gènes de résistance nécessite leur présence sur des supports  
357 génétiques pouvant être transmis à la descendance (transfert vertical), et capables de diffuser  
358 d'une bactérie à une autre non reliées phylogénétiquement (transfert horizontal). Seul le  
359 chromosome et les plasmides sont capables de se répliquer et d'être transmis aux cellules  
360 filles. Ils sont porteurs de diverses structures génétiques mobiles (transposons, intégrons) qui  
361 véhiculent les gènes de résistance (Dutta et *al.*, 2002).

362 **3.2.1 .Plasmides**

363 Découverts dans les années 60, les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténares,  
364 habituellement circulaires et extrachromosomiques. Ils sont doués de réplication autonome et  
365 leur transmission est stable au cours des divisions cellulaires. Les plasmides ne sont pas  
366 indispensables à la bactérie hôte, conférant ainsi une grande souplesse génétique. Ils sont  
367 classés sur la base de groupes d'incompatibilité (groupe Inc). Deux plasmides sont dits  
368 incompatibles lorsque leur réplication est contrôlée par le même mécanisme de régulation, ils  
369 ne peuvent alors pas coexister dans la même bactérie de façon stable. Des gènes conférant des  
370 propriétés nouvelles aux bactéries peuvent être retrouvés sur les plasmides. Ainsi, les  
371 bactéries peuvent acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques, de virulence, ou  
372 métaboliques (Davison 1999).

373 Les plasmides jouent un rôle central dans la diffusion de gènes de résistance aux  
374 antibiotiques et ont permis le développement rapide de la multi-résistance aux antibiotiques.  
375 Pour la plupart des classes d'antibiotiques utilisés en clinique, la résistance est souvent  
376 plasmidique (Broderset *al.*, 2013). Les plasmides sont divisés en 3 groupes (Clewell 1993;  
377 Davison 1999). Les plasmides conjugatifs qui sont autotransférables par conjugaison et  
378 possèdent l'information génétique nécessaire à leur propre transfert d'une bactérie à une autre,  
379 les plasmides non conjugatifs mobilisables qui sont incapables d'être transférés à une autre  
380 bactérie par conjugaison, par contre ils peuvent l'être par mobilisation d'un second plasmide  
381 conjugatif présent dans la bactérie et enfin on retrouve les plasmides non conjugatifs et non  
382 mobilisables qui peuvent former un co-intégrat avec un plasmide conjugatif, permettant le  
383 transfert en bloc par conjugaison des deux plasmides (Clewell 1993; Davison 1999).



384 **3.2.2. Transposons**

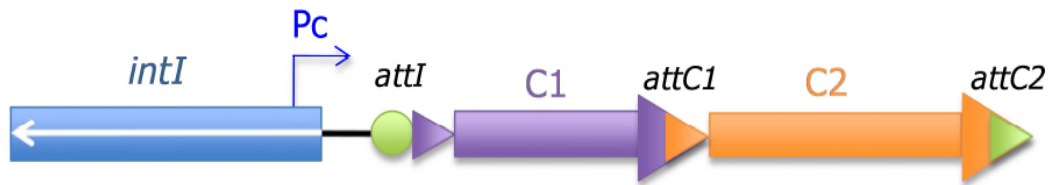
385 Les transposons sont des éléments génétiques mobiles qui assurent leur propre transfert  
386 d'un réplicon à un autre au sein d'une cellule ou entre cellules. Les caractéristiques de la  
387 plupart des transposons sont la présence de gènes codant des enzymes qui assurent  
388 l'événement de transposition (généralement une transposase ou transposase avec résolvasse) et  
389 des séquences terminales aux quelles se lie la transposase au cours de la transposition. Les  
390 transposons n'ont pas de gènes de réplication et doivent donc s'intégrer au sein de réplicons  
391 (plasmide ou chromosome) pour s'exprimer. Nous citons par exemple le transposon Tn 10 qui  
392 confère une résistance au tétracycline (Siguier et *al.*, 2006).

393 **3.2.3. Intégrons**

394 L'ampleur du développement de la résistance aux antibiotiques est aussi expliquée par  
395 la découverte d'un système génétique appelé « intégron ». Ces derniers sont des éléments  
396 d'ADN avec une structure spécifique composée de deux segments conservés flaquant une  
397 région centrale dans laquelle les gènes cassettes de la résistance aux antibiotiques sont insérés.  
398 Ces intégrons sont composés de 3 éléments clés : un gène *intI* qui code une intégrase IntI, un  
399 site spécifique de recombinaison *attI*, et un promoteur Pc (Boucher et *al.*, 2007) (Fig. 3)

400 Plusieurs gènes cassettes, disposés en tandem, peuvent se présenter et plus de 70  
401 cassettes différentes ont été identifiés. Les gènes cassettes associés peuvent conférer une  
402 résistance aux  $\beta$ -lactamines, aminosides, et au triméthoprime (McDermontt et *al.*, 2003 ; ploy  
403 et *al.*, 2005). Les intégrons présentent une situation particulièrement intéressante, car les  
404 déterminants de la résistance sont souvent sous le contrôle d'un seul promoteur. Par  
405 conséquent, ces déterminants sont exprimés en même temps et la pression sélective exercée  
406 par un agent antimicrobien va maintenir le phénotype de résistance (Skurnik, 2009).

407



408

409

**Figure 3 : Structure usuelle d'un intégron de classe 1**

410

**Légende :** Un intégron est composé d'une plateforme fonctionnelle avec 3 éléments clés : un

411

gène *intI* qui code une intégrase, un site spécifique de recombinaison *attI* et un promoteur Pc.

412

Une région dite variable, localisée en aval de la plateforme fonctionnelle, renferme un réseau

413

de cassettes. Pc: promoteur des cassettes ; C1, C2 : cassettes ; *attI*, *attC1*, *attC2* : sites

414

spécifiques de recombinaison ; *intI*: gène de l'intégrase.

415

### 3.3. Différents modes de transferts horizontaux

416

Chez les bactéries, la reproduction asexuée ne permet pas le brassage génétique

417

indispensable à l'évolution et à la survie d'une espèce. En effet, la reproduction sexuée

418

réalisée par les organismes supérieurs assure un brassage génétique leur permettant d'évoluer

419

et de pouvoir s'adapter indirectement à leur environnement. Cette lacune chez les bactéries

420

est cependant compensée par d'autres mécanismes qui leur permet de faire évoluer leur

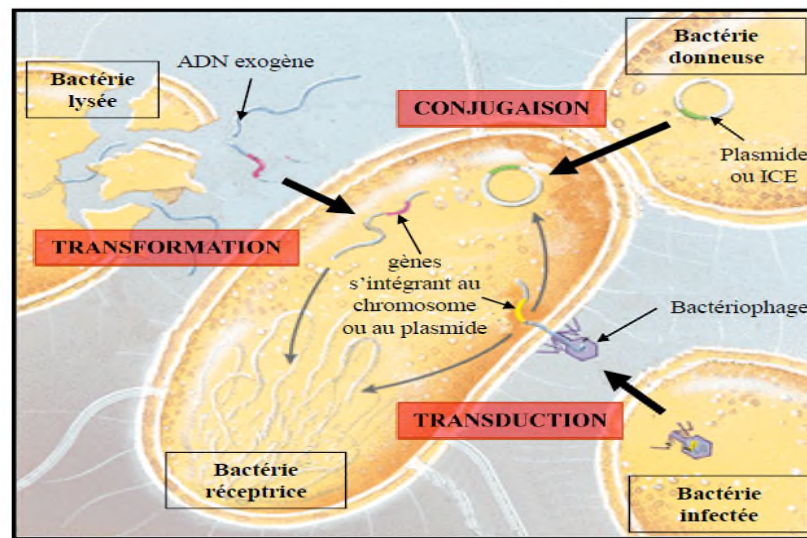
421

génome, notamment les trois mécanismes de transferts horizontaux de gènes que sont-la

422

transformation, la transduction et la conjugaison (Fig. 4) (Boto, 2010).

423



424

425 **Figure 4 : Différents modes de transfert horizontal d'ADN chez les bactéries (Davies &**  
 426 **Davies, 2010)**

427

428 La transformation bactérienne est le premier de ces trois mécanismes à avoir été mis en  
 429 évidence, elle consiste en l'acquisition d'un fragment d'ADN exogène par une cellule dite  
 430 compétente. Plusieurs genres bactériens sont naturellement compétents (*Bacillus*, *Neisseria*,  
 431 *Streptococcus*, etc.), cependant, pour de nombreuses bactéries, aucune transformation  
 432 naturelle n'a pu être mise en évidence (Thomas & Nielsen, 2005).

433 Le mécanisme de transduction, quant à lui, est dépendant de l'action d'un bactériophage  
 434 lors d'une infection, l'ADN de ces virus peut s'intégrer au chromosome bactérien lors de leur  
 435 cycle lysogénique. Au moment de l'excision du prophage, des imprécisions peuvent se  
 436 produire conduisant à l'excision simultanée d'un fragment d'ADN bactérien situé à proximité  
 437 du lieu d'intégration du bactériophage. Ce fragment d'ADN bactérien est alors encapsidé avec  
 438 le matériel génétique viral. Lors d'une nouvelle infection, le phage peut s'intégrer au  
 439 chromosome de la nouvelle cellule-hôte et laisser le fragment d'ADN d'origine bactérienne  
 440 sur le chromosome de la bactérie après s'être excisé de celui-ci. (Brigulla & Wackernagel,  
 441 2010).

442 Enfin, le dernier système de transfert horizontal connu est la conjugaison bactérienne.  
443 Ce mécanisme a été décrit pour la plupart des genres bactériens, et il semble être responsable  
444 de la majorité des transferts horizontaux. Contrairement aux autres modes de transfert  
445 horizontaux, la conjugaison bactérienne est un mécanisme particulièrement efficace puisque,  
446 théoriquement, une seule cellule donneuse est capable de convertir toute une population de  
447 cellules réceptrices en cellules donneuses (Frost & Koraimann, 2010). Autre différence avec  
448 la transduction et la transformation, l'ADN est préparé et organisé sous forme de complexe  
449 nucléoprotéique avant d'être transféré, et l'information portée par cet ADN confère la plupart  
450 du temps un avantage sélectif à la bactérie (virulence, résistance, etc.). De plus, ce transfert  
451 est initié uniquement lorsqu'un contact étroit est établi entre les deux cellules impliquées. La  
452 conjugaison peut donc être considérée comme un système spécialisé dans le transfert  
453 d'informations génétiques qui est probablement le principal mécanisme responsable de  
454 l'évolution et de l'adaptation des bactéries à leur environnement (Thomas & Nielsen, 2005,  
455 Brigulla & Wackernagel, 2010).

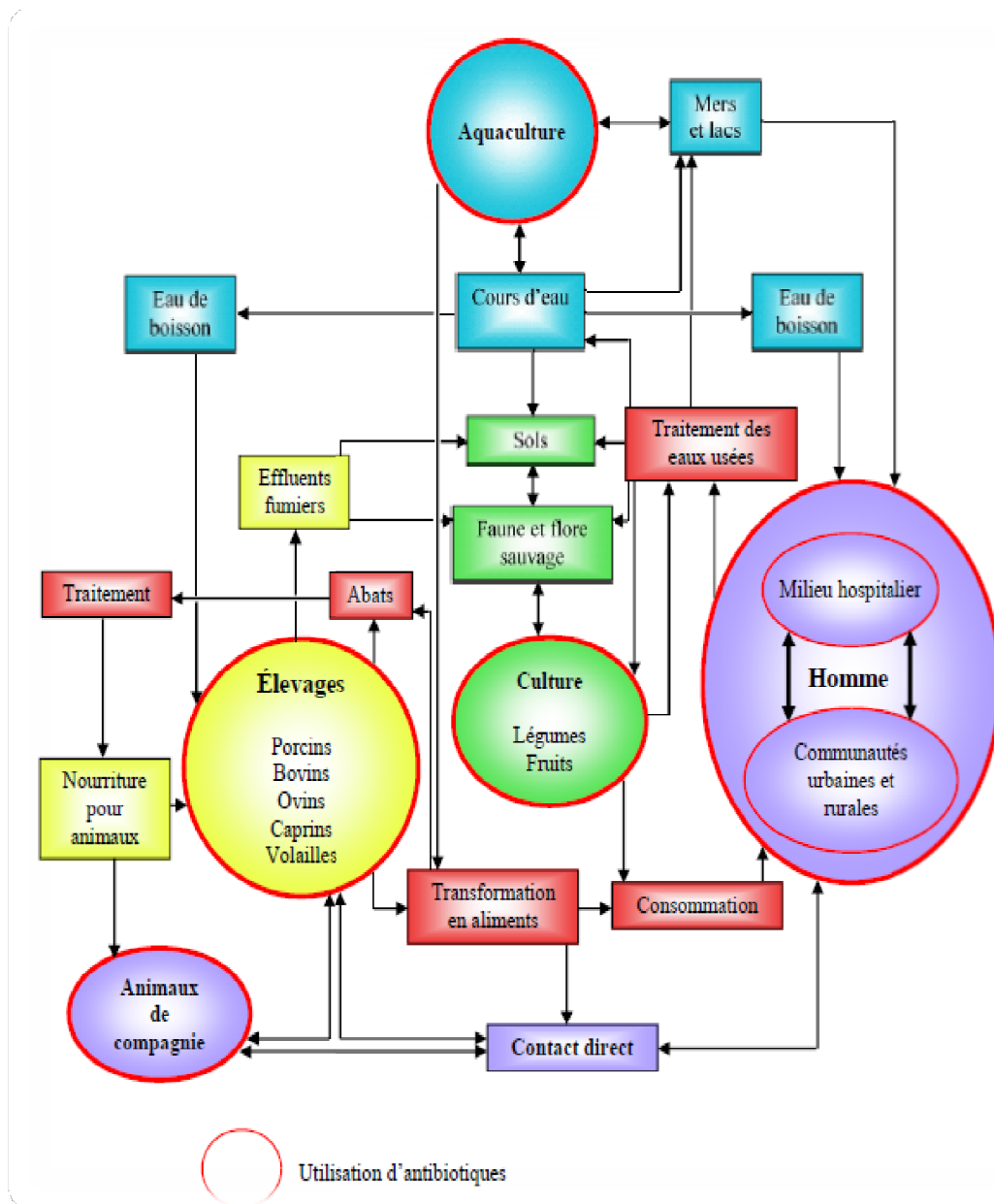
#### 456 **4. Facteurs favorisant l'émergence et la diffusion des gènes de résistance**

457 Les gènes de résistance aux antibiotiques se dissémineraient dans le monde  
458 principalement par deux voies : par diffusion clonale d'une bactérie résistante et par transferts  
459 horizontaux, puisque la plupart des gènes de résistance ont été identifiés sur des éléments  
460 génétiques mobiles. Toutefois, de nombreux facteurs dus à l'Homme ou à l'environnement,  
461 peuvent favoriser cette dissémination (Allen *et al.*, 2010). L'une des premières causes  
462 d'émergence de la résistance aux antibiotiques est due à l'excès d'utilisation de ces  
463 molécules. En effet, plus de la moitié des utilisations d'antibiotiques ne concerneraient pas la  
464 médecine humaine (Davies & Davies, 2010). Les mêmes familles d'antibiotiques, voir les  
465 mêmes molécules, sont utilisées aussi bien en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine.  
466 De plus, dans certains élevages, les animaux malades ne sont pas soignés spécifiquement, les  
467 antibiotiques sont ajoutés à la nourriture ou à l'eau qui sont consommés aussi bien par les  
468 animaux malades que par les animaux sains. Cette utilisation massive d'antibiotiques en  
469 prophylaxie associée à leur emploi comme facteurs de croissance ou en prophylaxie ont sans  
470 doute largement contribué à la sélection de bactéries résistantes qui peuvent alors se retrouver  
471 dans les produits consommés par l'Homme (Schwarz *et al.*, 2001). Il a été également rapporté  
472 que des souches d'*E. coli* productrices de BLSE isolées à partir d'animaux de compagnie  
473 représenteraient un danger considérable pour la santé publique en raison du potentiel de

474 transfert de cette résistance entre les animaux et les humains hébergeant dans les mêmes  
475 environnements domestiques (Rocha-Garcia, 2015).

476 De plus, la globalisation de l'économie entraîne également un flux de marchandises  
477 pouvant être un vecteur de dissémination de résistance ainsi des poulets importés du Brésil  
478 vers le Royaume-Uni se sont avérés être porteurs de souches d'*E. coli* véhiculant des BLSE  
479 de type CTX-M-2, type de  $\beta$ -lactamases qui était alors absent au Royaume-Uni (Warren *et al.*,  
480 2008). Ces exemples montrent bien la possibilité de dissémination des bactéries, et donc des  
481 gènes de résistance entre les continents. Ainsi que leur capacité à coloniser un nouveau  
482 milieu.

483 Les activités humaines ont également modifié la prévalence des gènes de résistance  
484 dans l'environnement. Les antibiotiques utilisés en médecine humaine ou en agriculture  
485 peuvent persister dans les sols et dans l'eau, et donc imposent une pression de sélection  
486 durable dans l'environnement (Figure 5) (Segura *et al.*, 2009; Davies & Davies, 2010). Des  
487 phénomènes naturels comme le vent pourraient alors disséminer les bactéries résistantes entre  
488 les continents (Kellogg & Griffin, 2006).



489  
490

Figure 5 : Dissémination plausible ou avérée des antibiotiques et de leurs résistances à

491

travers différents écosystèmes (Davies & Davies, 2010)

492

## Chapitre 2 : *E. coli* et $\beta$ -lactamines

### 493 1. Généralités

494 *Escherichia. coli*, un membre de la famille des *Enterobacteriaceae*, est le commensal le plus  
495 répandue habitant le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux à sang chaud, ainsi que  
496 l'un des agents pathogènes les plus importants. Comme un commensal, il vit en association  
497 mutuellement bénéfique avec les hôtes, et provoque rarement une maladie. Il est, cependant,  
498 également l'un des agents pathogènes humains et animaux les plus courants puisqu'il est  
499 responsable d'une large gamme de maladies intestinales et extra-intestinales, comme la diarrhée, les  
500 infections des voies urinaires, la septicémie et la méningite néonatale (Allocati et *al.*, 2013).

