

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie Alimentaire et Santé



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Recherche des souches d'entérobactéries productrices de BLSE
et des souches d'entérobactéries productrices de
carbapénèmases dans la nourriture pour animaux de
compagnie**

Présenté par : ***BOUALI Imène***

Soutenu le : **16 Juin 2016**

Devant le jury composé de :

Mr. AISSAT. K	Professeur	Président
Mr. TOUATI. A	Professeur	Encadreur
Mme. LAINCER. F	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2015/2016

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon promoteur, le Pr. A. TOUATI pour son aide, sa disponibilité et conseils précieux durant la réalisation de ce travail.

Je remercie Ma Co-promotrice M^{elle} M. Yousfi pour son aide, et sa patience durant la réalisation ce travail.

Mes remerciements vont aussi aux membres du jury pour avoir accepter d'examiner ce travail.

Je remercie également M^{elle} A. Mairi pour sa contribution fructueuse à la réalisation de ce travail.

Et un grand merci a tous les propriétaires privé d'animaux de compagnie pour leur aimable accueil, le temps consacré et leur aide précieuse dans la réalisation de la partie prélèvements.

.

DEDICACES

A mes parents pour toute leur affection, les sacrifices consentis à mon égard, leur soutien et leurs encouragements, qui m'ont permis d'aller de l'avant.

A ma grand-mère Fatma Zohra, ma grande sœur Manel, ainsi que mes deux petits frères Fares et Fayçal.

Sommaire

Liste des abréviations

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

Matériel et Méthode

1. Souches bactériennes	5
1.1. Prélèvements	5
1.2. Isolement et identification	5
2. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	6
3.1. Recherche de la production d'une β -lactamase à Spectre Etendu	6
3.2. Recherche de la production d'une carbapénèmase	6
4. Etude statistique	8

Résultats

1. souches bactériennes	9
2. Analyse des phénotypes de résistance	9
2.1. DD-test	9
2.2. Hodge test et carba NP test modifié	10
3. Portage fécal des souches d'entérobactéries productrices de BLSE	11
4. Portage fécal des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases	11
5. Taux de contamination de la nourriture par les EBLSE	12
6. Taux de contamination de la nourriture par les souches d'EPC	12
7. Etude de la transmission des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamine de la nourriture ver les animaux de compagnie	12

Discussion et conclusion	13
---------------------------------	-----------

Références bibliographiques	16
------------------------------------	-----------

Liste des Abréviations

AMC: Amoxicilline-clavulanate
BLSE : Bêta-Lactamases à Spectre Etendu
CAZ: Ceftazidime
CTAB: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
CTX: Céfotaxime
DD-test : Double Disc synergie test
EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique
EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
EPC : Entérobactéries productrice de carbapénèmase
ERT : Ertapénème
FEP: Céfépime
IMP: Imipénème
KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase
MβL: Métallo-β-Lactamases
MAC : Mac Conkey
MH : Mueller Hinton
NDM : New Delhi Metallo-β-lactamases
OXA : Oxacilline

Introduction

La découverte des antibiotiques fut un réel tournant pour la thérapeutique des maladies infectieuses humaines et animales. Cependant, très rapidement après le début de leur utilisation, des phénomènes de résistance ont été détectés chez les bactéries pathogènes (Giguere et *al.*, 2007).

Les bactéries isolées chez les animaux et l'Homme partagent les mêmes mécanismes de résistance. De plus, les familles d'antibiotiques utilisées couramment en thérapeutique sont les mêmes en médecine humaine et vétérinaire (Leite-Martins et *al.*, 2014). Ainsi, il est facile d'imaginer que les résistances développées par des bactéries rencontrées en médecine vétérinaire peuvent se retrouver chez des bactéries rencontrées en médecine humaine (Wu et *al.*, 2013).

L'évaluation de la multirésistance chez les animaux de compagnie est difficile, car il ya peu de programmes de surveillance en comparaison aux données disponibles pour les animaux d'élevage, et les données disponibles proviennent généralement d'études rétrospectives d'isolats cliniques (Weese, 2008). C'est un domaine important, en particulier en raison du potentiel bidirectionnel de l'infection avec les humains, et de l'émergence de la résistance dans les cliniques vétérinaires (Scott, 2008).

