

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Option : Microbiologie en secteur biomédical et vétérinaire



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

MASTER

Thème

**Etude du portage fécal de souches
d'entérobactéries productrices de
carbapénèmases isolées d'animaux de
compagnie**

Présenté par :

BOUROUIS Asma & BRAZANE Mira

Soutenu le : 11 Juin 2016

Devant le jury composé de :

Mr. Amir N.

Mr. Touati A.

Melle. Tafoukt R.

MCB

Professeur

MAA

Président

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

Remerciements

Nous remercions notre encadreur, le professeur A. Touati pour sa disponibilité et sa patience, ainsi que Melle Yousfi pour nous avoir co-encadrées.

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

Nous tenons également à remercier Mr K. Bensaid pour son aide et sa disponibilité.

Nous remercions gracieusement le Dr Hassissene pour nous avoir accueillies dans son cabinet, et aidées à faire les prélèvements. Qu'elle trouve là toute notre gratitude.

Nous remercions toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes parents, mes frères et sœurs, ma belle sœur, ma nièce, et mes amis.

A toutes les personnes qui m'ont encouragé et soutenu.

Mira BRAZANE

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, mes sœurs et frères, et mes amis.

Asma BOUROUIS

Liste des abréviations

AMC : Amoxicilline +Clavulanate

ATTCC : American Type Culture Collection

CAZ : Céftazidime

CTAB: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide

CTX: Céfotaxime

EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique

EPC : Entérobactérie productrice de carbapénèmase

ERT : Ertapénème

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FOX : Céfoxitine

I : Intermédiaire

IMP : Imipénème

KPC : *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase

MβL : Metallo-β-Lactamase

NDM: New Delhi Metallo-β-Lactamase

OXA-48: Oxacillinase

R: Résistant

S: Sensible

TSB: Tryptic soy Broth

VIM: Verona Integron encoded Metallo-β-Lactamase

Sommaire

Liste des abréviations

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

Matériel et méthodes

1. Prélèvements	5
2. Isolement et identification des souches	7
3. Etude de la sensibilité aux β -lactamines	7
4. Détermination des phénotypes de résistance	
3.1. Test de Hodge	8
3.2. Test Carba NP modifié	8
3.3. Recherche de production de M β L	9
5. Etude statistique	10

Résultats

1. Souches bactériennes.....	12
2. Sensibilité des souches aux antibiotiques.....	13
3. Analyse de phénotypes de résistance	14
4. Taux de portage fécal des souches d'EPC	15
Discussions et conclusion.....	18

Références bibliographiques

Introduction

Introduction

La résistance aux antibiotiques chez les animaux de compagnie reste assez méconnue et sous-estimée car peu surveillée. De plus, les données disponibles sont peu fiables en raison des variations géographiques concernant l'usage des antibiotiques, et les profils de résistance aux antibiotiques, (Weese, 2008). La résistance aux antibiotiques représente donc un domaine de recherche important, notamment à cause des nombreux cas rapportés de dissémination de bactéries multi-résistantes chez des chiens et chats (Rubin et *al.*,2014), des chevaux (Maddox et *al.*,2015), ainsi que des oiseaux de compagnie (Seepersadsingh et *al.*,2003).

Le contact étroit et prolongé entre les animaux de compagnie et leurs propriétaires soulève le problème de la transmission inter-espèces, notamment des bactéries commensales du tube digestif. Ainsi, des bactéries de la flore intestinale de l'animal peuvent se retrouver chez l'homme et vice-versa (Johnson et *al.*,2008). L'utilisation désormais courante des antibiotiques en médecine vétérinaire pose également problème, car cela stimule la sélection et la persistance de bactéries multi-résistantes.

Les *Enterobacteriaceae* sont une famille de bacilles à Gram négatif englobant plusieurs genres qui font partie de la flore intestinale de l'Homme et des animaux, ils sont de plus en plus impliqués dans des infections aussi bien intestinales, qu'extra-intestinales. Les β -lactamines représentent entre autres une des classes d'antibiotiques les plus utilisées en médecine vétérinaire notamment dans le traitement d'infections causées par des entérobactéries. Les pénicillines et les céphalosporines de première génération, l'amoxicilline additionnée de l'acide clavulanique, sont parmi les antibiotiques les plus prescrits chez les chiens et chats (Murphy et *al.*,2009), les pénicillines et les céphalosporines associées ou non aux aminoglycosides sont plus prescrits chez les chevaux (Hughes.,2013). Leur usage désormais courant

a certainement contribué à la sélection de souches résistantes à ces molécules antimicrobiennes et a stimulé l'augmentation du nombre de cas d'échecs thérapeutiques, poussant les vétérinaires à utiliser des antibiotiques à plus large spectre. Le mécanisme de résistance le plus efficace chez les entérobactéries est sans doute la production de β -lactamases.