### 501 2. Résistance aux $\beta$ -lactamines

502 *E. coli* est naturellement sensible aux aminopénicillines, carboxypénicillines,  
503 uréidopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Cependant, elles  
504 produisent à très bas niveau une céphalosporinase chromosomique non inductible de type AmpC  
505 (groupe fonctionnel 1) sans conséquence clinique. La résistance acquise par production de  $\beta$ -  
506 lactamases est le mécanisme prépondérant. Cependant, la fréquence des autres mécanismes de  
507 résistance (impermeabilité et efflux) est souvent exprimée à bas niveau (Bonnet, 2004).Le tableau  
508 ci-dessous représente les phénotypes sauvages et acquis des souches d'*E. coli* aux  $\beta$ -lactamines.

509 **Tableau II** : Phénotypes de résistances aux  $\beta$  lactamines

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

	Phénotypes					
	Sauvage	P <sub>ase</sub> *	TRI <sup>(a)</sup>	C <sub>ase</sub> bas niveau	C <sub>ase</sub> haut niveau	Spectre étendu
Amoxicilline	S	R	R	R	R	R
Amoxicilline + acide clavulanique	S	S/IR	R	R	R	IR
Ticarcilline	S	R	R	S	R	R
Ticarcilline + acide clavulanique	S	S/IR	R	S	R	IR
Pipéracilline	S	R	I	S	IR*	R
Pipéracilline + Tazobactam	S	S/IR*	IR*	S	S/IR*	I
Méïcillinam	S	R	I ?	S	S	R
Céfaloïtine	S	IR*	S(I)	R	R	R
Céfamandole	S	S/IR*	S	S/	R	R
Cefuroxime	S	S/IR*	S	S	R	R
Céfoxitine	S	S	S	S/I*	R	S
Céfixime	S	S/IR*	S	IR*	R	R
Céfotaxime	S	S	S	S	IR*	IR
Ceftriaxone	S	S	S	S	IR*	IR
Ceftazidime	S	S	S	S	IR*	IR
Moxalactam	S	S	S	S	IR*	S
Aztréonam	S	S	S	S	IR*	IR
Cefpirome	S	S	S	S	S	I
Céfépime	S	S	S	S	S	I
Imipénème	S	S	S	S	S	S

522 **2.1. Pénicillinase acquise ou « Pénicillinase de haut niveau »**

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

Le phénotype « pénicillinase de haut niveau » est d'expression variable selon la nature du promoteur du gène de structure et du nombre de copies du gène. Le phénotype de résistance se présente donc sous différentes formes qui évoluent entre deux extrêmes :

- Une activité pénicillinase faible responsable d'une résistance limitée aux aminopénicillines. la sensibilité aux uréidopénicillines et C1G apparait peu ou pas affectée
- Une activité pénicillinase haut niveau responsable d'une résistance aux aminopénicillines, à leur association aux inhibiteurs, aux carboxypénicillines, aux uréidopénicillines et aux C1G. Une diminution de la sensibilité est communément observée pour les associations ticarcilline-clavulanate et pipéracilline-tazobactam. La résistance peut s'étendre aux C2G



534 Les  $\beta$ -lactamases impliquées sont les pénicillinases plasmidiques de classe A à large  
535 spectre (groupe fonctionnel 2b) : TEM-1 en premier lieu et plus rarement TEM-2 et SHV-  
536 1(Chanal *et al.*, 2000).

## 537 **2.2. Pénicillinases résistantes aux inhibiteurs**

538 Le phénotype « pénicillinase résistante aux inhibiteurs » a été initialement décrit chez *E.*  
539 *coli* en 1991. Les enzymes en cause sont le plus souvent (environ 90% des cas) des TRI (TEM  
540 Résistantes aux inhibiteurs du groupe fonctionnel 2br). Les enzymes de type TRI  
541 comprennent un groupe de variantes de TEM-1 et TEM-2 qui possèdent une affinité diminuée  
542 aux amino-, carboxy-, et ureidopénicillines et ne sont pas inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -  
543 lactamases de classe A. Les souches productrices de TRI sont sensibles aux céphalosporines,  
544 céphamycines, carbapénèmes, et dans la majorité des cas, à la pipéracilline-tazobactam. Elles  
545 sont généralement résistantes à l'association ampicilline-sulbactam et intermédiaires ou  
546 résistantes à la combinaison amoxicilline-clavulanate (Martín *et al.*, 2010).

## 547 **2.3. $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE)**

548 Les BLSE ont été décrites pour la première fois chez *Klebsiella ozaniae* en 1983 en  
549 Allemagne, puis en 1984 chez *pneumoniae* et *E. coli* en France et en Tunisie. Ce sont des  $\beta$ -  
550 lactamases capables de conférer une résistance aux pénicillines, céphalosporines de première,  
551 deuxième, troisième génération, aztréonam et voir les céphalosporines de quatrième  
552 génération. En revanche, elles ne confèrent pas de résistance aux céphamycines et aux  
553 carbapénèmes. Elles sont inhibées par les inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases comme l'acide  
554 clavulanique (Paterson et Bonomo, 2005). Les BLSE sont des  $\beta$ -lactamases qui appartiennent  
555 en majorité à la classe A d'Ambler et 2be de Bush et Jacoby. Plusieurs  $\beta$ -lactamases de type  
556 OXA (2de) sont également considérées comme des BLSE à cause de l'extension de leur  
557 spectre d'hydrolyse vers les céphalosporines à spectre étendu malgré qu'elles sont mal  
558 inhibées par le clavulanate (Vodovar *et al.*, 2012).

559 La répartition de ces enzymes est aujourd'hui mondiale. Elles sont, en général, portées  
560 par des plasmides et des transposons. L'augmentation de la fréquence relative des  
561 entérobactéries productrices de BLSE a été observée aussi bien dans le milieu hospitalier  
562 qu'en milieu communautaire (Paterson et Bonomo, 2005).

563 La plupart des BLSE sont plus sensibles aux inhibiteurs que les pénicillinases à large  
564 spectre TEM-1 et SHV-1. Cependant quelques BLSE de type CMT (Complexe Mutant  
565 TEM), présentent cependant une sensibilité diminuée aux inhibiteurs. Plusieurs types de CMT  
566 ont été mis en évidence surtout chez *E. coli*: TEM-50, TEM-68, TEM-89, TEM-121, TEM-109,  
567 TEM-125, TEM-151, TEM-152, et TEM-158 (Robin et al., 2011). L'efficacité des associations  
568 pénicillines- $\beta$ -lactamines inhibitrice n'est donc pas constante, car dépendante du type  
569 enzymatique et de son niveau de production. Cependant, la sensibilité aux inhibiteurs reste  
570 généralement suffisante pour être à la base de la détection de ce phénotype qui repose sur la  
571 mise en évidence d'une image de synergie entre les inhibiteurs et les C3G et/ou les C4G et/ou  
572 l'aztréonam (Naas et al., 2008).

573 Les carbapénèmes et les céphamycines ne sont généralement pas hydrolysés par les  
574 BLSE. Toutefois, une diminution de la sensibilité à ces molécules a récemment pu être  
575 observée notamment chez *E. coli* et *K. pneumoniae*. Ces souches peuvent associer la  
576 production d'une BLSE à une résistance par imperméabilité ou, plus rarement produire des  
577 enzymes possédant une faible activité carbapénémase et dérivées par mutations ponctuelles  
578 des BLSE de type GES.

579 Les BLSE de type GES sont de plus en plus rapportées chez les bacilles à Gram négatif,  
580 notamment *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. GES-1 a été initialement décrite chez  
581 une souche de *K. pneumoniae* isolée en 1998 en France puis en Argentine, au Brésil, au  
582 Portugal et aux Pays-Bas. A ce jour, 26 variantes de l'enzyme GES (GES-1 à GES-26) ont été  
583 décrites (<http://www.lahey.org/Studies/other.asp>). A noter que, contrairement à la plupart  
584 des BLSE, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et surtout GES-2 hydrolyse les carbapénèmes  
585 en étant moins sensible aux inhibiteurs. Par une unique mutation (N170S), GES-2 est le  
586 premier exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes,  
587 depuis plusieurs autres dérivés ont été décrits (Naas et al., 2008).

588 Durant les années 90, les BLSE dérivait essentiellement par mutations ponctuelles des  
589 pénicillinases TEM-1, TEM-2 et SHV-1 (Bradford 2001). La nature des mutations détermine  
590 le spectre de substrat de l'enzyme. Il permet de les classer schématiquement en deux grands  
591 groupes : les ceftazidimases qui confèrent un plus haut niveau de résistance à la ceftazidime  
592 qu'au cefotaxime (ex : TEM-5, TEM-24, SHV-4, SHV-5) et les céfotaximases qui confèrent  
593 un niveau de résistance équivalent à ces deux molécules (TEM-3, SHV-2). Ces enzymes sont  
594 généralement codées par des plasmides qui facilitent leur dissémination (Naas et al., 2008).

595           Cependant depuis les années 2000, de nouvelles BLSE non dérivées des pénicillinases  
596 TEM et SHV ont émergé : des céfotaximases de type CTX-M et des ceftazidimases de type  
597 PER, BES, GES (ou IBC) et VEB, pour ne citer que les plus fréquentes (Bradford 2001).  
598 L'épidémiologie des BLSE a été bouleversée par l'emergence des CTX-M chez toutes les  
599 entérobactéries y compris *Salmonella spp*, *Sheigella spp*, mais surtout *E.coli*. Ces souches ont  
600 une prévalence croissante et sont souvent impliquées dans des infections communautaires.  
601 Ainsi, les CTX-M sont devenues en quelques années les BLSE les plus fréquentes dans le  
602 monde entier (Bonnet 2004).

#### 603 **II.4. Céphalosporinases de haut niveau**

604           Le phénotype « céphalosporinase de haut niveau » correspond à une résistance plus ou  
605 moins marquée aux pénicillines, aux C1G, aux C2G, aux céphamycines, à l'aztreonam et à au  
606 moins à une C3G. Le test de synergie est négatif entre les C3G, les C4G ou l'aztréonam et les  
607  $\beta$ -lactamines inhibitrices. La sensibilité aux C3G peut être totalement ou partiellement  
608 restaurée en présence de cloxacilline (100mg /L) (Nelson et Elisha , 1999 ).

609           L'expression du gène *ampC* chez *E. coli* est constitutivement faible, non inductible, et  
610 contrôlée par un mécanisme utilisant un atténuateur. La non inductibilité du gène *ampC* chez  
611 *E. coli* est due à l'absence du gène *ampR*. La résistance impliquant les gènes de régulation de  
612 l'expression de la  $\beta$ -lactamase (AmpC) incluant des mutations dans le promoteur, des  
613 mutations dans l'atténuateur, l'acquisition de nouveaux promoteurs et l'amplification génique  
614 (Nelson et Elisha , 1999 ).

615           Des gènes *ampC* plasmidiques ont été rapportés depuis 1989. Ils sont regroupés en  
616 plusieurs familles incluant CMY-1 et -2, FOX, ACC, LAT, MIR, ACT, DHA, et MOX.  
617 Certains de ces gènes ont comme progeniteurs des AmpC chromosomiques : CMY  
618 (*Aeromonas hydrophila* et *Citrobacter freundii*), FOX (*Aeromonas caviae*), ACC (*H. alvei*),  
619 LAT (*C. freundii*), MIR (*Enterobacter cloacae*), ACT (*Enterobacter asburiae*), MOX  
620 (*Aeromonas hydrophila*) et DHA (*M. morgani*). Les gènes codant pour ACT-1, DHA-1,  
621 DHA-2, et CMY-13 sont inductibles du fait de la présence du gène *ampR* (Jacoby, 2009).

622           Les plasmides véhiculant les gènes *ampC* portent souvent de multiples autres  
623 déterminants de résistance aux aminosides, chloramphénicol, quinolones, sulfonamide,  
624 tétracycline, et triméthoprime, ainsi que les bêta-lactamases de type TEM-1, PSE-1, CTX-M,  
625 SHV et VIM-1. Les gènes *ampC* sont souvent portés par des intégrons, cependant ils ne sont  
626 pas incorporés en tant que gène cassette (Jacoby, 2009).

## 627 2.5. Les carbapénèmases

628 Durant la dernière décennie, l'émergence de souches productrices de carbapénèmases  
 629 chez les *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp., et *Acinetobacter baumannii* a été très  
 630 importante. Une variété de carbapénèmases ont été rapportées incluant les bêta-lactamases de  
 631 classe A d'Ambler comme KPC (majoritairement identifiées chez les *Enterobacteriaceae* et  
 632 *Pseudomonas aeruginosa*) et GES (majoritairement chez *A. baumannii*), les métallo- $\beta$ -  
 633 lactamases de classe B comme VIM-, IMP-, GIM-, et NDM-types et les carbapénèmases de  
 634 classe D comme OXA-48-type chez les *Enterobacteriaceae* et OXA-23, OXA-24/-40, OXA-  
 635 58, et OXA-143-types chez *Acinetobacter baumannii* (Dortel et al., 2014).

636 Les options thérapeutiques pour le traitement des infections dues aux souches  
 637 productrices de carbapénèmases sont limitées à quelques antibiotiques comme la colistine,  
 638 tigécycline, et fosfomycine et sont ainsi très difficiles à éradiquer (Dortel et al., 2014).

### 639 2.5.1. Carbapénèmases de Classe A

640 Cette classe regroupe les membres SME, IMI, NMC, GES et les KPC. Les  
 641 carbapénèmases de classe A de type KPC et GES (groupe fonctionnel 2f) sont plus  
 642 inquiétantes car elles sont codées par des plasmides qui ont permis leur diffusion chez de  
 643 nombreuses espèces (Bonnet 2004).

644 Les enzymes KPC peuvent conférer une résistance à l'ensemble des  $\beta$ -lactamines, y  
 645 compris les céphamycines, les C3G, les C4G, aztreonam et les carbapénèmes. Parmi les  
 646 céphalosporines de troisième génération, le cefotaxime est la molécule la plus hydrolysée, et  
 647 parmi les carbapénèmes, KPC possède l'affinité la plus élevée pour le méropénème. L'acide  
 648 clavulanique et le tazobactam inhibent tous deux faiblement l'activité de KPC, le second étant  
 649 le plus efficace (Chanal, 2000).

### 650 2.5.2. Carbapénèmases de Classe B

651 Cette classe renferme 6 familles majeures de M $\beta$ L acquises de type VIM, IMP, SPM,  
 652 GIM, SIM et NDM. Ces enzymes hydrolysent très fortement toutes les  $\beta$ -lactamines à  
 653 l'exception de l'aztréonam. Leur activité *in vitro* n'est pas affectée par les inhibiteurs  
 654 classiques de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique et tazobactam) mais sont inhibées par l'EDTA  
 655 (Pitout et al., 2012). En 2009, l'enzyme M $\beta$ L de type NDM a été isolée pour la première fois  
 656 chez un patient suédois de retour de l'Inde, qui a été infecté par une souche *Klebsiella*  
 657 *pneumoniae*. L'émergence récente de la carbapénèmase, nommée, New Delhi métallo- $\beta$ -  
 658 lactamase (NDM-1), constitue une menace sérieuse pour la thérapie anti-infectieuse. Cette

659 enzyme hydrolyse toutes les  $\beta$ -lactamines (excepté l'aztréonam), y compris les carbapénèmes.  
660 Bien que la majorité des souches productrices de NDM identifiées appartiennent à la famille  
661 des *Enterobacteriaceae*, cette carbapénémase a été rapportée chez *Acinetobacter* spp et  
662 rarement chez *P. aeruginosa*. Le continent indien, les régions des Balkans et le moyen orient  
663 sont considérés comme le réservoir essentiel des souches productrices de NDM (Dortel et al.,  
664 2014). NDM-1 à été rapportée pour la première fois en Algérie uniquement chez des souches  
665 d'*Acinetobacter baumannii* (Boulangier et al., 2012).

### 666 2.5.3. Carbapénèmases de Classe D

667 La carbapénémase de classe D, OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae*  
668 hydrolyse fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3<sup>ème</sup>  
669 génération. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique (Le Turnier 2009). OXA-48  
670 est souvent associée à d'autres  $\beta$ -lactamases, en particulier des BLSE, ce qui contribue à la  
671 multirésistance des souches. En l'absence d'autres bêta-lactamases, les souches qui ne  
672 produisent qu'OXA-48 peuvent ne présenter qu'une légère diminution de la sensibilité aux  
673 carbapénèmes (Livermore et al., 2002). Le réservoir naturel de ce gène OXA-48 a été  
674 identifié ; il s'agit de *Shewanella* sp, ce qui suggère le transfert de ce gène de résistance en  
675 milieu aqueux (Mendonca et al., 2008). Depuis la première identification des OXA-48,  
676 différentes variantes ont été rapportées. Les enzymes telles que OXA-48, OXA-162, OXA-  
677 181, OXA-204, OXA-232, OXA-244 et OXA-245 confèrent un profil de résistance très  
678 similaire (Oteo et al., 2013; Nordmann et Poirel, 2014 ). Tandis que, OXA-163 (substitution  
679 d'un seul acide aminé et délétion de quatre acides aminés en comparaison à OXA-48)  
680 hydrolyse les céphalosporines à large spectre et n'hydrolyse que faiblement les carbapénèmes  
681 (Poirel et al., 2011).

682 La diffusion initiale du gène *bla*<sub>OXA-48</sub> est due à son environnement génétique. En effet,  
683 ce gène plasmidique a la particularité d'être associé à la séquence d'insertion IS1999 qui lui  
684 assure la mobilité et l'expression (Carrère et al., 2010). Ce type de support génétique diffère de  
685 la plupart des gènes codant les  $\beta$ -lactamases de classe D qui sont souvent identifiés comme  
686 étant sous forme de cassettes de gènes localisées sur des intégrons de classe 1 (Walther-  
687 Rasmussen et Høiby, 2006).

## **1. Souches bactériennes**

### **1.1. Prélèvements**

Au cours de notre étude (janvier à mars 2015), des prélèvements fécaux par écouvillonnage rectal ont été obtenus à partir d'animaux de compagnie admis au niveau du cabinet vétérinaire du Dr. HASSISSENE et chez des propriétaires privés (Deux écouvillons par animal). Les échantillons ont été acheminés au laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Béjaia pour être analysés dans un délai n'excédant pas 4 heures. Les critères d'inclusion n'incluaient aucune limitation en termes d'état de santé, de race, d'âge, de poids ou de sexe.

### **1.2. Isolement**

L'écouvillon rectal est utilisé pour faire un enrichissement sur bouillon nutritif contenant respectivement soit un ½ disque d'ertapénème (0,5mg/ml) et 1µg/ml de céftazidime. Après incubation à 37°C/24h, on ensemence avec 200 µl de culture deux géloses Mac-Conkey additionnée de céftazidime et d'imipénème avec une concentration finale de 1 µg/ml et 0.5 µg/ml respectivement et on incube à 37°C/24h. Après incubation, 2 à 3 colonies ont été réisolées sur gélose Mac Conkey sans antibiotiques.