En médecine vétérinaire, les β -lactamines sont sans doute la classe d'antibiotique la plus largement utilisée pour le traitement des infections bactériennes, y compris celles causées par les entérobactéries (Trott, 2013). La résistance aux β -lactamines est le plus souvent due à la production de β -lactamases qui inactivent les β -lactamines par hydrolyse. Parmi les β -lactamases les plus importantes identifiées chez les entérobactéries, on trouve les β -lactamases à

spectre étendu (BLSE) et les carbapénèmases (Jacoby et Munoz-Price, 2005 ; Nordmann et *al.*, 2011).

Alors que l'émergence et la diffusion de BLSE est une grave menace pour l'avenir des β -lactamines, la définition de BLSE demeure quelque peu ambiguë. Classiquement, les BLSE sont définis comme étant des enzymes ayant évolué à partir d'enzymes mères à spectre étroit (TEM-1, SHV-1), qui ont une activité hydrolytique contre les céphalosporines à large spectre (ceftazidime ou céfotaxime) les pénicillines et l'aztréonam mais n'ont aucune activité apparente sur les céphamycines ou les carbapénèmes, et sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases tels que l'acide clavulanique (Rubin et *al.*, 2014). Les entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) sont isolées avec une fréquence croissante à partir de prélèvements humains et animaux, et de nombreuses études décrivent également des isolats d'entérobactéries productrices de BLSE dans les aliments (Carattoli, 2008).

L'émergence de la résistance aux carbapénèmes par production de carbapénèmases représente une étape supplémentaire vers la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries (Livermore, 2009). Ces carbapénèmases sont de différents types : les métallobêtalactamases (IMP, VIMP), les carbapénèmases de classe A (KPC, GES, etc.) et les oxacillinases (Poirel et *al.*, 2007). La présence d'isolats producteurs de carbapénèmases chez les animaux de compagnie représente un problème émergent et peut constituer une menace grave pour la santé publique.

La résistance aux antibiotiques peut-être inhérente à une espèce ou à un genre bactérien (résistance naturelle ou intrinsèque). Par contre, la résistance peut être

acquise par certaines souches chez une espèce habituellement sensible à l'antibiotique considéré. Cette acquisition peut-être liée à une mutation d'un gène déjà présent chez la bactérie ou à l'acquisition de matériel génétique porté par un élément mobile, plasmide ou transposon. Le risque de transfert de gènes de résistance de bactéries vivantes (ou même mortes) présentes chez l'animal ou dans l'alimentation, à des bactéries pathogènes pour l'Homme est lié en partie aux bases génétiques de la résistance. La résistance intrinsèque et la résistance par mutations sont supposées présenter un risque minimum de dissémination de gènes, alors que les résistances acquises portées par des éléments génétiques mobiles sont considérées comme ayant un fort potentiel de dissémination (Afssa, 2002).

En d'autres termes, les résistances portées par des éléments mobiles peuvent intégrer le génome d'une espèce bactérienne qui en était dépourvu auparavant, s'y stabiliser et contribuer ainsi à l'adaptation de cette espèce à son environnement. Ainsi, l'échange d'ADN entre bactéries, même éloignées sur le plan génétique, grâce à la conjugaison, la transposition et la transformation est un phénomène naturel qui fait partie probablement des mécanismes d'évolution du vivant (Afssa, 2002).

Les chiens et les chats peuvent être un réservoir important, mais actuellement sous-estimé, de gènes de résistance aux antibiotiques. Ainsi la transmission de l'Homme à l'animal d'agents pathogènes et/ou de leurs gènes de résistance peut aussi être importante sur le plan épidémiologique. Jusqu'à présent, les animaux de compagnie n'ont pas été considérés comme des réservoirs potentiels de bactéries résistantes aux antibiotiques importants en médecine humaine. Cependant, l'émergence d'infections nosocomiales due aux bactéries multi-résistantes dans les cliniques vétérinaires a attiré l'attention sur ces animaux ayant un contact étroit avec leurs propriétaires. La diffusion de bactéries résistantes aux antibiotiques de l'animal

à l'Homme est possible et de nombreux arguments attestent de sa réalité. Les bactéries qui inquiètent le plus les experts dans le cadre de la transmission de résistances animal-Homme sont les bactéries zoonotiques et les bactéries de la flore commensale (Belas, 2015).