Ainsi, de plus en plus d'entérobactéries productrices de différents types de β -lactamases sont isolées chez des animaux de compagnie, notamment des céphalosporinases plasmidiques et des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) (Rubin et al., 2014). Les carbapénèmases sont plus rarement isolées.

Les carbapénèmases de classe B d'Ambler sont des Métallo- β -lactamases, elles hydrolysent les pénicillines, céphalosporines, céphamycines, et carbapénèmes, mais pas l'aztréonam, elles sont inhibées par l'EDTA (Pitout., 2012). Les carbapénèmases de classe A d'Ambler (KPC), sont capables d'hydrolyser toutes les β -lactamines, faiblement inhibées par l'acide clavulanique mais inhibées par l'acide boronique, et le tazobactam (Pitout., 2012) celles-ci n'ont pas été isolées jusque-là chez les animaux de compagnie. Les carbapénèmases de classe D d'Ambler de type OXA-48 hydrolysent les pénicillines et les carbapénèmes, et ont une faible activité sur les céphalosporines et les monobactames.

La dissémination des carbapénèmases pose problème notamment à cause de la présence de ces enzymes sur des éléments génétiques transférables, ce qui facilite leur dissémination (Caratolli, 2013). Les carbapénèmes représentent actuellement un traitement de dernier recours contre les bactéries à Gram négatif multi-résistantes, la dissémination des carbapénèmases est donc un problème majeur de santé publique car ce phénomène limite les possibilités de traitement d'infections à bactéries multi-résistantes (Patel et al., 2013).

Peu d'études ont été publiées sur la présence de carbapénèmases chez les animaux de compagnie : seulement six rapports ont été retrouvés dans la base de données PubMed, dont deux en Algérie.

L'objectif de notre travail est de déterminer le taux du portage fécal d'entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) chez les animaux de compagnie, en ayant recours à la méthodologie suivante :

1. Isolement et identification d'entérobactéries productrices de carbapénèmases, à partir de prélèvements de selles de chiens, chats, oiseaux et chevaux.
2. Détermination de leur sensibilité aux β -lactamines par des antibiogrammes.
3. Détermination phénotypique des mécanismes de résistance.

Matériel et méthodes

1. Prélèvements

Entre Janvier et Avril 2016, un total de 354 prélèvements fécaux ont été effectués sur des animaux de compagnie (Tableau I), dont 104 chiens, et 33 chats par écouvillonnage rectal. Les prélèvements ont été réalisés sur des chiens et chats admis au cabinet vétérinaire du Dr. HASSISSENE à Sidi Ahmed, et chez des propriétaires privés dans la ville de Bejaia.

Un total de 119 oiseaux de compagnie ont été également prélevés dans plusieurs animaleries et propriétaires privés dans la ville de Bejaia. L'échantillonnage dans ce cas a été réalisé par prélèvement d'une selle fraîche directement dans la cage de l'animal avec un écouvillon.

Un total de 98 chevaux ont été prélevés dans différents centres d'équitation, fermes privées, centres de loisirs, et hippodrome dans 5 différentes Wilayas. L'échantillonnage a été effectué par prélèvement d'une selle fraîche ou par écouvillonnage rectal.

La totalité des prélèvements ont été transportés dans une glacière au Laboratoire d'écologie microbienne de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia afin d'y être analysés.

Tableau I : Lieux de prélèvements des animaux

Animaux	Wilaya	Lieu de prélèvement	Dates
Chevaux	Constantine	Centre d'équitation et de loisirs Boussouf	02/02/2016
	Bejaia	Centre d'équitation des Oliviers	13/03/2016
		Ferme privée à Boulimat	14/03 et 13/04/2016
		Particulier à Saket	14/03/2016
		Ferme privée à El Meghra	10/04/2016
		Particulier à Toudja	17/04/2016
		Ferme privée à Louta, Souk El Tenine	23/04/2016
		Particuliers à Akfadou	25/04 et 02/05/2016
	Alger	Hippodrome du Caroubier	22/03/2016
	Blida	Centre de loisirs	24/03/2016
	Jijel	Ferme privée à Ouled Askar	09/04/2016
Ferme privée à Aleouana		10/04/2016	
Chiens	Bejaia	Cabinet du Dr HASSISSENE	Du 02/01 au 12/04/2016
		Animalerie située à la Route des Aurès	
Chats	Bejaia	Cabinet de Dr HASSISSENE	Du 02/01 au 13/02/2016
		Particulier	
Oiseaux	Bejaia	Animalerie située sur la Route des Aurès	Du 10/01 au 12/04/2016
		Animalerie située sur la Rue de la liberté	
		Animalerie située à la Cité Tobbal	
		Animalerie située à la Cité Naceria	
		Animalerie située au Quartier Seghir	