### **1.3. Identification**

Les souches d'*E. coli* ont été identifiées par l'utilisation de galeries API20E (Bio-Mérieux, France), et confirmée par spectroscopie de masse MALDI-TOF (L'identification est réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie du CHU de Reims, France)

## **2. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques**

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH) selon les recommandations du Comité Européen de l'Antibiogramme EUCAST ([www.eucast.org](http://www.eucast.org)). Des boîtes de gélose Mueller Hinton (Liofilchem, Italie) ont été ensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne de 10<sup>8</sup> bactéries/ml diluée au 1/10<sup>ème</sup>. Après dépôt des disques d'antibiotiques (OXOID, Angleterre), on incube à 37°C pendant 18 à 24h. Les diamètres d'inhibition ont été interprétés en accord avec les recommandations de l'EUCAST, excepté pour la tétracycline ou nous avons utilisé les recommandations du CA-SFM, 2013.

**Tableau N° III : Antibiotiques testés**

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µg)	Famille ou Classe	Diamètres critiques	
				S	R
Céfoxitine	FOX	30	Céphamycines	≥19	<19
Ceftazidime	CAZ	30	C3G	≥22	<19
Céfotaxime	CTX	30	C3G	≥20	<17
Céfépime	FEP	30	C4G	≥24	<21
Imipénème	IMP	10	Carbapénèmes	≥22	<16
Ertapénème	ERT	10	Carbapénèmes	≥25	<22
Ticarcilline	TIC	75	Carboxypénicillines	≥23	<23
Pipéracilline-tazobactam	TZP	30+6	Urédopénicillines	≥20	<17
Amoxicilline-clavulanate	AMC	20+10	Aminopénicillines	≥16	<16
Aztréonam	ATM	30	Monobactames	≥24	<21
Acide nalidixique	AN	30	Quinolones	≥19	<14
Ciprofloxacine	CIP	5	Fluoroquinolones	≥22	<19
Amikacine	AK	30	Aminoglycosides	≥18	<15
Gentamicine	GN	15	Aminoglycosides	≥17	<14
Tobramycine	TOB	10	Aminoglycosides	≥17	<14
Tétracycline	TE	30	Tétracyclines	≥19	<17
Co-trimoxazole	SXT	25	Sulfamides	≥16	<13
Doripéném*	DOR	10	Carbapénèmes	≥24	<21
Temocilline*	TEM	10	Aminopénicillines	≥20	<20
Méropinème*	MEM	10	Carbapénèmes	≥22	<16
Colistine*	CST	50	Polymyxines	≥15	<15
Tigécyclines*	TGC		Tétracyclines	≥18	<15

\*Antibiotiques testés uniquement pour les souches résistantes aux carbapénémases

### **3. Détermination des phénotypes de résistance**

#### **3.1. Recherche de la production d'une $\beta$ -lactamase à Spectre Etendu**

La présence d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu a été détectée par le test de synergie (DD-test) qui consiste à déposer des disques de céftazidime (CAZ, 30 $\mu$ g), céfotaxime (CTX, 30  $\mu$ g), aztréonam (ATM, 30 $\mu$ g) et céfépime (FEP, 30 $\mu$ g) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline/acide clavulanique (AMC, 20/10  $\mu$ g) sur une gélose de Mueller Hinton. L'apparition d'une image de synergie entre le disque d'augmentin et les disques de céftazidime, céfotaxime, aztréonam et céfépime indique la production d'une BLSE (Jarlier et *al.*, 1988).

#### **3.2. Recherche de la production d'une céphalosporinase**

Chez les souches naturellement productrices de céphalosporinases, la présence d'une BLSE peut être masquée du fait de l'induction de cette céphalosporinase par le clavulanate. Dans ce cas, la sensibilité de la souche est déterminée simultanément sur gélose Mueller Hinton et Mueller Hinton additionnée de cloxacilline à une concentration finale de 250  $\mu$ g/ml (la cloxacilline est un inhibiteur des céphalosporinases). La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la production d'une céphalosporinase (diamètres > 6mm) associée ou non à une BLSE (Giraud-Morin et Fosse, 2008).

#### **3.3. Recherche de la production d'une carbapénémase**

##### **3.3.1. Test de Hodge**

Un disque d'imipénème (IMP, 10  $\mu$ g) est appliqué au centre d'une gélose de Mueller Hinton préalablement ensemencée avec une souche de référence d'*Escherichia coli* ATCC 25922. Ensuite les souches à tester sont ensemencées sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte en présence d'un témoin positif qui est *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 et d'un autre négatif qui correspond à la souche *K. pneumoniae* ATCC 8291T. Après 24h d'incubation à 37°C, la production d'une carbapénémase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee et *al.*, 2001).

##### **3.3.2. Carba NP test modifié**

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



**Réactifs**

- Imipénème (Poudre pour solution injectable IV).
- Tampon de lyse: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide (CTAB) (Sigma-Aldrich).
- Solution de Rouge de Phénol 0.5% (V/V) .
- Solution ZnSO<sub>4</sub>, 7 H<sub>2</sub>O 10 mM.
- Souches de contrôle négatif et de contrôle positif (*K. pneumoniae* ATCC 8291T / *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 )

**Protocole**

Préparation de la solution A (solution contenant l'indicateur de pH):

- 1- On prépare une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% (poids/volume).
- 2- On incorpore 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- 3- On additionne 180µl d'une solution de ZnSO<sub>4</sub>, 10mM afin d'obtenir une concentration finale de ZnSO<sub>4</sub> à 0.1mM.
- 4- On ajuste le pH à 7.5 avec une solution de NaOH (1N).

Pour détecter la production d'une carbapénémase, on procède comme suit :

- 1- On place 200µl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %) dans un tube Eppendorf.
- 2- On suspend une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse et on vortexe 1 à 2 min.
- 3- On répartit 100 µl de la suspension bactérienne dans 2 tubes Eppendorf "A" et "B".
- 4- On ajoute 100µl de la solution A dans le tube "A" et 100µl de la Solution A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B".
- 5- On vortexer puis incuber à 37°C pendant un maximum de 2h.

La lecture visuelle de la couleur est réalisée dans chaque tube Eppendorf et l'interprétation des résultats est effectuée selon le tableau ci-dessous.

**Tableau N° IV : Interprétation des résultats du Carba NP test modifié**

<b>Tubes A</b>	<b>Tubes B</b>	<b>Interprétation</b>
Rouge	Rouge	Pas de production de carbapénémase
Rouge	Orange/Jaune	Production de carbapénémase
Jaune	Jaune	Non interprétable

### **3.3.3. Recherche de la production de métallo- $\beta$ -lactamases (M $\beta$ L)**

#### **➤ Méthode des disques combinés**

Deux disques d'imipénème (IMP, 10 $\mu$ g) sont déposés séparément sur la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec la souche à tester. Un volume de 5 $\mu$ l d'une solution d'EDTA (0.5 M, pH 8) est ajouté à l'un des disques. Après 18h d'incubation à 37°C, les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP-EDTA est supérieur à celui obtenu avec le disque d'IMP seul, d'au moins 6 mm, sont considérées comme souches productrices de M $\beta$ L (Yong et *al.*, 2002).

#### **➤ Recherche de synergie par le DD-test**

Un DD-test est réalisé avec un disque d'imipénème (IMP, 10 $\mu$ g) déposé à 15 mm d'un disque vierge imbibé de 10  $\mu$ L de solution d'EDTA à 0,5M. La présence d'une M $\beta$ L est détectée par visualisation d'une image de synergie entre le disque d'IMP et celui d'EDTA (Jeong et *al.*, 2006).

## **4. Transfert par conjugaison**

Le transfert par conjugaison est réalisé pour toutes les souches d'*E. coli* obtenues en utilisant la souche *E. coli* J53 résistante à l'azide de sodium comme souche réceptrice.

- On cultive les souches donatrices et la souche réceptrice dans 10 ml de bouillon Luria (LB). On incube une nuit à 37°C.
- On prélève 200  $\mu$ l de la souche réceptrice et donatrice et réensemence dans 10 ml de bouillon Luria. On incube sans agitation pendant 4h à 37°C.
- Dans un récipient, on mélange 500  $\mu$ l de culture de la souche donatrice avec 2ml de culture de la souche réceptrice (rapport 1/4) et 1 ml de bouillon Luria neuf, puis on incube le mélange à 37°C pour 3h sans agitation.
- Après incubation, on effectue une dilution décimale  $10^{-1}$  et  $10^{-2}$  pour le mélange obtenue puis on ensemence 200  $\mu$ l de ce dernier sur la surface de la gélose de sélection. On incube les boîtes de sélection à 37°C pendant 18h.
- Le milieu de sélection des transconjugants est constitué de la gélose Luria contenant un antibiotique qui est soit la céftazidime (concentration finale de 4  $\mu$ g/ml) ou l'imipénème (concentration finale de 0.5  $\mu$ g/ml) qui correspond au caractère suspecté plasmidique de la souche donatrice et l'azide de sodium (concentration finale de 200  $\mu$ g/ml) qui est un caractère chromosomique de la souche réceptrice.

- On repique 3 colonies de transconjugants sur des géloses de sélection à partir des boîtes positives. Après incubation à 37°C pendant 18h, on effectue pour chaque clone un antibiogramme sur gélose Mueller Hinton et un DD-test

## **5. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices en milieu solide**

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) est effectuée pour toutes les souches d'*E. coli* ainsi que pour les transconjugants obtenus selon la méthode de dilutions en gélose Mueller Hinton (EUCAST/ESCMID, 2000).

Nous avons utilisé une solution stock de 1024 mg/l préparée à partir de poudre d'antibiotiques (céftazidime et céfotaxime) pour solutions injectables. A partir de la solution stock, des dilutions (à raison de deux) ont été préparées en suivant les étapes décrites dans le tableau ci-dessous :

**Tableau N°V** : Préparation de la gamme d'antibiotiques

<b>Solution initiale (mg/L)</b>	<b>Volume de solution d'ATB (ml)</b>	<b>Volume de diluant (ml)</b>	<b>Volume total (ml)</b>	<b>Concentration</b>	
				<b>Obtenue (mg/L)</b>	<b>Finale (mg/L) Dans le milieu</b>
<b>10240</b>	4	4	8	5120	256
<b>10240</b>	2	6	8	2560	128
<b>2560</b>	4	4	8	1280	64
<b>2560</b>	2	6	8	640	32
<b>2560</b>	1	7	8	320	16
<b>320</b>	4	4	8	160	8
<b>320</b>	2	6	8	80	4
<b>320</b>	1	7	8	40	2
<b>40</b>	4	4	8	20	1

Dans une boîte de Pétri, on répartit 1 ml de chaque dilution auquel on ajoute 19 ml de la gélose Mueller Hinton en surfusion et les boîtes sont ensuite séchées. A l'aide d'une micropipette, 10 µl de l'inoculum ( $10^6$  UFC) sont ensemencés en spot (inoculum final déposé de  $10^4$  UFC/ml). Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, les boîtes sont examinées. La CMI est définie comme étant la plus faible concentration en antibiotique inhibant toute croissance visible à l'œil nu (EUCAST/ESCMID, 2000).

## **6. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices par E-test**

La détermination des concentrations minimales inhibitrices de 8 antibiotiques (imipénème, ertapénème, doripénème, méropénème, aztréonam, ceftazidime, céfotaxime et pipéracilline-tazobactam) pour les souches productrices de carbapénèmases est réalisée en utilisant des bandelettes E-test. Après ensemencement par écouvillonnage d'une suspension bactérienne ( $10^7$  bactéries/ml) sur gélose Mueller Hinton, des bandelettes E-test sont déposées délicatement et les boîtes sont incubées pendant 18 à 24h à 37°C.

L'interprétation en Sensible (S) Intermédiaire (I) ou Résistant (R) est effectuée selon les critères définis par l'EUCAST.

## **7. Caractérisation moléculaire des gènes carbapénèmases**

Cette partie a été réalisée au niveau du laboratoire de bactériologie du CHU de Reims (France). La détection des gènes codant pour les carbapénèmases a été faite par une PCR multiplexe. Les gènes *bla<sub>KPC</sub>*, *bla<sub>VIM</sub>*, *bla<sub>IMP</sub>*, *bla<sub>NDM-1</sub>*, *bla<sub>OXA-23-like</sub>*, *bla<sub>OXA-24-like</sub>*, *bla<sub>OXA-58-like</sub>* et *bla<sub>OXA-48-like</sub>* ont été recherchés en utilisant des amorces spécifiques (tableau VI).

Les réactions de PCR ont été effectuées dans un thermocycleur (GeneAmp® PCR system 9700 (AppliedBiosystems) dans un volume réactionnel de 50µl contenant 5µl d'ADN ; 0,25 mM de chaque amorce; 0,25 mM de déoxynucléosides triphosphates; 2,5 U de *Taq* DNA polymérase; 0,25 mM de MgCl<sub>2</sub> et 5 µl de tampon PCR 10 X. Le programme d'amplification est donné dans le tableau VII.

Tableau N° VI : Liste des amorces utilisées

Gènes	Nom	Séquence (5'-----3')
<i>blaIMP- group</i>	IMP-F	GGYGTTTATGTTTCATAC(A/T)TCGTT
	IMP-R	GAGAATTAAGCCACTCTATTCC
<i>blaNDM-group</i>	NDM-F	GATTGCGACTTATGCCAATGCGT
	NDM-R	GATCCCAACGGTGATATTGTCAC
<i>blaKPC-group</i>	KPC-F	GTCACCCATCTCGGAAAAATATCTG
	KPC-R	CGGCGTTATCACTGTATTGCACG
<i>blaOXA-58group</i>	OXA-58-F	AATTGGCACGTCGTATTGGTCCA
	OXA-58-R	TGCCCTTGGGCTAAATCATAAC
<i>blaOXA-48group</i>	OXA-48-F	ATGCGTGTRTTAGCCTTATCGGCT
	OXA-48-R	AGGT(A/C)GATGCGGGTAAAAATGCTTG
<i>blaOXA-23group</i>	OXA-23-F	ATGTTGAATGCCCTGATCGGATTG
	OXA-23-R	TAGACTGGGACTGCAGAAAGCTT
<i>blaOXA-24group</i>	OXA-24-F	TGATGAAGCTCAAACACAGGGTG
	OXA-24-R	AGCATCTTAAATGTTGATGCAGGGA
<i>blaVIM group</i>	VIM-F	CTCGCGGAGATTGA(A/G)AAGCAAATTG
	VIM-R	GAATGCGCAGCACC(A/G)GGATAGA

L

Tableau VII : Conditions de la PCR multiplexe pour la détection des carbapénèmases

<b>Dénaturation initiale</b>		95 °C	3 min
<b>35 Cycles</b>	<b>Dénaturation</b>	95 °C	40 S
	<b>Hybridation</b>	55 °C	30 S
	<b>Elongation</b>	72 °C	20 S
<b>Elongation finale</b>		72 °C	10 min

Après amplification, 40 µl du produit de PCR de chaque souche étudiée sont envoyés pour séquençage, à l'aide de l'appareil 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Courtaboeuf, France). Les résultats obtenus sont analysés grâce au logiciel SeqScape Software v2.5 (Applied Biosystems).

## 8. Traitement statistique

Les taux de portages ont été comparés entre eux en utilisant le logiciel ExcelStat pour savoir s'il existe des différences significatives entre les différents pourcentages enregistrés.

## **1. Souches bactériennes**

Au cours de notre étude, un total de 200 animaux de compagnie (116 chiens et 84 chats) ont été inclus. Parmi eux, 174 animaux (93 chiens et 81 chats) ont été prélevés au niveau du cabinet vétérinaire du Dr. Hassissene (Annexe II) contre 26 (23 chiens et 03 chats) chez des propriétaires privés.

171 animaux (102 chiens et 69 chats) étaient considérés comme étant en bonne santé le jour du prélèvement : 147 au niveau du cabinet vétérinaire (81 chiens et 66 chats) contre 24 au niveau des propriétaires privés (21 chiens et 03 chats).

L'identification par galeries API20E et Spectroscopie MALDI-TOF ont permis d'identifier les souches isolées comme étant des *E. coli*. L'isolement sur gélose de sélection (MC+CAZ ou MC+IMP) a permis de sélectionner 33 souches d'*E. coli* résistantes. Parmi elles, 24 souches ont été isolées chez le chien contre 9 souches chez le chat.

## **2. Sensibilité des souches aux antibiotiques**

Les résultats de l'étude de la sensibilité des souches d'*E. coli* aux bêta-lactamines et aux autres familles sont représentés dans la figure 6 et 7. Il est à noter que toutes les souches testées sont résistantes à la ticarcilline et que 15,15% et 3,03% des souches sont respectivement résistantes à l'ertapénème et à l'imipénème (classe de carbapénèmes). Pour le reste des  $\beta$ -lactamines testées, les taux varient de 15,15% à la céfoxitine à 84,85% vis-à-vis de la céftazidime. Concernant les autres familles d'antibiotiques, les taux de résistance varient de 21,21% pour la gentamycine et la tobramycine à 90,9% pour la tétracycline. On note aussi que toutes les souches sont sensibles à l'amikacine (figure 7).

Les taux de résistance aux antibiotiques obtenus pour les chiens et chats sont donnés dans la figure 9, malgré que des différences sont observées entre les taux de résistance notés pour les chats et chiens, cependant aucune différence significative entre ces taux n'est observée (p-value>0.05).