La chaîne alimentaire peut faire office de vecteur de transmission de bactéries et de gènes de résistance aux animaux de compagnie. Des études scientifiques soutiennent l'hypothèse d'un lien entre l'utilisation d'antibiotiques dans le secteur de l'agriculture et de l'élevage et l'émergence de souches résistantes avec l'alimentation comme moyen de transmission chez les animaux de compagnie (Zirakzadeh et Patel, 2005 ; Mayrhofer et al., 2006 ; Stine et al., 2007 ; Carattoli, 2008 ; Silbergeld et al., 2008 ; Srinivasan et al., 2008).

Plusieurs travaux de recherche sur la caractérisation des mécanismes de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées de différentes sources (clinique, vétérinaire, environnement, alimentaire,...) ont été initiés au niveau du laboratoire d'écologie microbienne depuis une décennie. Notre travail rentre dans cette thématique et a pour objectifs d'évaluer le taux de portage fécal des souches d'entérobactéries résistantes au β -lactamines isolées à partir d'animaux de compagnie, et d'étudier le rôle potentiel de la nourriture dans la transmission.

Matériel
et
Méthodes

1. Prélèvements

Au cours de notre étude (mars à mai 2016), des prélèvements fécaux par écouvillonnage rectal ont été obtenus à partir d'animaux de compagnie (chien et chat) chez des propriétaires privés, ainsi que des prélèvements de leur Aliments. Les échantillons ont été transportés dans une glacière et acheminés au laboratoire d'écologie microbienne de l'université de Bejaia pour être analysés. Le tableau I montre le nombre prélèvements de nourriture par type d'animal.

Tableau I : Nombre de prélèvements de nourriture par type d'animal.

Nourriture Animal	Chien	Chat	Total
Nourriture ménagère	18	06	24
Nourriture industrielle	02	04	06
Total	20	10	30

2. Isolement et identification

Un pré-enrichissement a été réalisé dans 1ml du Bouillon Trypticase Soja (TSB) (Institut pasteur, Alger) pour les écouvillons rectaux et dans 5ml de Tryptone Sel Eau (TSE) (Institut pasteur, Alger) pour les aliments destinée aux animaux prélevés.

Après incubation d'une heure à 37°C, un enrichissement a été réalisé par ensemencement de 50 µl des pré-enrichissements dans 180 µl de TSB additionné de vancomycine (32µg) et de céfotaxime (2µg) pour la recherche des EBLSE, et dans 180 µl de TSB additionnés de vancomycine (32µg) et d'ertapénème (0,5 µg) pour la recherche des EPC.

Après incubation à 37°C/24h, des ensemencements ont été réalisés avec 200 µl des bouillons d'enrichissement sur une gélose Mac-Conckey (Liofilchem, Italie) additionnée de céfotaxime ou d'ertapénème avec des concentrations finales de 1

µg/ml et 0.5 µg/ml respectivement. Après 24h d'incubation à 37°C, 1 à 2 colonies ont été prélevées et purifiées. (Laboratoire d'écologie microbienne)

L'identification des souches d'entérobactéries a été obtenue en utilisant une galerie API 20E (Bio-Mérieux, France)

3. Détermination des phénotypes de résistance

3.1. Recherche de la production d'une β-lactamase à Spectre

Etendu

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

3.2. Recherche de la production d'une carbapénèmase

3.2.1. Test de Hodge

Un disque d'imipénème (IMP, 10 µg) a été appliqué au centre d'une gélose de Mueller Hinton préalablementensemencée avec une souche de référence d'*Escherichia coli* ATCC 25922. Ensuite les souches à tester ont été 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 et d'un autre négatif. Après 24h d'incubation à 37°C, la production d'une carbapénèmase a été traduite par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee et *al.*, 2001).

3.2.2. 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).