2. Isolement et identification des souches

Les échantillons de selles ont d'abord été incubés durant une heure à 37°C dans 1 mL de TSB (Tryptic soy Broth). Ensuite l'enrichissement a été effectué dans 180 µl de TSB additionné d'ertapénème à 0.5 µg/mL et de vancomycine à 32 µg/mL, en ajoutant 40 µL de culture bactérienne et en incubant à 37 °C pendant 24h. Des boîtes de gélose Mac Conkey additionnées d'ertapénème à 0.5 µg/mL et de vancomycine à 32 µg/mL, ont étéensemencées avec 200 µL de bouillon d'enrichissement, puis incubées à 37°C pendant 24h.

Après purification, les souches sélectionnées ont été identifiées par l'utilisation de galeries Api 20E (Biomérieux).

3. Etude de la sensibilité aux β -lactamines

La sensibilité des souches aux β -lactamines (Tableau II) a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton, selon les recommandations du comité Européen de l'Antibiogramme (www.eucast.org).

Des boîtes de gélose Mueller Hinton ont étéensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne de 10^8 de la souche à tester. Après dépôt des disques d'antibiotiques, les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h. Les diamètres d'inhibition ont été interprétés selon les recommandations de l'EUCAST 2013.

Tableau II : Liste des antibiotiques testés

Antibiotique	Abréviation	Charge (µg)	Diamètres Critiques	
			S	R
Céfotaxime	CTX	30	≥26	<23
Céftazidime	CAZ	30	≥26	<21
Céfoxitine	FOX	30	≥22	<15
Amoxicilline +Clavulanate	AMC	20+10	≥21	<16
Méropénème	MER	10	≥22	<15
Imipénème	IMP	10	≥24	<17

4. Détermination des phénotypes de résistance

4.1. Test de Hodge

Un disque d'Imipénème (IMP, 10µg) a été déposé au centre d'une boîte contenant de la gélose Mueller Hinton sur laquelle une souche de référence sensible a été préalablement ensemencée. Ensuite les souches à tester ainsi que le témoin négatif (*E.coli* ATCC 25922) et le témoin positif (*E. coli* productrice d'OXA-48) ont été ensemencés sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'IMP jusqu'à la périphérie de la boîte. Après incubation à 37°C pendant 24h, la distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'IMP indique la production probable d'une carbapénémase (Lee et *al.*, 2010).

4.2. Test Carba NP modifié

Ce test met en évidence l'acidification du milieu due à l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. Nous avons utilisé le protocole du test Carba NP modifié (Bakour et *al.*,2015).

Avec un ose calibrée à 10 μL , des colonies ont été dissociées dans un tube à Eppendorf contenant 200 μL de tampon de lyse CTAB à 0.02%. Après avoir vortexé pendant 2 minutes, 100 μL du volume ont été ajoutés à un tube à Eppendorf « A » et 100 μL à un tube « B ».

Un volume de 100 μL d'une solution de rouge de phénol additionnée de ZnSO_2 à 0.1M à pH ajusté à 7.5 ont été ajoutés dans le tube « A », et 100 μL de la même solution additionnée d'imipénème à 6mg/mL ont été ajoutés dans le tube « B »

En plus de la souche teste, un témoin négatif et un témoin positif ont été également testés. Tous les tubes ont été vortexés puis incubés à 37°C pendant deux heures maximum.

La production d'une carbapénémase se traduit par l'apparition d'une couleur jaune/orange dans le tube « B » contenant de l'imipenème, tandis que la couleur du tube A reste inchangée (Bakour et *al.*, 2015).

4.3. Recherche de la production de M β L

Méthode des disques combinés

Deux disques d'imipénème (IMP, 10 μg) ont été disposés séparément sur une boîte de Mueller Hinton préalablement ensemencée avec la souche à tester, puis 5 μL d'EDTA (0.5 M, pH 8) ont été ajoutés à un des disques. Après incubation à 37°C pendant 24h, si le diamètre d'inhibition autour du disque d'imipénème+EDTA est supérieur à celui du disque d'imipénème d'au moins 6mm, la souche a été considérée comme étant productrice de M β L (Yong et *al.*,2002).

Test de synergie

Un disque d'imipénème (IMP, 10 μ g) a été déposé à 15mm d'un disque vierge imbibé de 10 μ L d'EDTA (0.5M, pH 8). Les souches montrant une image de synergie entre le disque d'imipénème et celui de l'EDTA, ont été considérées comme productrices de M β L (Jeong et *al.*,2006)

5. Etude statistique

Afin de déterminer d'éventuelles différences significatives entre les taux de portage, un test exact de Fisher a été effectué avec le logiciel XLSTAT 2016.