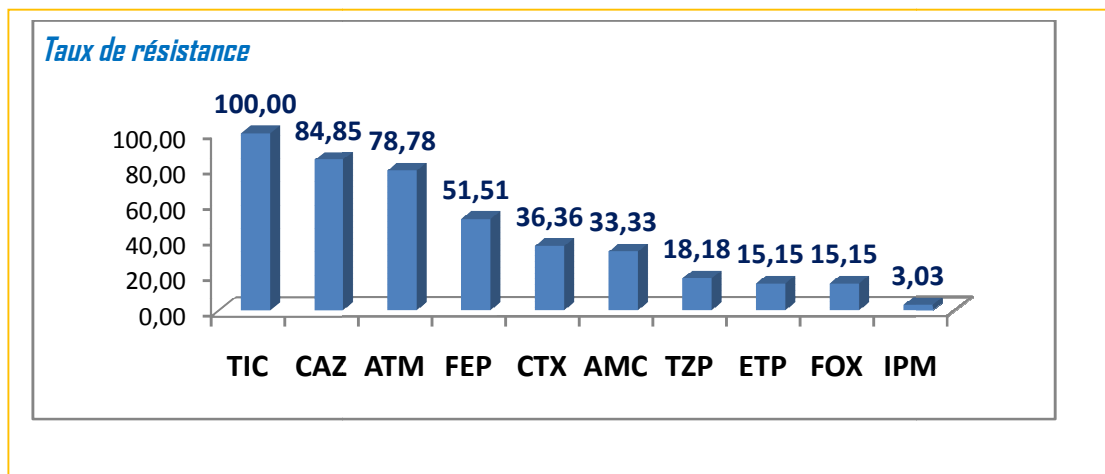


Figure 6: Taux de résistance des souches d'*E. coli* aux  $\beta$ -lactamines

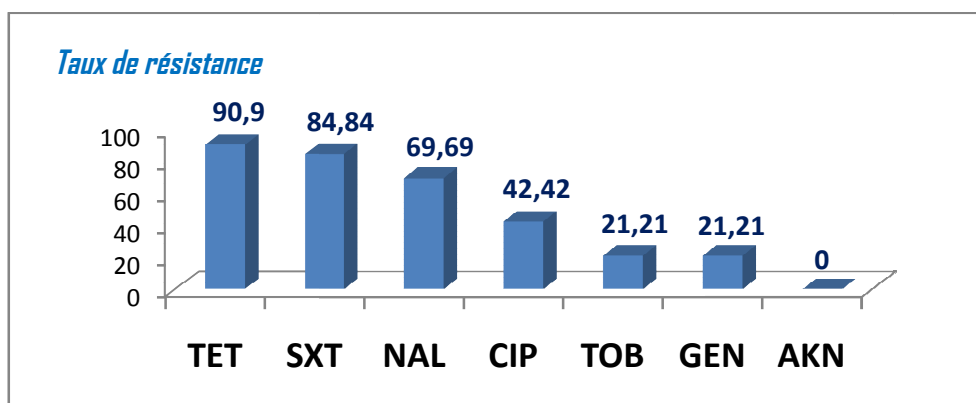


Figure 7: Taux de résistance des souches d'*E. coli* aux autres antibiotiques

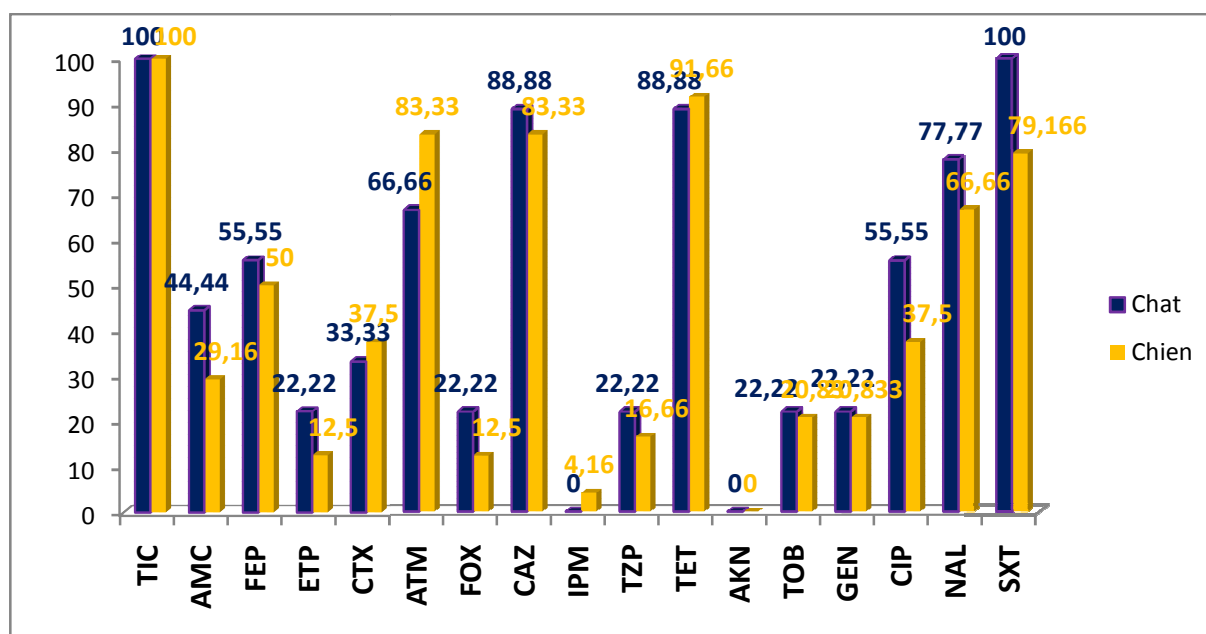


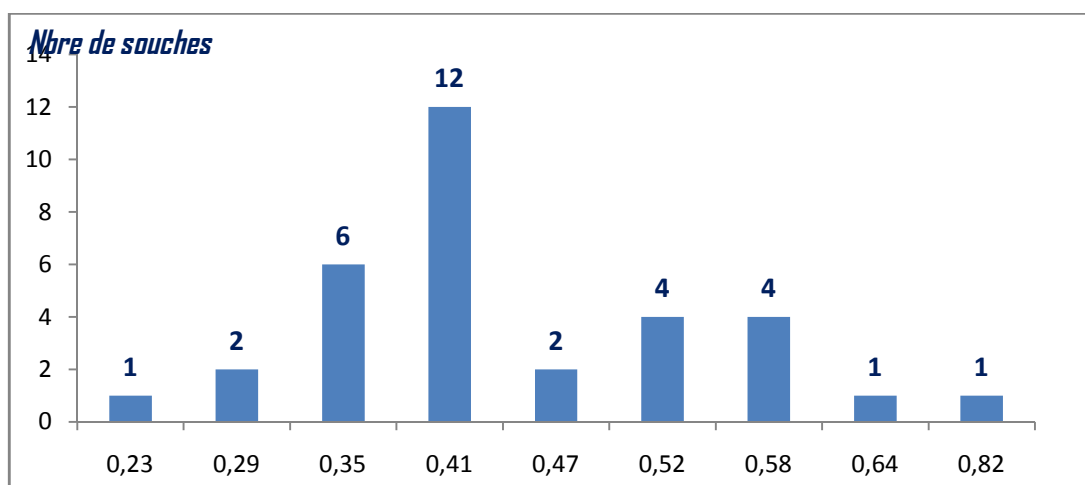
Figure 8: Comparaison entre les taux de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées chez les chiens et chats

Le tableau VIII donne les résultats de l'antibiogramme complémentaire effectué pour les souches résistantes aux carbapénèmes. Il est à noter que 4 sur des 5 souches d'*E. coli* sont sensibles au doripénème et au méropénème, tandis que la souche 174 est résistante à ces deux molécules. En outre toutes ces cinq souches sont résistantes à la timocilline et sont toutes sensibles à la colistine et à la tigécycline

**Tableau N°VIII :** Résultats de l'antibiogramme complémentaire des souches *E. coli* résistantes à l'ertapénème.

Code	DOR	TEM	MEM	CST	TGC
99	27(S)	6 (R)	20 (S)	20(S)	26(S)
100	25(S)	6(R )	24(S)	19(S)	25(S)
132	26(S)	6(R )	25(S)	20(S)	24(S)
192b	26(S)	6(R )	26(S)	20(S)	24(S)
174	12(R )	6(R )	11( R )	19(S)	26(S)

L'indice de multirésistance aux antibiotiques nous renseigne sur la multi-résistance de la souche. Il est calculé selon le rapport du nombre d'antibiotiques auxquels la souche est résistante sur le nombre total d'antibiotiques testés (17 dans notre cas). La figure 10 donne la distribution des 33 souches testées par rapport à leurs indices de multi-résistance. On observe ainsi que cet indice varie de 0.23 à 0.82 .En outre, plus de la moitié des souches (54.54%) ont des indices de multi-résistance compris entre 0.35 (6/17) et 0.41 (7/17).

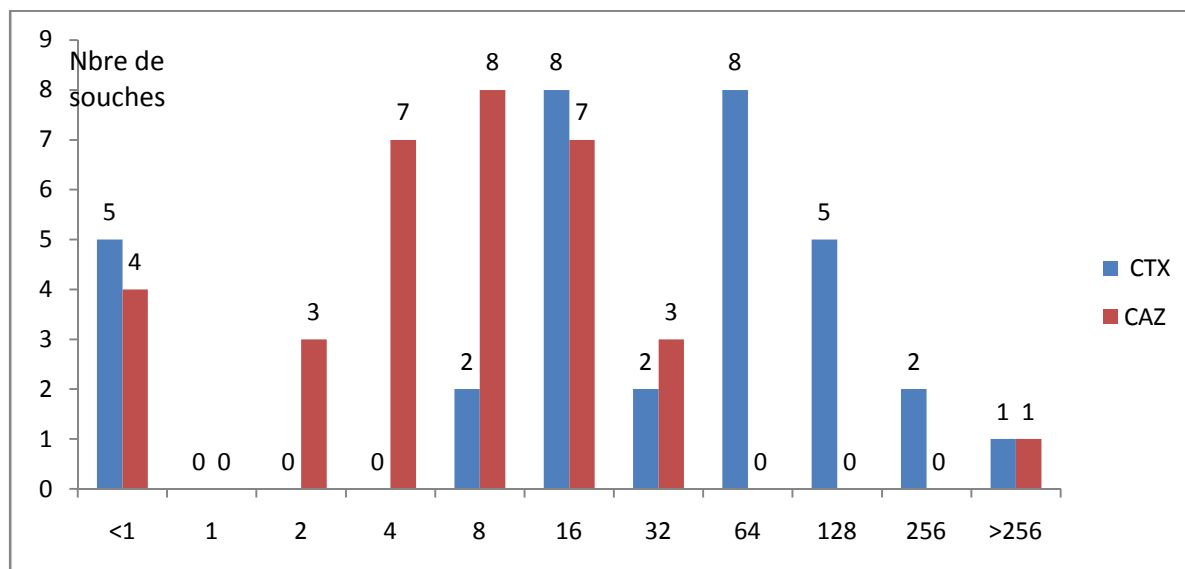


**Figure 9 :** Indices de multirésistance calculés pour les 33 souches d'*E. coli*



### 3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices en milieu solide

Les CMI ont été déterminées pour les 33 souches d'*E. coli* vis-à-vis du céfotaxime et de la céftazidime (figure 10).



**Figure 10 : Distribution des CMI vis-à-vis du CAZ et CTX des souches d'*E. coli* testées**

Concernant les CMI des souches testées à la céftazidime, la majorité des souches (28 souches, 84.84%) ont des CMI comprises entre 2 mg/l et 36 mg/l. Uniquement une seule souche (S174) possède une CMI >256 mg/l. Pour le céfotaxime, 28 souches (84.84%) ont une CMI comprise entre 8 mg/l et >256 mg/l.

On note que la CMI moyenne au céfotaxime et à la céftazidime est de 64 mg/l et 8mg/l respectivement.

### 4. Détermination des concentrations minimales inhibitrices par E-test

On note d'après le tableau N°IX que les CMI des carbapénèmes pour les souches d'*E. coli* 100,99, 132 et 192b sont de faible niveau (la CMI vis-à-vis de l'ertapénème étant la plus élevée des quatre CMI observés avec 2 µg/ml). Contrairement aux CMI de la souche d'*E. coli* 174 qui sont très élevées allant de 24µg/ml pour le doripénème et > 32µg/ml pour les 3 autres carbapénèmes. Les CMI des cinq souches obtenues pour le TZP sont très élevées. Concernant les CMI du CTX, CAZ et ATM, les souches d'*E. coli* 100, 99 et 192b sont très faibles (souches dans la catégorie sensible). La souche 132 présente des CMI légèrement augmentées allant de 6 µg/ml pour l'ATM à 24 µg/ml pour la CAZ. Cependant la souche d' *E. coli* 174 présente des CMI très élevée à ces trois molécules.

Tableau IX : Distribution des CMI des 08 antibiotiques testés

Code	ETP	MEM	DOR	IMP	ATM	CAZ	CTX	TZP
100	1,5	0,38	0,25	0,38	0,125	0,25	1	192
174	>32	>32	24	>32	>256	>256	>32	>256
99	2	0,38	0,19	0,5	0,94	0,38	1	192
132	2	0,5	0,25	0,75	<b>6</b>	<b>24</b>	<b>12</b>	192
192b	2	0,38	0,25	0,5	0,125	0,38	0,75	192

## 5. Analyse des phénotypes de résistance

### 5.1. DD-test

Le DD-test effectué sur gélose Mueller –Hinton a montré une image de synergie chez 26 souches d'*E. coli* résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, traduisant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches (figure 11). Il est à noter que pour la souche 174, qui est résistante aux carbapénèmes, une image de synergie est observée uniquement entre l'aztréonam et l'amoxicilline-clavulanate (figure 12)..

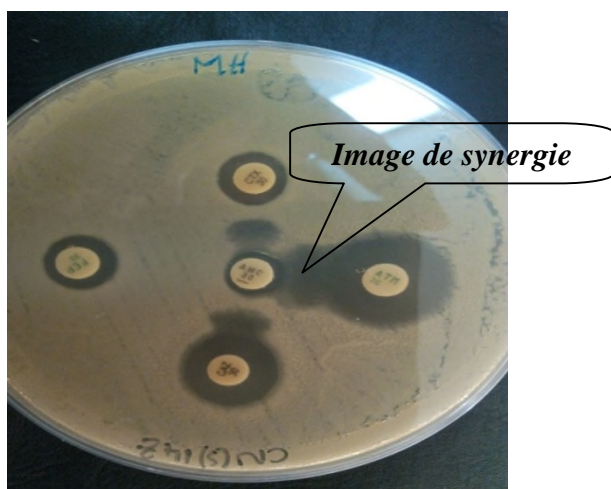


Figure 11 : Image de synergie pour la souche souche d'*E.coli* 79

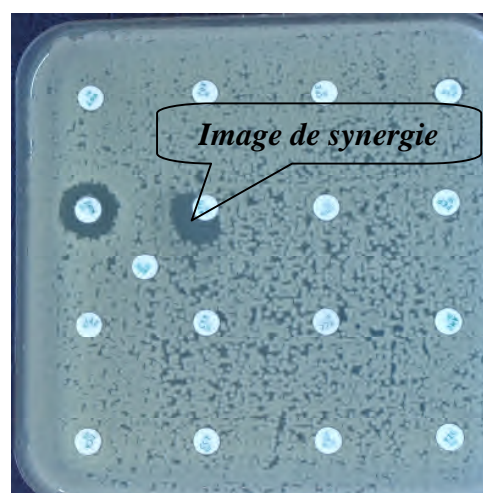


Figure 12 : Image de synergie obtenue pour la souche d'*E. coli* 174

## 5.2. DD-test sur gélose MH + cloxacilline

Les 4 souches d'*E. coli* résistantes à la céfoxitine ont été testées une seconde fois sur gélose Mueller Hinton additionnée de cloxacilline, cela a permis la restauration de leur sensibilité aux bêta-lactamines (figure 13), traduisant la production probable d'une céphalosporinase.



**Figure 13 : Antibiogramme de la souche S65 sur gélose MH (a gauche) et gélose MH+cloxacilline (A droite)**

- **Test de Hodge et Carba NP test modifié**

Le test de Hodge et le Carba NP modifié ont été positifs pour les 5 souches d'*E. coli* résistantes ou intermédiaires à l'ertapénème, traduisant la production probable d'une carbapénémase (figure 14 et figure 15).

- **Recherche de métallo- $\beta$ -lactamases**

Le test à l'EDTA est positif uniquement pour la souche 174 indiquant la présence d'une carbapénémase de type métallo- $\beta$ -lactamase (figure 16).

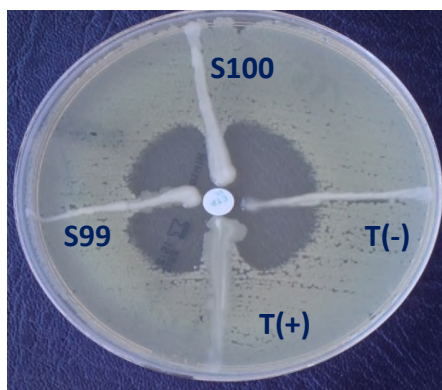


Figure 14 : Résultat du test de Hodge pour les souches d'*E. coli* 99 et 100

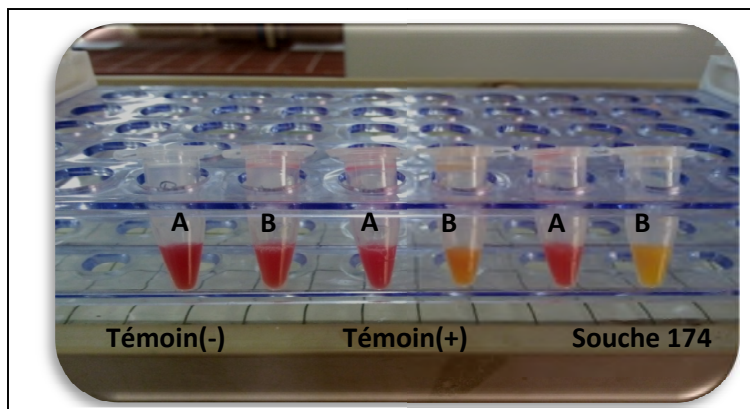


Figure 15: Résultat du Carba NP test modifié pour la souche 174.