Un volume de 200µl du tampon de lyse (CTAB 0.02 %) a été dispensé dans un tube Eppendorf. Nous avons dissocié une öse calibrée (10µl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse, ensuite on vortex 1 à 2 min. Nous avons réparti 100µl du lysa bactériens dans 2 tubes Eppendorf numérotés "A" et "B". 100 µL d'une solution de rouge de phénol additionnée de ZnSO₂ à 0.1M à pH ajusté à 7.5 ont été ajoutés au tube « A », et 100µL de la même solution additionnée d'imipénème à 6mg/mL ont été ajoutés au tube « B ». vortexé ensuite incubé à 37°C pendant un maximum de 2h. La lecture visuelle de la couleur a été réalisée dans chaque tube Eppendorf. Un résultat positif se traduit par l'apparition d'une couleur orange/jaune dans le tube "B", tandis que la couleur du tube "A", reste inchangée (Bakour et *al.* 2015).

3.2.3. Recherche de la production de métallo-β-lactamases (MβL)

➤ Méthode des disques combinés

Deux disques d'imipénème (IMP, 10µg) ont été déposés séparément sur la gélose Mueller Hinton préalablement ensemencée avec la souche à tester. Un volume de 5µl d'une solution d'EDTA (0.5 M, pH 8) a été ajouté à l'un des disques. De plus, un disque vierge imbibé de 5µl d'EDTA a été ajouté (Témoin). Après 18h d'incubation à 37°C, les souches dont le diamètre d'inhibition autour du disque IMP-EDTA été supérieur à celui obtenu avec le disque d'IMP seul, d'au moins 6 mm, ont été considérées comme souches productrices de MβL (Yong et *al.*, 2002).

➤ Recherche de synergie par le DD-test

Un DD-test a été réalisé avec un disque d'imipénème (IMP, 10µg) déposé à 15 mm d'un disque vierge imbibé de 10 µl de la solution d'EDTA (0,5 M, pH8). La présence d'une MβL a été détectée par visualisation d'une image de synergie entre le disque d'IMP et celui d'EDTA (Jeong et *al.*, 2006).

4. Etude statistique

Deux tests statistiques ont été effectués, le test de χ^2 et le test exact de Fisher pour vérifier la significativité entre les taux de portage des animaux de compagnie et les taux de contamination de la nourriture. La différence entre les fréquences ont été considérée comme significative lorsque $p \leq 5\%$.

Résultats

1. souches bactériennes

Au cours de notre étude, un total de 185 prélèvements rectaux effectués sur 185 animaux de compagnie (122 chiens et 63 chats) ainsi que 30 échantillons de nourriture dont 24 nourriture ménagère, et 06 nourriture industrielle ont été analysée.

L'isolement sur gélose de sélection a permis de sélectionner 37 souches d'entérobactéries résistantes, dont 23 souches sur gélose MAC+CTX et 14 souches sur gélose MAC+ERT.

L'identification par galeries API20E a permis d'identifier 29 souches d'*E. coli*, 03 souches de *Kluyvera sp*, 02 souches de *Serratia odorifera*, 02 souches d'*E. cloacae* ainsi qu'une souche de *K. pneumoniae*. Parmi elles 27 souches ont été isolées chez le chien contre 07 souches chez le chat et 03 souches dans la nourriture.

2. Analyse des phénotypes de résistance

2.1. DD-test

Le DD-test effectué sur gélose Mueller –Hinton a montré une image de synergie chez 21 souches d'entérobactéries isolées d'animaux de compagnie ainsi que 02 souches d'entérobactéries isolées de la nourriture, traduisant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches.



Image de synergie

Figure 1: Image de synergie obtenue dans le DD-test pour la souche CT29/168

2.2. Hodge test et carba NP test modifié

Le test de Hodge et le carba NP test modifié ont été positifs pour 13 souches d'entérobactéries isolées d'animaux de compagnie et une souche d'entérobactéries isolées de la nourriture, traduisant ainsi la production probable d'une carbapénémase. Cette dernière n'a pas été inhibée par l'EDTA, indiquant l'absence d'une carbapénémase de type métallo- β -lactamase.

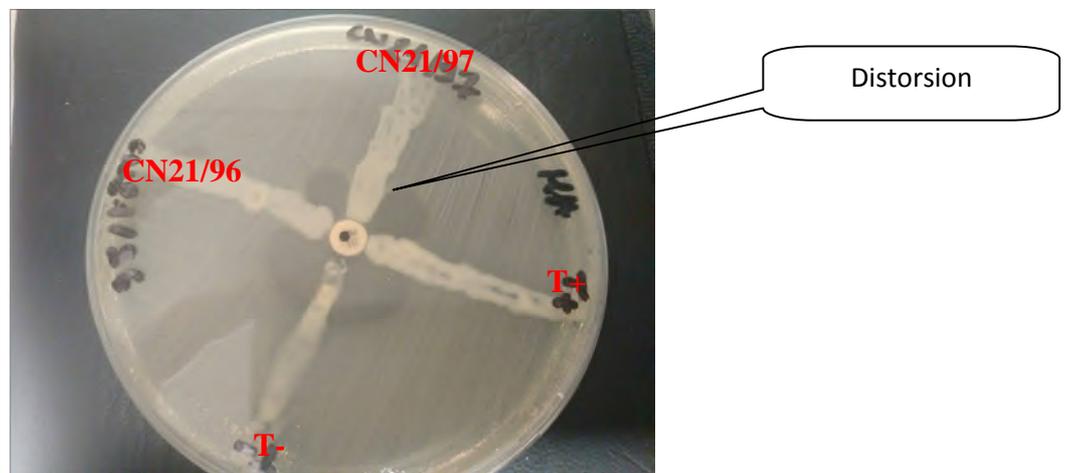


Figure 2 : Résultat du test de Hodge pour les souches CN21/97 et CN21/96.

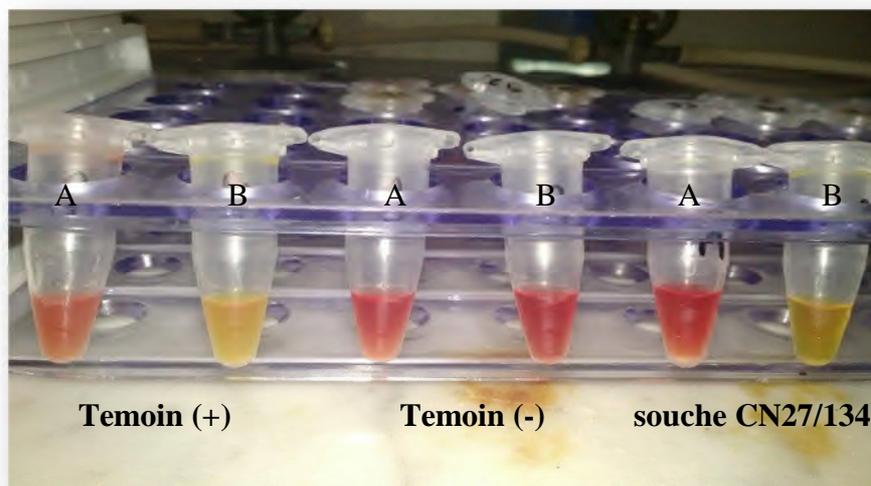


Figure 3 : Résultat du Carba NP test modifié pour la souche CN27/134

3. Portage fécal des souches d'entérobactéries productrices de BLSE et de carbapénèmases

Le taux de portage fécal des souches d'EBLSE est de 11.35% (21/185), dont un taux de 11.47% (14/122) observé chez les chiens contre 11.11% (07/63) chez les chats.

- L'analyse statistique des taux de portage des souches d'EBLSE n'a montré aucune différence significative observée chez les animaux de compagnie (p-valeur = 0.067).

Concernant le portage des souches d'EPC, nous avons observé un taux de portage de 7.02% (13/185) dont 10.65% (13/122) pour les chiens contre 00% (0/63) pour les chats.

- Concernant le taux de portage des souches d'EPC chez les animaux de compagnie l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative (p-valeur = 0,007).

5. Taux de contamination de la nourriture par les EBLSE et d'EPC

Le taux de contamination des souches d'EBLSE dans la nourriture est de 6.89% (02/29), dont un taux de contamination de 3.44% (01/29) observé dans la nourriture ménagère contre 3.44% (01/29) dans la nourriture industrielle.