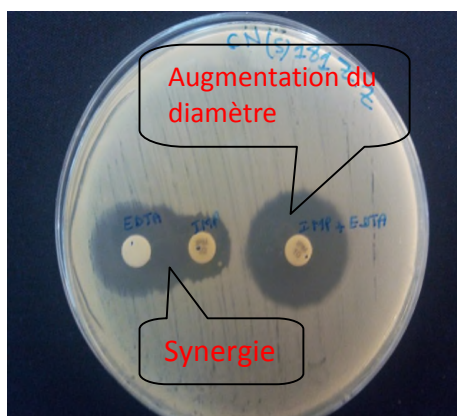
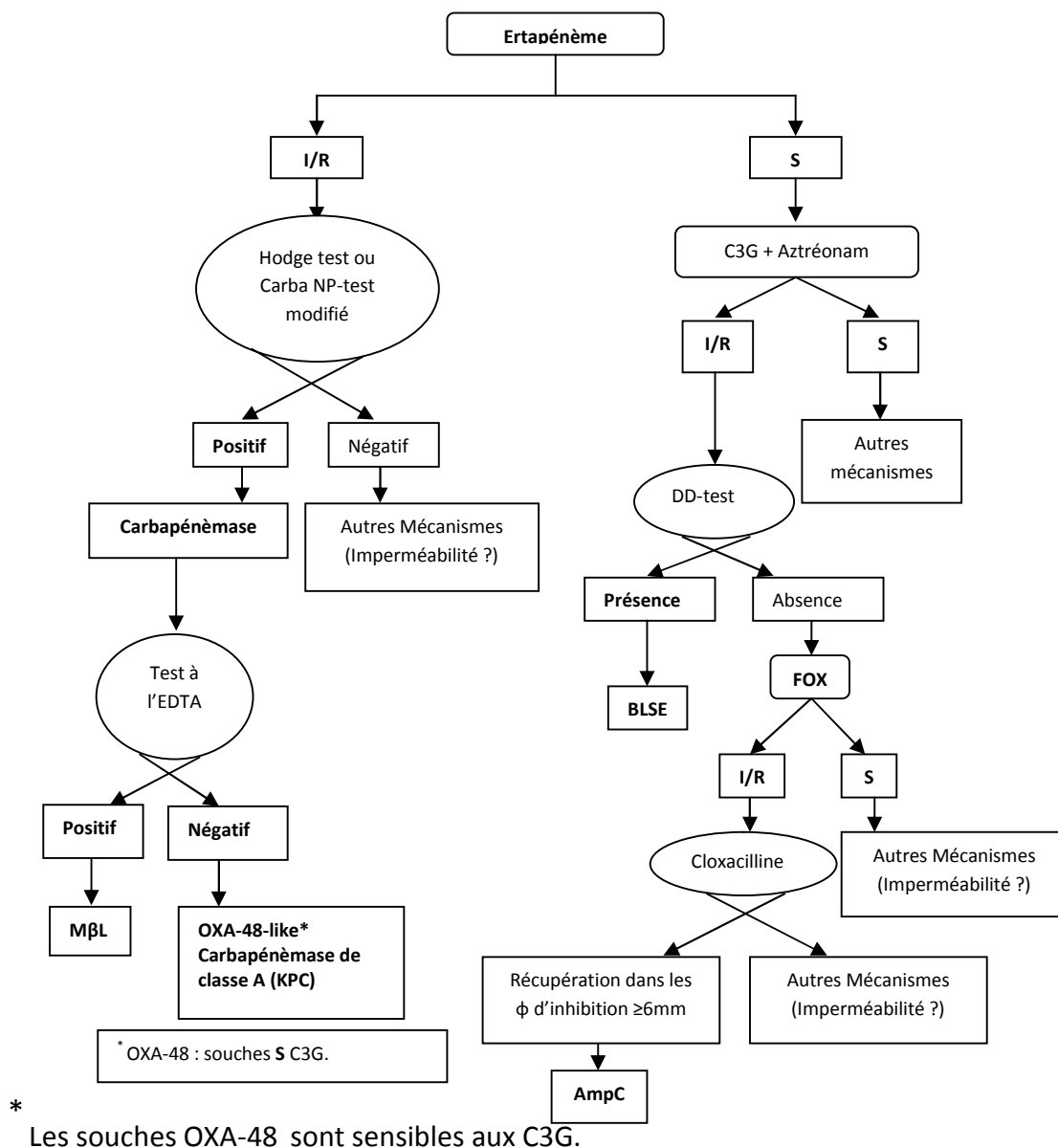


Figure 16 : Résultat du test de l'inhibition à l'EDTA pour la souche d'*E. coli* 174

## 6. Déduction des phénotypes de résistance

La figure 17 résume notre démarche visant à interpréter les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'*E. coli* isolées à partir d'animaux de compagnie. Elle repose sur l'analyse du phénotype de résistance, des tests de détection des BLSE, céphalosporinases plasmidiques et des carbapénèmases et le comportement de ces enzymes qui diffèrent vis-à-vis des antibiotiques. La mise en évidence des BLSE est effectuée par le test de synergie (DD-test), les AmpC par le test à la cloxacilline et les carbapénèmases par le test de Hodge et le Carba NP-test modifié. Cependant une carbapénémase de type métallo- $\beta$ -lactamase est suspectée si le test à l'EDTA est positif. Tandis que les carbapénèmases de type OXA-48 sont sensibles aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération contrairement aux type M $\beta$ L et KPC qui y sont résistants.



**Figure 17 : Arbre décisionnel permettant d’interpréter les mécanismes de résistance des souches d’*E. coli* isolées d’animaux de compagnie aux  $\beta$ -lactamines**

Les différents phénotypes de résistance probables de nos souches sont décrits dans le tableau ci-dessous. On note ainsi que 25 souches d’*E. coli* sont probablement productrices de BLSE, 03 souches produiraient une AmpC plasmidique, 04 souches produiraient une carbapénémases de type OXA-48 et une souche produirait une MBL. Il est à noter que 02 souches coproduisent simultanément une MBL et une BLSE (souche 174) et une OXA-48-like et une AmpC (souche 132), respectivement.

Tableau X: Phénotypes de résistance probables aux  $\beta$ -lactamines des souches d'*E. coli*

code	Animal	CTX	CAZ	ETP	FOX	ATM	DD-test	Cloxa	Hodge test	Carba NP test	EDTA	Phénotype
39	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
44	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
65	Chat	S	R	S	R	S	-	+	NT	NT	NT	AmpC
67	Chien	I	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
77	Chien	S	I	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
78	Chien	R	I	S	S	I	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
79	Chien	R	I	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
86	Chat	R	R	S	S	I	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
87	Chat	S	I	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
93	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
94	Chien	I	I	S	S	I	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
99	Chat	S	S	I	S	S	-	NT	+	+	-	OXA-48like
99B	Chat	S	I	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
100	Chien	S	S	I	S	S	-	NT	+	+	-	OXA-48like
100B	Chien	R	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
132	Chat	S	I	I	R	S	-	NT	+	+	-	OXA-48like
140	Chien	R	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
142	Chat	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
153	Chat	R	I	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
154B	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
159	Chien	S	S	S	R	S	-	+	NT	NT	NT	AmpC
161	Chien	S	S	S	R	S	-	+	NT	NT	NT	AmpC
168	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
171	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
172	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
174	Chien	R	R	R	R	R	-	NT	+	+	+	MBL+BLSE
180	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
182	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
184	Chien	R	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
188	Chien	S	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
190	Chat	R	R	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
192	Chien	S	I	S	S	R	+	NT	NT	NT	NT	BLSE
192B	Chien	S	S	R	S	S	-	NT	+	+	-	OXA-48like

**R : Résistants**

**S : Sensibles**

**I : Intermédiaires**

## 7. Taux de portage fécal des souches d'*E. coli* résistantes aux $\beta$ -lactamases à spectre étendu

- **Chez tous les animaux**

Le taux de portage fécal total obtenu dans notre étude est de 15% (30/200) dont un taux de portage de 24.14% (07/29) chez les animaux malades contre 13.45% pour les animaux sains (23/171). Pour les chiens nous avons observé un taux de portage de 19.83% (23/116) contre 8.34% chez les chats. De même, un taux de portage de 35.71% (5/14) est observé chez les chiens malades contre 17.64% (18/102) chez les chiens sains. Pour les chats, nous avons noté un taux de portage de 13.33% (2/15) chez les chats malades contre 7.2% (5/69) chez les chats sains.

- **Chez les animaux admis dans le cabinet vétérinaire**

Au total nous avons obtenu un taux de portage total chez les animaux admis dans le cabinet vétérinaire du Dr. Hassissene de 14.36% (25/174). Chez les animaux malades, le taux de portage est de 22.23% (6/27) contre 12.92% (19/147) chez les animaux sains. 19.35% (18/93) des chiens étaient porteurs contre 8.64% (7/81) chez les chats.

Concernant les chiens, le taux de portage chez les sujets malades est de 33.33% (4/12) contre 17.28% (14/81) chez les sujets sains. Pour les chats, 13.33% (2/15) des individus malades étaient porteurs contre 7.6% (5/66) pour les individus sains.

- **Chez les animaux des propriétaires privés**

Au total 19.23% (5/26) des animaux de compagnie prélevés chez leurs propriétaires été retrouvés porteurs. Un seul des deux animaux malades était porteur contre 16.66% (4/24) chez les animaux en bonne santé. Pour les chiens, 21.74% (5/23) ont été retrouvés porteurs. Aucun portage n'a été détecté chez les chats. Pour les chiens malades, un seul des deux chiens prélevés était porteur contre 19% (4/21) pour les chiens sains.

- **Portage par type de phénotype**

Le taux de portage des souches d'*E. coli* productrices de BLSE est de 11% (22/200) dont un taux de 14.66% (17/116) observé chez les chiens contre 6% (5/84) chez les chats. Pour les souches d'*E. coli* productrices d'AmpC, nous avons observé un taux de portage de 1.5% (1.7% pour les chiens contre 1.2% pour les chats). Concernant le portage des souches productrices de carbapénèmases, nous avons observé un taux de portage de 2.5% (2.6% pour les chiens contre 2.38% pour les chats).

Il est à signaler que 03 animaux sont simultanément porteurs de deux souches différentes, l'une productrice de carbapénèmase et l'autre de BLSE.

- **Traitement statistique**

Malgré que des différences dans les taux de portage ont été notés ci-dessous, cependant le traitement statistique de ces résultats n'a montré aucune différence significative

## **8. Transfert par conjugaison**

Le transfert par conjugaison a été obtenu uniquement pour 5 souches parmi les 33 souches d'*E. coli* isolées. Les résultats de la sensibilité des souches aux antibiotiques, les CMI's ainsi que les phénotypes de résistance obtenus des transconjugants sont montrés dans le tableau N° X. Il est à noter que la résistance aux différents antibiotiques testés est variable entre les souches d'origine et leurs transconjugants. Tout les transconjugants sont sensibles aux antibiotiques testés autres que les  $\beta$ -lactamines testés sauf le transconjugant T93 qui est résistant à la tétracycline.

Concernant les CMI's de la céfotaxime et la ceftazidime des transconjugants, elles varient de 4 mg/l à 128 mg/l et de 16 mg/l respectivement, tandis que les CMI's du transconjugant T65 sont restées identiques à celles de la souche d'origine (S65).

04 des transconjugants produiraient une BLSE, tandis que le transconjugant T65 produiraient une AmpC plasmidique.



Tableau XI : Sensibilité aux antibiotiques, CMI et phénotypes de résistance obtenus pour les transconjugants

code	Antibiogramme																CMI		Phénotype	
	TIC	AMC	FEP	ETP	CTX	ATM	FOX	CAZ	IPM	TZP	TET	AKN	TOB	GEN	CIP	NAL	SXT	CTX		CAZ
<b>168</b>	6	12	21	>32	21	17	28	18	>32	19	6	24	23	23	26	25	6	64	32	BLSE
<b>T168</b>	6	13	22	>32	16	20	>32	19	>32	24	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	64	16	BLSE
<b>182</b>	6	24	21	>32	26	16	30	14	>32	>32	6	25	22	23	26	24	6	16	16	BLSE
<b>T182</b>	6	24	25	>32	20	14	29	18	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	64	32	BLSE
<b>39</b>	6	26	>32	>32	36	19	28	17	>32	30	6	24	22	23	27	25	6	128	8	BLSE
<b>T39</b>	6	>32	>32	>32	>32	14	>32	18	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	4	32	BLSE
<b>65</b>	6	11	>32	>32	21	25	10	16	>32	25	6	26	24	24	10	6	6	16	32	AmpC
<b>T65</b>	24	10	>32	>32	30	14	13	21	>32	30	>32	>32	>32	>32	>32	>32	>32	16	32	AmpC
<b>93</b>	6	22	>32	>32	26	14	27	14	>32	24	6	24	23	23	10	6	6	16	16	BLSE
<b>T93</b>	6	>32	>32	>32	>32	14	>32	20	>32	>32	6	>32	>32	>32	>32	>32	>32	4	32	BLSE

## 9. Caractérisation moléculaire des carbapénémases

La PCR réalisée avec des amorces spécifiques aux gènes carbapénémases a permis d'avoir une amplification pour deux types de gènes (figure 18) : *bla*<sub>OXA-48-like</sub> chez quatre souches d'*E. coli* (99, 100, 132 et 192b) et *bla*<sub>NDM-like</sub> chez une seule souche (174). Le séquençage de ces gènes a permis d'identifier respectivement l'OXA-48 et la NDM-5.

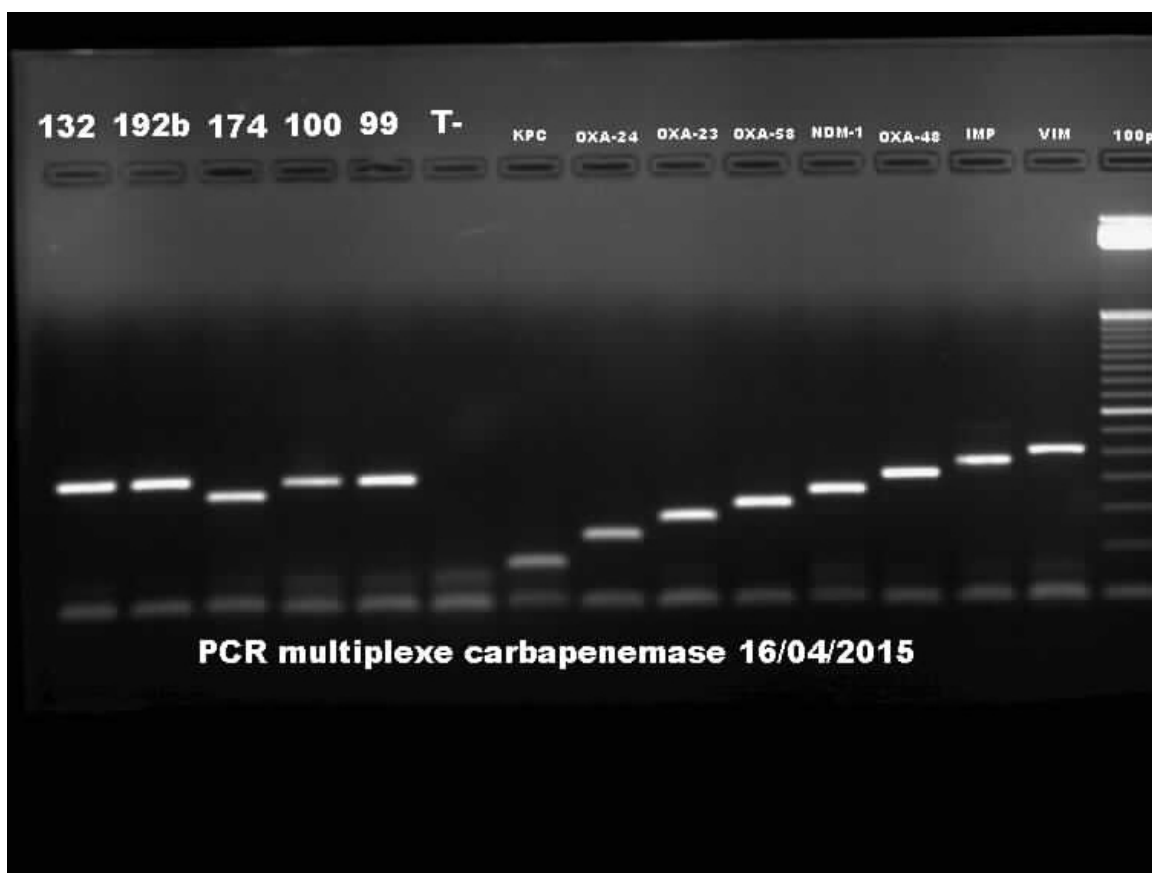


Figure 18 : Amplification par PCR multiplexe des gènes carbapénémases

*Escherichia coli* bacille à Gram-négatif, est un microorganisme intestinal commun des humains et des animaux, avec la capacité d'acquérir et de conserver des gènes de résistance transférables retrouvés chez d'autres organismes et dans l'environnement. De plus, *E. coli* est également un important agent pathogène causant une variété de maladies, y compris les infections gastro-intestinales, urinaires et septicémies. Pour le traitement de ces infections, les  $\beta$ -lactamines incluant les céphalosporines sont fréquemment utilisées en médecine humaine et vétérinaire (Collignon et al., 2007).

Dans notre étude, nous avons identifié des souches d'*E. coli* productrices de BLSE, AmpC et carbapénèmases à partir d'animaux de compagnie à Bejaia. Ceci constitue un premier rapport en Algérie. Plusieurs études ont rapporté des souches d'*E. coli* productrices de BLSE, AmpC et carbapénèmases isolées d'animaux de compagnie. Il est à rappeler que la première souche d'*E. coli* productrice de BLSE (type CTX-M) a été isolée à partir d'un échantillon de selles chez un chien (Matsumoto et al., 1988).

Chez les animaux de compagnie étudiés dans notre étude, nous avons observé un taux de portage fécal moyen de 16% (incluant les souches productrices de BLSE, AmpC et carbapénèmases). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par Sallem et al., 2013 en Tunisie (prévalence de 17.5%, n=80) et à ceux rapportés par Rocha-Gracia et al., 2015 au Mexique (prévalence de 17% chez les chiens, n=53).

Cependant, le taux de portage fécal retrouvé dans notre étude est relativement élevé comparé à d'autres études publiées. Murphy et al., 2009 ont rapporté dans deux régions du Canada une prévalence de 0% chez 227 animaux de compagnie étudiés (chat : n=39 et chien : n=188). Costa et al., 2008 rapportent dans leur étude sur un échantillon de 75 animaux de compagnie (chat : n=36 et chien : n=39) une prévalence globale de 2.6%. Carattoli et al., 2005 ont rapporté un taux de portage fécal de BLSE/AmpC de 6.25% en Italie (chat : n=15 et chien : n=49). Gandolfi-Decristophoris et al., 2013 en Suisse ont montré une prévalence de souches d'entérobactéries productrices de BLSE de 2.5%. En revanche, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par Sun et al., 2010 en Chine qui ont montré un taux de portage fécal de souches d'*E. coli* productrices de BLSE de 39.46% (chat : n=55 et chien : n=185). Hordijk et al., 2013 en Hollande ont rapporté un taux de portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE/AmpC de 31.25% (chats : n=40 et chiens : n=40).

Dans notre étude, un taux de portage fécal de 24% (7/29) des souches d'*E. coli* productrices de BLSE/AmpC chez les animaux de compagnies malades contre 13,45%

(23/171) chez des animaux de compagnie sains. Hordijk et *al.*, 2013 ont rapporté un taux de portage de 40% (16/40) des souches d'Entérobactéries productrices de BLSE/AmpC chez des animaux de compagnie malades contre 22,5% (9/40) chez les animaux de compagnie sains. Nous avons constaté que les taux de portage ont été plus élevés chez les animaux malades que chez les animaux en bonne santé.