- L'analyse statistique des taux de contamination de la nourriture par les souches d'EBLSE n'a montré aucune différence significative (p-valeur de 0.115).

Pour les souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases, nous avons observé un taux de contamination de 3.44% (01/29), cette contamination a été observée uniquement dans la nourriture industrielle.

7. Etude de la transmission des souches d'entérobactéries productrices de β -lactamase de la nourriture vers les animaux de compagnie

Dans notre étude uniquement un cas de transmission de souche d'entérobactérie a été observé sur les 30 échantillons de nourriture correspondant à un taux de 3.44%. Ce taux a été statistiquement significatif avec une p-valeur < 0.0001.

Discussion

et

Conclusion

Les entérobactéries peuvent facilement diffuser dans les différents écosystèmes par le biais de la chaîne alimentaire et de l'eau. L'émergence et la diffusion de la résistance chez les entérobactéries représentent une sérieuse menace pour la santé publique (Santos et *al.*, 2013). Plusieurs études ont rapporté des souches d'entérobactéries productrices de BLSE, et de carbapénèmases isolées d'animaux de compagnie.

Chez les animaux de compagnie étudiés dans notre étude, nous avons observé un taux de portage fécal moyen de 15% (incluant les souches productrices de BLSE, et de carbapénèmases). 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%.

Le taux de portage fécal de nos souches productrices de BLSE est de 56.75%. Nos résultats sont inférieurs à ceux rapporté par Hordijk et *al.*, 2013 en Hollande qui ont montré un taux de portage fécal de souches d'entérobactéries productrices de BLSE de 31.25% (chiens : n=40 et chats : n=40) et par Rocha-Gracia et *al.*, 2015 au Mexique avec une prévalence de 17% chez les chiens, n=53. Cependant nos résultats sont supérieurs a ceux rapporté par Dierickx et *al.*, 2012 avec une prévalence globale de souches productrices de BLSE de 2,11%, et a ceux rapporté par Yousfi et *al.*, 2016 en Algérie avec une prévalence globale de 37,45%.

Concernant les carbapénèmes, le taux de portage fécal observé dans notre étude est de 35.13%. Deux publications ont été retrouvées sur PubMed. 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 des souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées de chiens productrices de carbapénèmases de type OXA-48 en Allemagne. Et uniquement deux rapports sur ont été publiés par Yousfi et *al.*, 2016 sur les carbapénèmases chez les animaux de compagnie en Algérie.

La résistance aux β -lactamines est très fréquente chez les souches d'entérobactéries isolées à partir d'animaux ou d'aliments (Srinivasan et *al.*, 2007 ; Van et *al.*, 2008). Dans notre étude, les souches d'entérobactéries ont montré un taux de résistance de 10% dans la nourriture. Concernant la présence de souches d'entérobactéries productrice de BLSE ainsi que de carbapénèmases dans la nourriture pour animaux de compagnie, aucun article n'a été retrouvé sur pubmed et uniquement un seul article a été rapporté par Daniel et *al.*, en 2011 sur la présence des souches de BLSE dans la nourriture non cuite des animaux de compagnie.

La présence croissante des BLSE et de carbapénèmases chez les entérobactéries dans les aliments constitue une menace importante pour la santé publique, car ces gènes peuvent être transférés par la suite aux humains et aux animaux de compagnie via la chaîne alimentaire.

Un taux de 3.44% des nourritures étudiées ont été contaminé par les souches d'entérobactéries productrices de BLSE et de carbapénémase. Tous les animaux de compagnie ayant pris cette nourriture ont été également retrouvés porteurs des souches de BLSE et de carbapénémase, ce qui conclut une transmission probable de ces souches.

En conclusion, il est connu que les chiens et les chats sont des compagnons qui partagent la vie des humains de différentes façons. Ils peuvent partager leurs

maisons et leurs lieux de travail et, malheureusement, cela devient une voie potentielle zoonotique pour la transmission de différentes maladies. Il est rapporté que l'utilisation d'antibiotique dans la production primaire agricole est considérée comme la cause principale de sélection de l'antibiorésistance chez des bactéries susceptible de se retrouver ensuite sur les denrées alimentaire, cette résistance peut être transféré aux animaux de compagnie et a l'Homme via la chaîne alimentaire. La détection de ces souches résistantes aux antibiotiques chez les animaux de compagnie ainsi que dans leurs denrées alimentaire peut être une source de préoccupation, et cela pourraient avoir un impact de santé publique. Il est donc recommandé par conséquent de faire un usage raisonnable des antibiotiques.

Références

Bibliographiques

- **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.
- **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.
- **Belas A, Salazar AS, Gama LT, Couto N, Pomba C.** (2015). Risk factors for faecal colonisation with *Escherichia coli* producing extended-spectrum and plasmid-mediated AmpC β -lactamases in dogs. *Vet Rec.* **175**, 202.
- **Carattoli A.** (2008). Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clin Microbiol Infect.* **14** Suppl. **1**, 117-123.
- **Costa D, Poeta P, Sáenz Y, Coelho AC, Matos M, Vinué 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.
- **Daniel P. Schlesinger, Daniel J. Joffe.** (2011). Raw food diets in companion animals. *Can Vet J.* **52**, 50–54
- **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- β -lactamase and AmpC-producing clinical isolates derived from companion animals and horses. *J Antimicrob Chemother.* **67**, 1368-74.
- **Giguere S, Prescott JF, Baggot JD.** (2007). Antimicrobial therapy in veterinary medicine, Blackwell Scientific Publications, Wiley-Blackwell, USA.
- **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 β -lactamase/AmpC-producing Enterobacteriaceae in cats and dogs. *Front Microbiol.* **16**, 4-242.

- **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.
- **Jacoby GA, Munoz-Price LS.** (2005). The new beta-lactamases. *N Engl J Med.* **27**, 352(4),380-91.
- **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.
- **Lee K, Kim CK, Yong D, Jeong SH, Yum JH, Seo YH, Docquier JD, Chong Y.** (2001). Improved performance of the modified Hodge test with Mac Conkey agar for screening carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods.* **83**, 149–152.
- **Leite-Martins, Liliana R, Mahu, Maria I.M, COSTA, Ana L, Mendes, Ângelo, Lopes, Elisabete, Mendonca, Denisa M.V, Niza-Ribeiro, João J.R, De Matos, Augusto J.F, 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.
- **Livermore DM.** (2009). Has the era of untreatable infections arrived. *J Antimicrob Chemother.* **64**, 29–36.
- **Mayrhofer S, Paulsen P, Smulders FJM et Hilbert F.** (2006). Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* isolated from muscle foods as related to the veterinary use of antimicrobial agents in food-producing animals in Austria. *Microb Drug Resist.* **12**, 278-283.
- **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. *Can Vet J.* **50**, 1047-53.

- **Nordmann P, Nass T et Poirel L.** (2011). Global spread of Carbapénèmase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis.* **17**, 1791-8.
- **Poirel L, Pitout JD, Nordmann P.** (2007). Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. *Future Microbiol.* **2**, 501-12.
- **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 β -lactamases. *Vet J.* **203**, 315-9.
- **Rubin JE, Pitout JD.** (2014). Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* in companion animals. *Vet Microbiol.* **170**, 10-8.
- **Santos T, Silva N, Igrejas G, Rodrigues P, Micael J, Rodrigues T et al.** 2013. Dissemination of antibiotic resistant *Enterococcus spp* and *Escherichia coli* from wild bird of Azores Archipelago. *Anaerobe.* **24**, 25-31.
- **Scott Weese J.** (2008). Antimicrobial resistance in companion animals. *Anim Health Res Rev.* **9**, 169-76.
- **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.
- **Silbergeld EK, Graham J, Price LB.** (2008). Industrial food animal production, antimicrobial resistance and human health. *Annu Rev Public Health.* **29**, 151-169.
- **Srinivasan V, Gillespie B.E, Lewis MJ, Nguyen LT, Headrick SI, Schukken YH et Oliver SP.** (2007) Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. *V etMicrobiol.* **124**, 319-328.
- **Srinivasan V, Nam HM, Sawant AA, Headrick SI, Nguyen LT et Oliver SP.** (2008). Distribution of tetracycline and streptomycin resistance genes and class 1 integrons in Enterobacteriaceae isolated from dairy and nondairy from soils. *Microb Ecol.* **55**, 184-193.