Dans l'étude de Dierickx et *al.*, 2012 effectuée sur des prélèvements cliniques d'animaux de compagnie, les auteurs ont rapporté une prévalence globale de souches productrices de BLSE/AmpC de 2,11%.

Dans notre étude, il est probable que nos souches produisent des BLSE de type CTX-M du fait qu'elles résistent à la céfépime et que les CMI vis-à-vis du céfotaxime sont supérieures à celles de la céftazidime, qui est en accord avec le phénotype CTX-M. Cependant, il faudrait une caractérisation moléculaire pour confirmer cette affirmation. Pour la résistance à la céfoxitine par production d'AmpC, deux mécanismes peuvent être évoqués : acquisition d'une AmpC plasmidique ou l'hyperexpression de la céphalosporinase naturelle par mutations dans le promoteur.

Le premier rapport d'une souche d'*E. coli* productrice de BLSE (SHV-12) chez les animaux de compagnie est venu d'Espagne (Teshager et *al.*, 2000). CTX-M-1 a été détectée pour la première fois chez des souches d'*E. coli* à partir de chiens et de chats malades et en bonne santé en Italie. Bien que la majorité des études décrivant les BLSE produites par les Enterobacteriaceae isolées d'animaux de compagnie ont été portées sur *E. coli*, des rapports sur *Enterobacter* sp, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter* sp, et *Salmonella enterica* ont également été publiés (Carattoli et *al.*, 2005). Par contre les souches d'*E. coli* productrices d'AmpC de type CMY-2 ont été identifiées au début des années 2000 comme une cause d'infections opportunistes chez les chiens dans plusieurs cliniques vétérinaires et de centre de référence au Portugal (Feria et *al.*, 2002). Depuis une quarantaine de publications ont été recensées sur PubMed. Les tableaux ci-dessous résument les différents types de BLSE et d'AmpC décrits chez les animaux de compagnies.

**Tableau XII : Types de BLSE rapportés chez les souches *E. coli* et autres entérobactéries isolées de chiens et chats**

<b>β-Lactamase</b>	<b>Organisme</b>	<b>Pays</b>	<b>Référence</b>
SHV-12	<i>E. coli</i>	Portugal	Féria et <i>al.</i> , 2002
SHV-12, CTX-M-1	<i>E. coli</i>	Italie	Carattoli et <i>al.</i> , 2005
SHV-12, OXA-10	<i>Enterobacter</i>	Australie	Sidjabat et <i>al.</i> , 2007
CTX-M-1, CTX-M-14 et PER-2	<i>E. coli</i>	Chili	Moreno et <i>al.</i> , 2008
CTX-M-1, OXA-30	<i>E. coli</i>	Portugal	Costa et <i>al.</i> , 2008
OXA-10, SHV-12	<i>E. coli</i>	Australie	Gibson et <i>al.</i> , 2010
SHV-12, CTX-M-14, CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Etats-Unis	O'Keefe et <i>al.</i> , 2010
CTX-M-15, SHV-12	<i>E. coli</i>	Allemagne	Ewers et <i>al.</i> , 2010
CTX-M-3, -9, -14, -15, -24, -27, -55, -64, -65	<i>E. coli</i>	Chine	Sun et <i>al.</i> , 2010
CTX-M-1, CTX-M-14 et SHV-3	<i>E. coli</i>	Etats-Unis	Shaheen et <i>al.</i> , 2011
ESBL	<i>E. coli</i>	Royaume-Uni	Wedley et <i>al.</i> , 2011
CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Royaume-Uni	Timofte et <i>al.</i> , 2011
CTX-M-1 et CTX-M-9	<i>E. coli</i>	Hong Kong	Ho et <i>al.</i> , 2011
CTX-M-14, -15, -24, -27, -57, -65	<i>E. coli</i>	Corée	So et <i>al.</i> , 2012
CTX-M-14	<i>E. coli</i>	Chine	Ho et <i>al.</i> , 2012
CTX-M-1, CTX-M-2 et CTX-M-9	<i>E. coli</i>	Hollande	Franiek et <i>al.</i> , 2012
CTX-M-1, -2, -9, -14, -15 et TEM-52	<i>E. coli</i> et <i>E. cloacae</i>	Hollande	Dierikx et <i>al.</i> , 2012
CTX-M-3, -14, -24, -27, -55 et CTX-M-65	<i>E. coli</i>	Corée	Tamang et <i>al.</i> , 2012
CTX-M-1	<i>E. coli</i>	Royaume-Uni	Wu et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-1, -14, -15, TEM-52 et SHV-12	<i>E. coli</i> and <i>P. mirabilis</i>	Hollande	Hordijk et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-1 et TEM-135	<i>E. coli</i>	Tunisie	Sallem et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-14 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Chine	Liao et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-14 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	France	Dahmen et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-1, -14, -15 et TEM-52	<i>K. pneumoniae</i>	France	Poirel et <i>al.</i> , 2013
CTX-M	<i>Enterobacteriaceae</i>	Suisse	Gandolfi-Decristophoris et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Suisse	Huber et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-55	<i>E. coli</i>	Chine	Lv et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-14, -15, -24, TEM-30 et TEM-181	<i>E. coli</i>	Etats-Unis	Shaheen et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-15, SHV-12 et SHV-28	<i>E. coli</i> et <i>K.pneumoniae</i>	Allemagne	Stolle et <i>al.</i> , 2013

## *Discussion et Conclusion*

CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli, K. pneumoniae et Salmonella</i>	France	Haenni et al., 2014
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E.coli, K. pneumoniae,</i>	Allemagne	Schmiedel et al., 2014
CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Angola	Albrechtova et al., 2014
CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Corée	Tamang et al., 2014
CTX-M-1, -9, -15 et CTX-M-32	<i>E. coli</i>	Portugal	Belas et al., 2014
CTX-M-2, CTX-M-14 et CTX-M-27	<i>E. coli</i>	Japan	Okubo et al., 2014
CTX-M-1, -9, -15 et SHV-2	<i>K. pneumoniae et K. oxytoca</i>	Italie	Donati et al., 2014
CTX-M-1	<i>E. coli</i>	Tunisie	Ben Sallem et al., 2014
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Allemagne	Valentin et al.,
CTX-M-1, -3, -14, -15, -27, -55, -61 et SHV-12	<i>E. coli</i>	Allemagne	Ewers et al., 2014
CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-15 et SHV-12	<i>Enterobacteriaceae</i>	Hollande	Baede et al, 2015
CTX-M -1	<i>E. coli</i>	Royaume uni	Schmidt et al., 2015
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Allemagne	Schaufler et al., 2015
CTX-M	<i>E. coli</i>	Etats-Unis	Jackson et al., 2015
CTX-M-15 et SHV-12	<i>E. coli</i>	Mexique	Rocha-Gracia et al., 2015
CTX-M-1, CTX-M-9 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Australie	Guo et al., 2015

**Tableau XIII: Types d'AmpC rapportés chez les souches d'*E. coli* et autres Entérobactéries isolées de chiens et chats**

AmpC	Souches	Pays	Auteurs
CMY-2	<i>Enterobacteriaceae</i>	Hollande	Baede et al, 2015
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Mexique	Rocha-Gracia et al., 2015
CMY-2, CMY-4 et DHA-1	<i>Proteus mirabilis</i>	Japan	Harada et al., 2014
CMY-2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Salmonella</i>	France	Haenni et al., 2014
DHA-1 et CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Portugal	Belas et al., 2014
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Grece	Vingopoulou et al., 2014
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Japan	Okubo et al., 2014
CMY-2 et DHA-1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>K. oxytoca</i>	Italie	Donati et al., 2014
CMY-2 et CMY-108	<i>Escherichia coli</i>	Etats-Unis	Bortolaia et al., 2014
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Tunisie	Ben Sallem et al., 2014
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Royaume-Uni	Wagner et al., 2014
CMY-2	<i>E. coli</i> and <i>Proteus mirabilis</i>	Hollande	Hordijk et al., 2013
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Tunisie	Sallem et al., 2013
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Corée	So et al., 2012
CMY-2 et CMY-39	<i>Enterobacteriaceae</i>	Hollande	Dierikx et al., 2012
CMY-2 et DHA-1	<i>Escherichia coli</i>	Corée	Tamang et al., 2012
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Etats-Unis	Shaheen et al., 2011
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Royaume-Uni	Wedley et al., 2011
CMY-2	<i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i>	Canada	Murphy et al., 2009
CMY-7	<i>Escherichia coli</i>	Australie	Sidjabat et al., 2009
CMY-2	<i>Enterobacter</i>	Australie	Sidjabat et al., 2007
CMY-2	<i>Escherichia coli</i>	Australie	Sidjabat et al., 2006

En Algérie, plusieurs auteurs ont rapporté la dissémination des gènes BLSE (*bla<sub>CTX-M</sub>*, *bla<sub>SHV-12</sub>*, ...etc) et AmpC (*bla<sub>CMY</sub>*, *bla<sub>DHA</sub>*, ..etc) en milieu hospitalier et extrahospitalier. Touati et al., 2006 ont rapporté des souches cliniques d'*E. coli* productrices de CTX-M-15 isolées de plusieurs hôpitaux de Béjaïa et Gharout et al., ont rapporté des souches d'*E. coli* communautaires productrices de *bla<sub>CMY-4</sub>* et/ou CTX-M-15 (Gharout et al., 2012 ; Gharout et al., 2015). Cependant, aucune publication n'a rapporté de souches d'entérobactéries productrices de BLSE et/ou AmpC isolées d'animaux de compagnie.

Dans notre étude, nous avons trouvé une souche d'*E. coli* isolée d'un chien productrice de métallo- $\beta$ -lactamase (M $\beta$ L) de type NDM-5 et 4 souches d'*E. coli* isolées de chiens et chats productrices de carbapénèmases de type OXA-48. Uniquement deux publications ont été retrouvées sur PubMed concernant la production de carbapénèmases chez les animaux de compagnies. Des souches d'*E. coli* productrices de NDM-1 isolées à partir d'animaux de compagnie ont été décrites aux USA (Shaheen et al., 2013). Stolle et al., 2013 ont rapporté en Allemagne des souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées de chiens productrices de carbapénèmases de type OXA-48. Par contre aucune étude des carbapénèmases n'a été rapportée en Afrique chez les animaux de compagnie.

Dans notre étude, nous avons détectée un taux de résistance très élevée à la tétracycline (90,9%). Costa et al., 2008 ont rapporté un taux de résistance à la tétracycline de 19,4% (n=144). Cette résistance est due principalement à la surexpression des systèmes d'efflux Tet(A) et Tet(B).

La résistance aux aminosides est liée majoritairement à la synthèse de trois types d'enzymes modifiant les aminosides : aminosides phosphoryltransférases (APH), aminosides acétyltransférases (AAC) et des aminosides adényltransférases(AAD). En plus de ces mécanismes enzymatiques, la modification de la cible par des méthylase (ArmA, RmtB, ...) est de plus en plus rapportée dans la littérature.

Jackson et al., 2015 aux Etats-Unis ont identifié la présence de plusieurs gènes conférant la résistance aux aminosides chez des animaux de compagnie (*aac*, *aad*, *aph* et *strA/B*). Costa et al., 2008 ont rapporté une faible résistance aux aminosides chez les chats liée à la production d'acétyltransférase de type AAC(3).

La résistance aux quinolones est préoccupante dans notre étude avec un taux de résistance de 69,69%. Cette résistance est due soit à des mutations au niveau des gènes *gyrA* et *parC* ou à l'acquisition de gènes plasmidiques de type PMQR comme les gènes *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* et *qepA*. Des souches d'*E. coli* productrices des gènes *aac(6')-Ib-cr* et *qepA* ont été rapportés chez des chiens (Ma et al., 2009). Sallem et al., 2013, ont également rapportés la présence du gène *qnrB19* chez une souche *E. coli* productrice de CTX-M-1 chez les animaux de compagnies.



Souvent la résistance conférée par des BLSE est associée à la résistance à d'autres classes d'antibiotiques, comme les quinolones, aminosides et les sulfamides. Ceci est lié en partie au fait que les plasmides hébergeant les BLSE portent fréquemment les autres gènes de résistance. Au cours de notre étude cinq transconjugants ont été obtenus. Cependant, excepté le transconjugant T93 ou la tétracycline a été cotransférée avec le gène BLSE, aucun autre co-transfert de gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques (quinolones, aminosides et les sulfamides) n'a été observé pour nos transconjugants. Cela suggère que les gènes codant à la résistance à ces molécules d'antibiotiques ne sont pas codés par les mêmes plasmides codant pour les gènes BLSE.

En conclusion, il est connu que les animaux vivent souvent en contact très étroit avec leurs propriétaires, et plusieurs publications ont rapportées l'apparition des même gènes de résistance chez les animaux de compagnie et chez les humains et le transfert possible de bactéries des animaux aux humains (Guardaabassi et al., 2004). La détection de ces souches en possession de ces enzymes qui leur procure de la résistance aux antibiotiques chez la population d'animaux de compagnie en bonne santé peut être une source de préoccupation, en particulier en absence de facteur de risque potentiel. Par conséquent, les options thérapeutiques pour le traitement d'individus infectés sont quelque peu limitées. En plus de la signification clinique, ces isolats pourraient avoir un impact de santé publique, si le transfert zoonotique se produit.

Les résultats fournissent un point de départ, pour étudier l'impact de la résistance aux antibiotiques chez les animaux de compagnies et l'apport d'informations à la compréhension mondiale de l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les animaux de compagnie

En perspectives, les résultats obtenus au cours de notre étude restent préliminaires et devront être complétés par d'autres études, à savoir :

- Faire une étude moléculaire afin de caractériser complètement et de déterminer avec exactitude le type de BLSE produites par nos souches d'*E. coli*.
- Réaliser une enquête de prévalence ou sera pris en compte un nombre d'animaux plus élevé, une participation élargie aux autres cabinets vétérinaires des autres Wilaya et pour une durée plus prolongée pour rendre l'étude statistique plus fiable. D'autres animaux de compagnie comme les chevaux peuvent également être inclus.
- Mise en place d'un programme de surveillance de l'utilisation d'antibiotiques afin d'instaurer une politique d'antibiothérapie rationnelle et adéquate et de ce fait faire diminuer la pression de sélections exercée par ces molécules et baisser le cout induit par une surconsommation d'antibiotiques.
- Etudier les facteurs de risque d'acquisition de souches multi-résistantes en établissant une fiche de renseignement indiquant l'historique de l'animal.
- Faire un état des lieux de l'usage des antibiotiques, notamment des  $\beta$ -lactamines en médecine vétérinaire et particulièrement chez les animaux de compagnie.

## Références Bibliographiques

1. **Afssa-b.** (2002). Rapport intermédiaire : utilisation des antibiotiques chez l'animal et résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale. Programme français. 1999 - 2000.
2. **Albrechtova K, Papousek I, De Nys H, Pauly M, Anoh E, Mossoun A, Dolejska M, Masarikova M, Metzger S, Couacy-Hymann E, Akoua-Koffi C, Wittig RM, Klimes J, Cizek A, Leendertz FH, Literak I.** (2014). Low rates of antimicrobial-resistant *Enterobacteriaceae* in wildlife in Taï National Park, Côte d'Ivoire, surrounded by villages with high prevalence of multiresistant ESBL-producing *Escherichia coli* in people and domestic animals. PLoS One. **9**, 113548.
3. **Allen SE, Boerlin P, Janecko N, Lumsden JS, Barker IK, Pearl DL, Reid-Smith RJ, Jardine C.** (2011). Antimicrobial resistance in generic *Escherichia coli* isolates from wild small mammals living in swine farm, residential, landfill, and natural environments in southern Ontario, Canada. Appl Environ Microbiol. **77**, 882-8.
4. **Allocati N, Masulli M, Alexeyev MF, Di Ilio C.** (2013). *Escherichia coli* in Europe: an overview. Int J Environ Res Public Health. **10**, 6235-54.
5. **Ambler RP.** (1980). The structure of beta-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. **16**, 321-31.
6. **Baede VO, Wagenaar JA, Broens EM, Duim B, Dohmen W, Nijse R, Timmerman AJ, Hordijk J.** (2015). Longitudinal Study of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase- and AmpC-Producing *Enterobacteriaceae* in Household Dogs. Antimicrob Agents Chemother. **59**, 3117-24.
7. **Bakour S, Olaitan AO, Ammari H, Touati A, Saoudi S, Saoudi K, Rolain JM.** (2015). Emergence of Colistin- and Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* ST2 Clinical Isolate in Algeria: First Case Report. Microb Drug Resist. **21**, 279-85.
8. **Belas A, Salazar AS, Gama LT, Couto N, Pomba C.** (2014). Risk factors for faecal colonisation with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamases in dogs. Vet Rec. **175**, 202.
9. **Ben Sallem R, Ben Slama K, Rojo-Bezares B, Porres-Osante N, Jouini A, Klibi N, Boudabous A, Sáenz Y, Torres C.** (2014). IncI1 plasmids carrying *bla(CTX-M-1)* or *bla(CMY-2)* genes in *Escherichia coli* from healthy humans and animals in Tunisia. Microb Drug Resist. **20**, 495-500.

10. **Bonnet R.** (2004). Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* **48**, 1-14.
11. **Bortolaia V, Hansen KH, Nielsen CA, Fritsche TR, Guardabassi L.** (2014). High diversity of plasmids harbouring *bla*CMY-2 among clinical *Escherichia coli* isolates from humans and companion animals in the upper Midwestern USA. *J Antimicrob Chemother.* **69**, 1492-6.
12. **Boto L.** (2010). Horizontal gene transfer in evolution: facts and challenges. *Proc Biol Sci.* **22**, 819-27.
13. **Boulanger A, Poirel L, Bonnin RA, Schrenzel J, Kaase M, Nordmann P.** (2012). Tn125-related acquisition of *bla*NDM-like genes in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* **56**, 1087-9.
14. **Bozdogan B, Appelbaum PC.** (2004). Oxazolidinones: activity, mode of action, and mechanism of resistance. *Int J Antimicrob Agents.* **232**, 113-9.
15. **Bradford PA.** (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.* **14**, 933-51.
16. **Brigulla M, Wackernagel W.** (2010). Molecular aspects of gene transfer and foreign DNA acquisition in prokaryotes with regard to safety issues. *Appl Microbiol Biotechnol.* **86**, 1027-41.
17. **Bryskier A.** (1999). Antibacterial drug discovery and development--third international summit. 8-9 March 1999, Princeton, NJ, USA. *IDrugs.* **2**, 414-7.
18. **Bush K, Jacoby GA.** (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**, 969-76.
19. **Bush K, Courvalin P, Dantas G, Davies J, Eisenstein B, Huovinen P, Jacoby GA, Kishony R, Kreiswirth BN, Kutter E, Lerner SA, Levy S, Lewis K, Lomovskaya O, Miller JH, Mobashery S, Piddock LJ, Projan S, Thomas CM, Tomasz A, Tulkens PM, Walsh TR, Watson JD, Witkowski J, Witte W, Wright G, Yeh P, Zgurskaya HI.** (2011). Tackling antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol.* **2**, 894-6.
20. **Carattoli A.** (2009). Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**, 2227-38.