- **Stin OC, Johonson JA, Keefer-Norris AK, Perry KL, Tigno J, Qaiyumi S, Stine MS et Morris JG.** (2007). Widespread distribution of tetracycline resistance genes in a confined animal feeding facility. *Int J Antimicrob Agents*. **29**, 348-352.
- **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.
- **Trott D.** (2013). β -lactam resistance in gram-negative pathogens isolated from animals. *Curr Pharm Des*. **19**, 239-49.
- **Van TTH, Chin J, Chapman T, Tran LT et Coloe PJ.** (2008). Safety of raw meat and shellfish in Vietnam: an analysis of *Escherichia coli* isolations for antibiotic resistance and virulence genes. *Int J Food Microbiol*. **124**, 217-223.
- **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*. **8**, 75392.
- **www.eucast.org.** The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommendations de 2016.
- **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**, 3798e801.
- **Yousfi M, Mairi A, Touati A, Hassissene L, Brasme L, Guillard T, De Champs C.** (2016). Extended spectrum β -lactamase and plasmid mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* fecal isolates from healthy companion animals in Algeria. *J Infect Chemother*.

- **Yousfi M, Mairi A, Bakour S, Touati A, Hassissen L, Hadjadj L, Rolain JM.** (2015). First report of NDM-5-producing *Escherichia coli* ST1284 isolated from dog in Bejaia, Algeria. *New Microbes New Infect.* Sep **10**, 8:17-8.
- **Yousfi M, Touati A, Mairi A, Brasme L, Gharout-Sait A, Guillard T, De Champs C.** (2016) Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria. *Microb Drug Resist.*
- **Zirakzadeh A et Patel R.** (2005). Epidemiology and mechanisms of glycopeptide resistance in enterococci. *CurrOpin Infect Dis.* **18**, 507-512.

Résumé

Notre étude a porté sur l'évaluation du taux de transmission des souches d'entérobactéries résistantes aux β -lactamines isolées d'animaux de compagnie (chiens et chats) et de leur nourriture dans la ville de Bejaia.

Un total de 185 prélèvements rectaux effectués sur des animaux de compagnie et 30 prélèvements de nourriture ont été obtenues chez des propriétaires privés. L'identification des souches a été obtenue par galeries API20E. La production d'une β -lactamase a Spectre Etendu a été détecté par le test de synergie, et la production d'une carbapénémase par le test de Hodge, le Carba NP test modifié, et le test de l'inhibition à l'EDTA.

Au total 37 souches d'entérobactéries résistantes aux β -lactamines ont été sélectionnées et un taux de portage fécale de 20% a été observé chez les animaux de compagnie, ainsi qu'un taux de contamination de 6.66% dans la nourriture. La caractérisation phénotypique a montré que 23 (79,31%) souches étaient productrices de BLSE, et 14 souches (48,27%) produisaient des carbapénémases.

Les aliments peuvent représenter un réservoir important de souches d'entérobactéries multiresistantes et peuvent être considérés comme une voie de transmission pour les animaux de compagnie pouvant ainsi constituer un sérieux problème pour la santé humaine.

Mots-clés : Animaux de compagnie, nourriture, résistance aux β -lactamines, portage fécal, transmission.

Abstract

The aim of our study was to evaluate the rate fecal carriage of Enterobacteriaceae strains resistant to β -lactams isolated from companion animals.

A total of 185 rectal swabs from companion animals and 30 food samples were obtained from private owners. The identification of the strains was obtained by API20E strips. The production of ESBL has been detected by the synergy test and the production of a carbapenemase by the Hodge test, modified Carba NP test, and EDTA inhibition test.

A total of 37 strains of Enterobacteriaceae resistant to β -lactams were selected and a fecal carriage rates of 20% was observed in companion animals. In addition, contamination rate of food was 6.6%. Phenotypic characterization showed that 23 (79.31%) of isolates were ESBL producers, and 14 strains (48.27%) were carbapenemase-producers

Enterobacteriaceae strains and can be considered as a transmission resource for companion animals, that can constitute a serious problem for the human health.

Key words: Companion animals, food, β -lactams resistance, faecal carriage, transmission.