21. Carattoli, A., Lovari, S., Franco, A., Cordaro, G., Di Matteo, P., Battisti, A. (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Rome, Italy, from 2001 to 2003. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**, 833–835.
22. Cavallo J.-D, R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp, E. Garrabé. (2004). Bêtalactamines. EMC - Maladies Infectieuses. **1**, 129-202.
23. Cavallo JD, Thibault FM, Hernandez E, Vidal DR, Girardet M. (2004). Antibiotic susceptibility of 65 isolates of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei* to 35 antimicrobial agents. *J Antimicrob Chemother*. **54**, 1134-8.
24. Chanal C, Bonnet R, De Champs C, Sirot D, Labia R, Sirot J. (2000). Prevalence of beta-lactamases among 1,072 clinical strains of *Proteus mirabilis*: a 2-year survey in a French hospital. *Antimicrob Agents Chemother*. **44**, 1930-5.
25. Collignon P. (2007). Aarestrup FM. Extended-spectrum beta-lactamases, food, and cephalosporin use in food animals. *Clin Infect Dis*. **44**, 1391–1392.
26. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). (2000), EUCAST Definitive Document E.DEF 3.1, June 2000: Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect*. **6**, 509-15.
27. Costa, D., Poeta, P., Saenz, Y., Coelho, A. C., Matos, M., Vinue, L., Rodrigues J, Torres C. (2008). Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *Escherichia coli* isolates recovered from healthy pets. *Vet. Microbiol*. **127**, 97–105.
28. Dahmen S, Haenni M, Châtre P, Madec JY. (2013). Characterization of *bla*CTX-M IncFII plasmids and clones of *Escherichia coli* from pets in France. *J Antimicrob Chemother*. **68**, 2797-801.
29. Davies J, Wright GD. (1997). Bacterial resistance to aminoglycoside antibiotics. **56**, 234-40.
30. Davies J, Davies D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. **74**, 417-33.

31. **Dierikx CM, van Duijkeren E, Schoormans AH, van Essen-Zandbergen A, Veldman K, Kant A, Huijsdens XW, van der Zwaluw K, Wagenaar JA, Mevius DJ.** (2012). Occurrence and characteristics of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase- and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. *J Antimicrob Chemother.* **67**, 1368-74.
32. **Donati V, Feltrin F, Hendriksen RS, Svendsen CA, Cordaro G, García-Fernández A, Lorenzetti S, Lorenzetti R, Battisti A, Franco A.** (2014). Extended-spectrum-beta-lactamases, AmpC beta-lactamases and plasmid mediated quinolone resistance in *klebsiella spp.* from companion animals in Italy. *PLoS One.* **93**, 90564.
33. **Dortet L, Poirel L, Nordmann P.** (2014). Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res Int.* **249856**. doi: [10.1155/2014/249856](https://doi.org/10.1155/2014/249856).
34. **Ewers C, Bethe A, Stamm I, Grobbel M, Kopp PA, Guerra B, Stubbe M, Doi Y, Zong Z, Kola A, Schaufler K, Semmler T, Fruth A, Wieler LH, Guenther S.** (2014). CTX-M-15-D-ST648 *Escherichia coli* from companion animals and horses: another pandemic clone combining multiresistance and extraintestinal virulence. *J Antimicrob Chemother.* **69**, 1224-30.
35. **Ewers C, Grobbel M, Stamm I, Kopp PA, Diehl I, Semmler T, Fruth A, Beutlich J, Guerra B, Wieler LH, Guenther S.** (2010). Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother.* **65**, 651-60.
36. **Féria C, Ferreira E, Correia JD, Gonçalves J, Caniça M.** (2002). Patterns and mechanisms of resistance to beta-lactams and beta-lactamase inhibitors in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs in Portugal. *J Antimicrob Chemother.* **49**, 77-85.
37. **Franiek N, Orth D, Grif K, Ewers C, Wieler LH, Thalhammer JG, Würzner R.** (2012). [ESBL-producing *E. coli* and EHEC in dogs and cats in the Tyrol as possible source of human infection]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* **125**, 469-75.
38. **Fritsche TR, Castanheira M, Miller GH, Jones RN, Armstrong ES.** (2008). Detection of methyltransferases conferring high-level resistance to aminoglycosides in *Enterobacteriaceae* from Europe, North America, and Latin America. *Antimicrob Agents Chemother.* **52**, 1843-5.
39. **Frost LS, Koraimann G.** (2010). Regulation of bacterial conjugation: balancing opportunity with adversity. *Future Microbiol.* **5**, 1057-71.

40. **Gandolfi-Decristophoris P, Petrini O, Ruggeri-Bernardi N, Schelling E.** (2013). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in healthy companion animals living in nursing homes and in the community. *Am J Infect Control.* **41**, 831-5.
41. **Gibson JS, Cobbold RN, Heisig P, Sidjabat HE, Kyaw-Tanner MT, Trott DJ.** (2010). Identification of Qnr and AAC(6')-1b-cr plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in multidrug-resistant *Enterobacter spp.* isolated from extraintestinal infections in companion animals. *Vet Microbiol.* **143**, 329-36.
42. **Giraud-Morin C, Fosse T.** (2008). Recent evolution and characterization of extended-spectrum beta-lactamase producing enterobacteria in the CHU of Nice (2005-2007). *Pathol Biol (Paris).* **56**, 417-23.
43. **Guardabassi L, Schwarz S, Lloyd DH.** (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *J. Antimicrob. Chemother.* **54**, 321–332.
44. **Guo S, Wakeham D, Brouwers HJ, Cobbold RN, Abraham S, Mollinger JL, Johnson JR, Chapman TA, Gordon DM, Barrs VR, Trott DJ.** (2015). Human-associated fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* clonal lineages, including ST354, isolated from canine feces and extraintestinal infections in Australia. *Microbes Infect.* **17**, 266-74.
45. **Haenni M, Saras E, Métayer V, Médaille C, Madec JY.** (2014). High prevalence of *bla*CTX-M-1/IncI1/ST3 and *bla*CMY-2/IncI1/ST2 plasmids in healthy urban dogs in France. *Antimicrob Agents Chemother.* **58**, 5358-62.
46. **Hamouche E, Sarkis DK.** (2012). Evolution of susceptibility to antibiotics of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*, in a University hospital center of Beirut between 2005 and 2009. *Pathol Biol (Paris).* **603**, 15-20.
47. **Harada K, Niina A, Shimizu T, Mukai Y, Kuwajima K, Miyamoto T, Kataoka Y.** (2014). Phenotypic and molecular characterization of antimicrobial resistance in *Proteus mirabilis* isolates from dogs. *J Med Microbiol.* **63**, 1561-7.
48. **Harder KJ, Nikaido H, Matsushashi M.** (1981). Mutants of *Escherichia coli* that are resistant to certain beta-lactam compounds lack the ompF porin. *Antimicrob Agents Chemother.* **20**, 549-52.
49. **Hawkey PM, Ensor VM, Jamal W, Rotimi VO, Evans JT.** (2009). Predominance of CTX-M-15 extended spectrum beta-lactamases in diverse *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from hospital and community patients in Kuwait. *Int J Antimicrob Agents.* **335**, 487-9.

50. **Ho PL, Chow KH, Lai EL, Lo WU, Yeung MK, Chan J, Chan PY, Yuen KY.** (2011). Extensive dissemination of CTX-M-producing *Escherichia coli* with multidrug resistance to critically important' antibiotics among food animals in Hong Kong, 2008-10. *J Antimicrob Chemother.* **66**, 765-8.
51. **Ho PL, Yeung MK, Lo WU, Tse H, Li Z, Lai EL, Chow KH, To KK, Yam WC.** (2012). Predominance of pHK01-like incompatibility group FII plasmids encoding CTX-M-14 among extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in Hong Kong, 1996-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **73**, 182-6.
52. **Hordijk J, Schoormans A, Kwakernaak M, Duim B, Broens E, Dierikx C, Mevius D, Wagenaar JA.** (2013). High prevalence of fecal carriage of extended spectrum  $\beta$ -lactamase/AmpC-producing *Enterobacteriaceae* in cats and dogs. *Front Microbiol.* **4**, 242.
53. **Huber H, Zweifel C, Wittenbrink MM, Stephan R.** (2013). ESBL-producing uropathogenic *Escherichia coli* isolated from dogs and cats in Switzerland. *Vet Microbiol.* **162**, 992-6.
54. **Jackson CR, Davis JA, Frye JG, Barrett JB, Hiott LM.** (2015). Diversity of Plasmids and Antimicrobial Resistance Genes in Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Healthy Companion Animals. *Zoonoses Public Health.* **4**. doi: 10.1111/zph.12178.
55. **Jacoby GA.** (2009). AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* **221**, 161-82.
56. **Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A.** (1988). Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis.* **10**, 867-78.
57. **Jeong SH, Bae IK, Park KO, An YJ, Sohn SG, Jang SJ, Sung KH, Yang KS, Lee K, Young D, Lee SH.** (2006). Outbreaks of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* producing carbapenemases in Korea. *J Microbiol.* **44**, 423-31.
58. **Jin DJ, Gross CA.** (1988). Mapping and sequencing of mutations in the *Escherichia coli* rpoB gene that lead to rifampicin resistance. *J Mol Biol.* **52021**, 45-58.
59. **Kellogg CA, Griffin DW.** (2006). Aerobiology and the global transport of desert dust. *Trends Ecol Evol.* **21**, 638-44.
60. **Kocsis B, Mazzariol A, Kocsis E, Koncan R, Fontana R, Cornaglia G.** (2013). Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* strains isolated in North-East Italy. *J Chemother.* **25**, 36-40.



61. **Lamber EP, Vanhille L, Textor LC, Kachalova GS, Sieweke MH, Wilmanns M.** (2008). Regulation of the transcription factor Ets-1 by DNA-mediated homo-dimerization. *EMBO J.* **27**, 2006-17.
62. **Lambert T, Rudant E, Courvalin P.** (1997). Loss of intrinsic aminoglycoside resistance in *Acinetobacter haemolyticus* as a result of three distinct types of alterations in the aac(6')-Ig gene, including insertion of IS17. *Antimicrob Agents Chemother.* **41**, 2646-51.
63. **Le Turnier S, Nordmann P, Eb F, Mammeri H.** (2009). Potential evolution of hydrolysis spectrum for AmpC beta-lactamase of *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemother.* **63**, 216-8.
64. **Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y.** (2010). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother.* **83**, 149–152.
65. **Leite-Martins, Liliana R., MAHÚ, Maria I.M., COSTA, Ana L., MENDES, Ângelo, LOPES, Elisabete, MENDONÇA, Denisa M.V., NIZA-RIBEIRO, João J.R., DE MATOS, Augusto J.F. et DA COSTA, Paulo Martins.** (2014). Prevalence of antimicrobial resistance in enteric *Escherichia coli* from domestic pets and assessment of associated risk markers using a generalized linear mixed model. *Preventive Veterinary Medicine.* **117**, 28-39.
66. **Liao XP, Liu BT, Yang QE, Sun J, Li L, Fang LX, Liu YH.** (2013). Comparison of plasmids coharboring 16s rRNA methylase and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes among *Escherichia coli* isolates from pets and poultry. *J Food Prot.* **76**, 2018-23.
67. **Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N.** (2007). CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* **59**, 165-74.
68. **Livermore DM.** (1992). Interplay of impermeability and chromosomal beta-lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* **36**, 2046-8.
69. **Livermore DM, Struelens M, Amorim J, Baquero F, Bille J, Canton R, Henning S, Gatermann S, Marchese A, Mittermayer H, Nonhoff C, Oakton KJ, Praplan F, Ramos H, Schito GC, Van Eldere J, Verhaegen J, Verhoef J, Visser MR.** (2002). Multicentre evaluation of the VITEK 2 Advanced Expert System for interpretive reading of antimicrobial resistance tests. *J Antimicrob Chemother.* **49**, 289-300.

70. **Lv L, Partridge SR, He L, Zeng Z, He D, Ye J, Liu JH.** (2013). Genetic characterization of IncI2 plasmids carrying *bla*CTX-M-55 spreading in both pets and food animals in China. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**, 2824-7.
71. **Ma J, Zeng Z, Chen Z, Xu X, Wang X, Deng Y, Lü D, Huang L, Zhang Y, Liu J, Wang M.** (2009). High prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants *qnr*, *aac*(6)-Ib-cr, and *qepA* among ceftiofur-resistant *Enterobacteriaceae* isolates from companion and food-producing animals. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**, 519-24.
72. **Martin I, Sawatzky P, Liu G, Allen V, Lefebvre B, Hoang L, Lovgren M, Haldane D, Caesele PV, Horsman G, Garceau R, Ratnam S, Wong T, Gilmour M.** (2013). Antimicrobial susceptibilities and distribution of sequence types of *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Canada: 2010. *Can J Microbiol.* **59**, 671-8.
73. **Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y.** (1988). Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother.* **32**, 1243-6.
74. **Mendonça N, Manageiro V, Robin F, Salgado MJ, Ferreira E, Caniça M, Bonnet R.** (2008). The Lys234Arg substitution in the enzyme SHV-72 is a determinant for resistance to clavulanic acid inhibition. *Antimicrob Agents Chemother.* **52**, 1806-11.
75. **Moreno A, Bello H, Guggiana D, Domínguez M, González G.** (1988). Extended-spectrum beta-lactamases belonging to CTX-M group produced by *Escherichia coli* strains isolated from companion animals treated with enrofloxacin. *Vet Microbiol.* **129**, 203-8.
76. **Murphy CP, Reid-Smith RJ, Boerlin P, Weese JS, Prescott JF, Janecko N, McEwen SA.** (2012). Out-patient antimicrobial drug use in dogs and cats for new disease events from community companion animal practices in Ontario. **533**, 291-8.
77. **Murphy C, Reid-Smith RJ, Prescott JF, Bonnett BN, Poppe C, Boerlin P, Weese JS, Janecko N, McEwen SA.** (2009). Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: A preliminary study. *Canadian Veterinary Journal.* **50**, 1047–1053.
78. **Nelson EC, Elisha BG.** (1999). Molecular basis of AmpC hyperproduction in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* **43**, 957-9.
79. **Neu HG.** (1987). The biochemical basis of antimicrobial and bacterial resistance. *Bull New York Acad Med.* **63**, 295-317.

80. **Nikaido H.** (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev.* **67**, 593-656.
81. **Nordmann P, Carrer A.** (2010). Carbapenemases in *Enterobacteriaceae*. *Arch Pediatr.* **4**, 154-62.
82. **Nordmann P, Poirel L.** (2014). Emerging and important antibiotic resistance in Gram negative bacteria: epidemiology, theory and practice. *Rev Med Suisse.* **10**, 902-7.
83. **O'Keefe A, Hutton TA, Schifferli DM, Rankin SC.** (2010). First detection of CTX-M and SHV extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* urinary tract isolates from dogs and cats in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* **54**, 3489-92.
84. **Okubo T, Sato T, Yokota S, Usui M, Tamura Y.** (2014). Comparison of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolated from dogs and humans in Hokkaido, Japan. *J Infect Chemother.* **20**, 243-9.
85. **Paterson, D. Li., and R. A. Bonomo.** (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin. Microbiol. Rev.* **18**, 657-686.
86. **Pitout JD.** (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **10**, 1165-76.
87. **Poirel L, Nordmann P, Ducroz S, Boulouis HJ, Arné P, Millemann Y.** (2013). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type ST274 in companion animals. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**, 2372-5.
88. **Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P.** (2011). Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **70**, 119-23.
89. **Poole K.** (2005). Efflux-mediated antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother.* **56**, 20-51.
90. **Robin F, Delmas J, Machado E, Bouchon B, Peixe L, Bonnet R.** (2011). Characterization of the Novel CMT Enzyme TEM-154. *Antimicrob Agents Chemother.* **55**, 1262-5.
91. **Rocha-Gracia RC, Cortés-Cortés G, Lozano-Zarain P, Bello F, Martínez-Laguna Y, Torres C.** (2015). Faecal *Escherichia coli* isolates from healthy dogs harbour CTX-M-15 and CMY-2  $\beta$ -lactamases. *Vet J.* **203**, 315-9.

92. Rosa AC, Carneiro LA, Lins MC, Garcia FR, Silva AP, Mauller PM, Alves GB, Andrade JR, Freitas-Almeida AC, Queiroz ML. (2006). Phenotypic and genotypic characterization of *Escherichia coli* strains serogrouped as enteropathogenic *E. coli* (EPEC) isolated from pasteurised milk. *Int J Food Microbiol.* **108**, 15-21.
93. Sallem RB1, Gharsa H, Slama KB, Rojo-Bezares B, Estepa V, Porres-Osante N, Jouini A, Klibi N, Sáenz Y, Boudabous A, Torres C. (2013). First detection of CTX-M-1, CMY-2, and QnrB19 resistance mechanisms in fecal *Escherichia coli* isolates from healthy pets in Tunisia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **13**, 98-102.
94. Salome N, Seiffert HM, Perreten V, Endimiani A. (2013). Extended-spectrum cephalosporin-resistant Gram-negative organisms in livestock: an emerging problem for human health. *Drug Resist Update.* **16**, 22-45.
95. Schaufler K, Bethe A, Lübke-Becker A, Ewers C, Kohn B, Wieler LH, Guenther S. (2015). Putative connection between zoonotic multiresistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in dog feces from a veterinary campus and clinical isolates from dogs. *Infect Ecol Epidemiol.* **4**, 5-25334.
96. Schmidt VM, Pinchbeck GL, Nuttall T, McEwan N, Dawson S, Williams NJ. (2015). Antimicrobial resistance risk factors and characterisation of faecal *E. coli* isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom. *Prev Vet Med.* **119**, 31-40.
97. Schmiedel J, Falgenhauer L, Domann E, Bauerfeind R, Prenger-Berninghoff E, Imirzalioglu C, Chakraborty T. (2014). Multiresistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiol.* **14**, 187.
98. Schwarz S, Chaslus-Dancla E. (2001). Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Vet Res.* **32**, 201-25.
99. Seghers L, Walenbergh-van Veen M, Salome J, Hamberg P. (2013). Cyanide intoxication by apricot kernel ingestion as complimentary cancer therapy. **719**, 496-8.
100. Shaheen BW, Nayak R, Foley SL, Boothe DM. (2013). Chromosomal and plasmid-mediated fluoroquinolone resistance mechanisms among broad spectrum-cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates recovered from companion animals in the USA. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**, 1019-24.

101. Shaheen BW, Nayak R, Foley SL, Kweon O, Deck J, Park M, Raffi F, Boothe DM. (2011). Molecular characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins in clinical *Escherichia coli* isolates from companion animals in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **55**, 5666–5675.
102. Sidjabat HE, Chin JJ, Chapman T, Wu K, Ulett GC, Ong CY, Schembri MA, Johnson JR, Trott DJ. (2009). Colonisation dynamics and virulence of two clonal groups of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from dogs. *Microbes Infect*. **1**, 100-7.
103. Sidjabat HE, Hanson ND, Smith-Moland E, Bell JM, Gibson JS, Filippich LJ, Trott DJ. (2007). Identification of plasmid-mediated extended-spectrum and AmpC beta-lactamases in *Enterobacter* spp. isolated from dogs. *J Med Microbiol*. **56**, 426-34.
104. Sidjabat HE, Townsend KM, Lorentzen M, Gobius KS, Fegan N, Chin JJ, Bettelheim KA, Hanson ND, Bensink JC, Trott DJ. (2006). Emergence and spread of two distinct clonal groups of multidrug-resistant *Escherichia coli* in a veterinary teaching hospital in Australia. *J Med Microbiol*. **55**, 1125-34.
105. Siguier P, Filée J, Chandler M. (2006). Insertion sequences in prokaryotic genomes. *Curr Opin Microbiol*. **9**, 526-31.
106. Skurnik D, Lacheeb S, Bernede C, le Menac'h A, Elbaz S, Mohler J, Denamur E, Andremont A, Ruimy R. (2009). Integrons and antibiotic resistance in phylogenetic group B2 *Escherichia coli*. *Microb Drug Resist*. **15**, 173-8.
107. So JH, Kim J, Bae IK, Jeong SH, Kim SH, Lim SK, Park YH, Lee K. (2012). Dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* in Korean veterinary hospitals. *Diagn Microbiol Infect Dis*. **73**, 195-9.
108. Stolle I, Prenger-Berninghoff E, Stamm I, Scheufen S, Hassdenteufel E, Guenther S, Bethe A, Pfeifer Y, Ewers C. (2013). Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. *J Antimicrob Chemother*. **68**, 2802-8.
109. Sun Y, Zeng Z, Chen S, Ma J, He L, Liu Y, Deng Y, Lei T, Zhao J, Liu JH. (2010). High prevalence of *bla*(CTX-M) extended-spectrum  $\beta$ -lactamase genes in *Escherichia coli* isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. *Clin Microbiol Infect*. **16**, 1475-81.
110. Tamang MD, Gurung M, Kang MS, Nam HM, Moon DC, Jang GC, Jung SC, Park YH, Lim SK. (2014). Characterization of plasmids encoding CTX-M  $\beta$ -lactamase and their addiction systems in *Escherichia coli* isolates from animals. *Vet Microbiol*. **174**, 456-62.

111. **Tamang MD, Nam HM, Jang GC, Kim SR, Chae MH, Jung SC, Byun JW, Park YH, Lim SK.** (2012). Molecular characterization of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing and plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from stray dogs in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother.* **56**, 2705-12.
112. **Thomas CMa, Nielsen KM.** (2005). Mechanisms of, and barriers to horizontal gene transfer between bacteria. *Nat Rev Microbiol.* **39**, 711-21.
113. **Timofte D, Dandrieux J, Wattret A, Fick J, Williams NJ.** (2011). Detection of extended-spectrum-beta-lactamase-positive *Escherichia coli* in bile isolates from two dogs with bacterial cholangiohepatitis. *J Clin Microbiol.* **49**, 3411-4.
114. **Touati A, Benallaoua S, Forte D, Madoux J, Brasme L, de Champs C.** (2006). First report of CTX-M-15 and CTX-M-3 beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Béjaia, Algeria. *Int J Antimicrob Agents.* **27**, 397-402.
115. **Valentin L, Sharp H, Hille K, Seibt U, Fischer J, Pfeifer Y, Michael GB, Nickel S, Schmiedel J, Falgenhauer L, Friese A, Bauerfeind R, Roesler U, Imirzalioglu C, Chakraborty T, Helmuth R, Valenza G, Werner G, Schwarz S, Guerra B, Appel B, Kreienbrock L, Käsbohrer A.** (2014). Subgrouping of ESBL-producing *Escherichia coli* from animal and human sources: an approach to quantify the distribution of ESBL types between different reservoirs. *Int J Med Microbiol.* **304**, 805-16.
116. **Van Den Bogaard AE<sup>1</sup>, London N, Stobberingh EE.** (2000). Antimicrobial resistance in pig faecal samples from the Netherlands (five abattoirs) and Sweden. *J Antimicrob Chemother.* **45**, 663-71.
117. **Vingopoulou EI, Siarkou VI, Batzias G, Kaltsogianni F, Sianou E, Tzavaras I, Koutinas A, Saridomichelakis MN, Sofianou D, Tzelepi E, Miriagou V.** (2014). Emergence and maintenance of multidrug-resistant *Escherichia coli* of canine origin harbouring a *bla*CMY-2-IncII/ST65 plasmid and topoisomerase mutations. *J Antimicrob Chemother.* **69**, 2076-80.
118. **Vodovar D, Marcadé G, Raskine L, Malissin I, Mégarbane B.** (2013). *Enterobacteriaceae* producing extended spectrum beta-lactamase: epidemiology, risk factors, and prevention. *Rev Med Interne.* **3411**, 687-93.
119. **Wagner S, Gally DL, Argyle SA.** (2014). Multidrug-resistant *Escherichia coli* from canine urinary tract infections tend to have commensal phylotypes lower prevalence of virulence determinants and ampC-replicons. *Vet Microbiol.* **169**, 171-8.

- 120. Walther-Rasmussen J, Høiby N. OXA-type carbapenemases.** (2006). *J Antimicrob Chemother.* **57**, 373-83.
- 121. Warren RE, Harvey G, Carr R, Ward D, Doroshenko A.** (2008). Control of infections due to extended-spectrum beta-lactamase-producing organisms in hospitals and the community. *Clin Microbiol Infect.* **14**, 293.
- 122. Wedley AL, Maddox TW, Westgarth C, Coyne KP, Pinchbeck GL, Williams NJ, Dawson S.** (2011). Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in dogs in a cross-sectional, community-based study. *Vet Rec.* **168**, 354.
- 123. White D, Chen W.** (2006). Genetic transformation of *Ascochyta rabiei* using *Agrobacterium-mediated* transformation. *Curr Genet.* **4**, 272-80.
- 124. Wu G, Day MJ, Mafura MT, Nunez-Garcia J, Fenner JJ, Sharma M, van Essen-Zandbergen A, Rodríguez I, Dierikx C, Kadlec K, Schink AK, Chattaway M, Wain J, Helmuth R, Guerra B, Schwarz S, Threlfall J, Woodward MJ, Woodford N, Coldham N, Mevius D.** (2013). Comparative analysis of ESBL-positive *Escherichia coli* isolates from animals and humans from the UK, The Netherlands and Germany. *PLoS One.* **26**, 75392.
- 125. Yong D, Lee K, Yum JH, Shin HB, Rossolini GM, Chong Y.** (2002). Imipenem-EDTA disk method for differentiation of metallo-beta-lactamase-producing clinical isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. *J Clin Microbiol.* **40**, 3798.
- 126. Ziha-Zarifi I, Llanes C, Köhler T, Pechere JC, Plesiat P.** (1999). In vivo emergence of multidrug-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa* overexpressing the active efflux system MexA-MexB-OprM. *Antimicrob Agents Chemother.* **432**, 287-91.

# ANNEXE I

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

### Gélose Mac Conkey

Peptone de caséine .....	17 g
Peptone de viande .....	3 g
Lactose .....	10 g
Mélange de sels biliaires .....	1.5 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Rouge neutre .....	0.03 g
Cristal violet .....	0.001 g

pH 7.3

### Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de bœuf .....	3 g
Hydrolysate de caséine .....	17.5 g
Amidon .....	1.5 g
Agar .....	17 g

pH 7,4

### Gélose TSI

Extrait de viande de bœuf .....	3 g
Extrait de levure .....	3 g
Peptone tryptique .....	20 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Citrate ferrique .....	0.3 g
Thiosulfate de sodium .....	0.3 g
Lactose .....	10 g
Glucose .....	1 g
Saccharose .....	10 g
Rouge de phénol .....	0.05 g
Agar .....	12 g



pH 7.4

### **Milieu Urée-Indole**

L-tryptophane .....	3 g
Phosphate monopotassique .....	1 g
Phosphate bipotassique .....	1 g
Chlorure de sodium .....	5 g
Urée .....	20 g
Alcool à 90° .....	10 ml
Rouge de phénol .....	0.025 g

pH 7

### **Milieu Clark-Lubs**

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

pH 7

### **Milieu Citrate de simmons**

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

pH 7.0-7.2

### **Gélose mannitol-mobilité**

Peptone tryptique de viande .....	20 g
Mannitol .....	2 g
KNO <sub>3</sub> .....	1 g
Rouge de phénol à 1% .....	0.04 g

Agar ..... 4 g

pH 7.6

### **Bouillon Trypticase soja**

Peptone tryptique de caséine .....17 g

Peptone papainique de soja ..... 3 g

Chlorure de sodium .....5 g

Phosphate bipotassique .....2 g

Glucose ..... 2 g

pH 7.3

### **Bouillon Luria**

Peptone ..... 10 g

Extrait de levures ..... 5 g

NaCl ..... 10 g

pH 7.0±0.2

### **Gélose Luria**

Peptone ..... 10 g



























Extrait de levures ..... 5 g

NaCl ..... 10 g

Agar .....17.5g

pH 7.0±0.2

## ANNEXE II

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

## ANNEXE III

**Tableau XIV:** Les prélèvements recueillis au cours de notre étude

<b>Code</b>	<b>Lieu</b>	<b>Animal</b>	<b>Observation</b>
1	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
2	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
3	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
4	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
5	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
6	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
7	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
8	Vétérinaire	Chien	Gastro
9	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
10	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
11	Vétérinaire	Chat	vermifications
12	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
13	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
14	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
15	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
16	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
17	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
18	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
19	Vétérinaire	Chat	Gastro
20	Vétérinaire	Chat	vermifications
21	Vétérinaire	Chat	Gastro
22	Vétérinaire	Chat	toux
23	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
24	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
25	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
26	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
27	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
28	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
29	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
30	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
31	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
32	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
33	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
34	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
35	Vétérinaire	Chat	Bonne santé

36	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
37	Vétérinaire	chien	Bonne santé
38	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
39	Vétérinaire	Chien	dermato
40	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
41	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
42	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
43	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
44	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
45	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
46	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
47	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
48	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
49	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
50	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
51	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
52	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
53	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
54	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
55	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
56	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
57	Vétérinaire	Chien	fracture
58	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
59	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
60	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
61	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
62	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
63	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
64	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
65	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
66	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
67	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
68	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
69	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
70	Vétérinaire	Chien	Salivation
71	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
72	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
73	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
74	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
75	Vétérinaire	Chien	Infection vaginale
76	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
77	Privé	Chien	Bonne santé
78	Vétérinaire	Chien	Bonne santé

<b>79</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>80</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>81</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>82</b>	Vétérinaire	Chat	Salivation
<b>83</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>84</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>85</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>86</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>87</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>88</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>89</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>90</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>91</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>92</b>	Vétérinaire	Chat	Ophtalmo
<b>93</b>	Privé	chien	tumeur
<b>94</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>95</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>96</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>97</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>98</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>99</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>100</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>101</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>102</b>	Vétérinaire	Chien	Ecoulement nasal
<b>103</b>	Vétérinaire	chat	Ecoulement nasal
<b>104</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>105</b>	Vétérinaire	chat	Ecoulement nasal
<b>106</b>	Vétérinaire	Chien	plaie
<b>107</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>108</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>109</b>	Vétérinaire	chat	Gastro
<b>110</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>111</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>112</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>113</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>114</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>115</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>116</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>117</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>118</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>119</b>	Vétérinaire	chien	Bonne santé
<b>120</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>121</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé

<b>122</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>123</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>124</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>125</b>	Vétérinaire	Chien	Ictère
<b>126</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>127</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>128</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>129</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>130</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>131</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>132</b>	Vétérinaire	Chat	Grippe
<b>133</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>134</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>135</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>136</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>137</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>138</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>139</b>	Privé	chien	Bonne santé
<b>140</b>	Vétérinaire	chien	Bonne santé
<b>141</b>	Vétérinaire	chien	Bonne santé
<b>142</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>143</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>144</b>	Vétérinaire	chien	Bonne santé
<b>145</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>146</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>147</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>148</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>149</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>150</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>151</b>	Privé	Chien	tumeur
<b>152</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>153</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>154</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>155</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>156</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>157</b>	Vétérinaire	chat	Bonne santé
<b>158</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>159</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>160</b>	Privé	chat	Bonne santé
<b>161</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>162</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>163</b>	Privé	Chat	Bonne santé
<b>164</b>	Privé	Chien	Bonne santé

<b>165</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>166</b>	Privé	chat	Bonne santé
<b>167</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>168</b>	Privé	Chien	Bonne santé
<b>169</b>	Vétérinaire	Chien	Crises épileptiques
<b>170</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>171</b>	Vétérinaire	Chien	fracture
<b>172</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>173</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>174</b>	Vétérinaire	Chien	tumeur
<b>175</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>176</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>177</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>178</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>179</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>180</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>181</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>182</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>183</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>184</b>	Vétérinaire	Chien	Indigestion
<b>185</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>186</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>187</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>188</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>189</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>190</b>	Vétérinaire	Chat	Grippe
<b>191</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>192</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>193</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>194</b>	Vétérinaire	Chat	Trachéobronchite
<b>195</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>196</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>197</b>	Vétérinaire	Chat	Grippe
<b>198</b>	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
<b>199</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
<b>200</b>	Vétérinaire	Chien	Bonne santé





## Résumé

L'objectif de notre étude est l'étude du portage fécale des souches d'*E. coli* résistantes aux  $\beta$ -lactamines à Spectre Étendu isolées d'animaux de compagnie dans la ville de Bejaia.

Après enrichissement dans du bouillon nutritif, 200 $\mu$ l du bouillon ont été ensemencés sur gélose de Mac-Concky additionnée de 1 $\mu$ g/ml de céftazidime ou de 0,5  $\mu$ g/ml d'imipénème. La production d'une  $\beta$ -lactamase à Spectre Étendu a été détectée par le teste de synergie (DD-teste), la production d'AmpC est détectée par l'inhibition à la cloxacilline et la production de carbapénèmases par le Hodge test, Carba-NP test et l'inhibition par l'EDTA. Une caractérisation moléculaire des gènes carbapénèmases à été également réalisée.

Au totale 33 souches d'*E. coli* résistantes aux  $\beta$ -lactamines ont été sélectionnées. La caractérisation phénotypique à montré que 25(75,5%) souches sont productrices de BLSE, 3(9%) sont productrices d'AmpC et 5(15,15%) produisent des carbapénèmases. La PCR a révélée que 4 souches sont productrices d'OXA-48 et une souche productrice de NDM-5.

A notre connaissance, l'isolement de souches d'*E. coli* productrices de BLSE, AmpC et de carbapénèmases isolée d'animaux de compagnies n'a pas encore été rapporté en Algérie.

**Mots clés :** Animaux de compagnies, résistance aux  $\beta$ -lactamines, *E. coli*, Algérie

## Abstract

The fecal carriage of extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL), AmpC and carbapenemase producing *Escherichia coli* in companion animals was investigated.

Rectal swabs from 200 companion animals (dogs and cats) were obtained from veterinary office and private owners in Bejaia. After enrichment in nutrient broth, 200  $\mu$ l of broth were streaked on selective Mac Conkey agar containing 1 $\mu$ l/ml of ceftazidime or 0,5  $\mu$ l/ml of imipenem. Antibiotics susceptibility was tested on Mueller Hinton agar. ESBLs were detected by DD-test, AmpC was detected by cloxacillin inhibition and carbapenemases were detected by Hodge test, Carba-NP test and EDTA inhibition. Molecular characterization of carbapenemase gene was done.

A total of 33 *E. coli* isolates resistant to expanded spectrum beta-lactams were selected. Phenotypic characterization allowed to identify 25 (75,5%) isolates producing an ESBL phenotype, 3(9%) isolates produced an AmpC phenotype and 5(15,15%) isolates showed carbapenemase activity in which in one isolate, was inhibited by EDTA. PCR and sequencing showed that four isolates carried OXA-48 and one isolate carried NDM-5.

To our knowledge, this is the first description of ESBL, AmpC and carbapenemase-producing *E. coli* from companion animals in Algeria.

**Key words:** Companion animals,  $\beta$ -lactams resistance, *E. coli*, Algeria

## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقديم المقاومة للمضادات الحيوية عند سلالات المعزولة من عند الحيوانات الأليفة على مستوى العيادة البيطرية خلال الفترة الممتدة بين نوفمبر 2014 و أبريل 2015. بعد عزل السلالات على وسط الماككونكي المضاف اليه المضاد الحيوي, تمت دراسة حساسة تجاه البنالكتمينات بطريقة الأفراس و تم إجراء اختبارات مظهرية للكشف على البنالكتميزات.

تم عزل 33 عينة *E. coli* وكانت غالبية السلالات المختبرة مقاومة لجميع المضادات الحيوية تقريبا. ترجع المقاومة البنالكتمينات إلى إنتاج ثلاثة أنواع من الأنزيمات منها 25 (75%) منتجة للبالاسور, 5 (15.15%) للكربابنيمازو و 3 (9%) منتجة لسفلوسبريناز. التحليل الجيني بين وجود OXA-48 عند 4 عينات و NDM-5 عند عينة واحدة.

الكلمات المفتوحة: الحيوانات الأليفة, المقاومة للمضادات الحيوية, *E. coli*, الجزائر.