Résultats

1 .Souches bactériennes

Un total de 354 animaux de compagnie (104 chiens, 33 chats, 119 oiseaux et 98 chevaux) ont été prélevés, dont 285 étaient en bonne santé le jour du prélèvement contre 69 animaux malades (Tableau III).

Tableau III : Résultats des prélèvements effectués

Animal	Etat de santé	Vétérinaire	Particuliers	Animaleries	Centres d'équitation et de loisirs	Effectif	Total Animal	Nombre d'EPC isolées
Chiens	Bonne santé	68	/	3	/	71	104	1
	Malade	33	/	0	/	33		
Oiseaux	Bonne santé	/	9	94	/	103	119	2
	Malade	/	1	15	/	16		
Chevaux	Bonne santé	/	59	/	35	94	98	4
	Malade	/	1	/	3	4		
Chats	Bonne santé	15	1	1	/	17	33	2
	Malade	15	0	0	/	16		

Au total, 09 souches d'entérobactéries résistantes à l'ertapénème ont été sélectionnées sur gélose Mac Conckey additionnée d'ertapénème.

L'utilisation de galeries API 20E a permis d'identifier 6 souches d'*Enterobacter cloacae* chez 2 oiseaux et 4 chevaux en bonne santé , 2 souches de *Klebsiella pneumoniae* chez 2 chats malades (l'un souffre de gastro-entérite, et l'autre d'une blessure infectée), et une souche de *Salmonella enterica* chez un chiot en bonne santé.

2. Sensibilité des souches aux antibiotiques

Les résultats de l'étude de la sensibilité des souches d'entérobactéries aux β -lactamines sont représentés dans le tableau IV. On note que 83,33% des souches testées ont été résistantes à l'amoxicilline + acide clavulanique, au Ceftazidime et à la céfoxitine. Toutes les souches testées ont été résistantes au céfotaxime, et 88,88% des souches testées ont été résistantes au Méropénème, et 100% ont été résistantes à l'imipénème.

Tableau IV : Résultats des antibiogrammes des souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases.

Code	Espèce	AMC	CTX	CAZ	FOX	MER	IMP
CN 93	<i>Salmonella enterica</i>	25(S)	16(R)	22(S)	22(S)	22(S)	19(I)
CT 80	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NT	NT	NT	NT	15(I)	17(I)
CT 81	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NT	NT	NT	NT	13(R)	15(R)
Oi 91	<i>Enterobacter cloacae</i>	6(R)	9(R)	8(R)	6(R)	18(I)	19(I)
Oi 92	<i>Enterobacter cloacae</i>	6(R)	12(R)	9(R)	7(R)	20(I)	18(I)
CV 69	<i>Enterobacter cloacae</i>	NT	NT	NT	NT	22 (S)	NT
CV 73	<i>Enterobacter cloacae</i>	6(R)	10(R)	7(R)	8(R)	19(I)	20(I)
CV 74	<i>Enterobacter cloacae</i>	6(R)	9(R)	6(R)	6(R)	11(R)	20(I)
CV 75	<i>Enterobacter cloacae</i>	6(R)	11(R)	6(R)	6(R)	18(I)	23(I)

NT : Non testé

3. Analyse de phénotype de résistance

Le test de Hodge et le test Carba NP modifié ont été positifs pour les neuf souches d'entérobactéries, traduisant une production probable de carbapénémase (Figures 1 et 2).

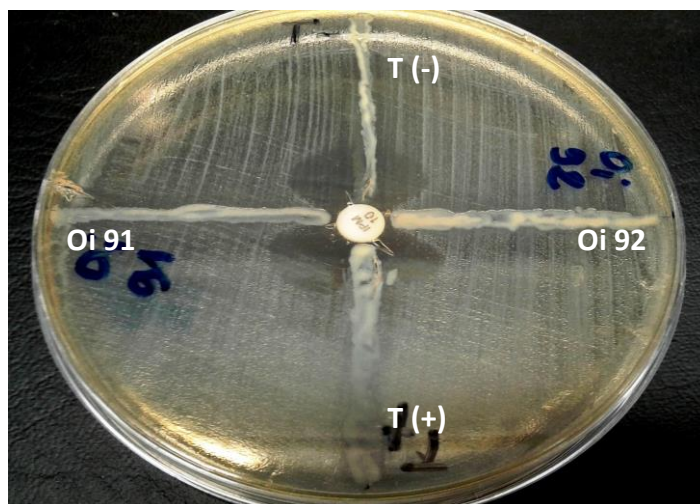


Figure 01 : Résultat du Hodge test pour les souches d'*Enterobacter cloacae* Oi 91 et Oi 92

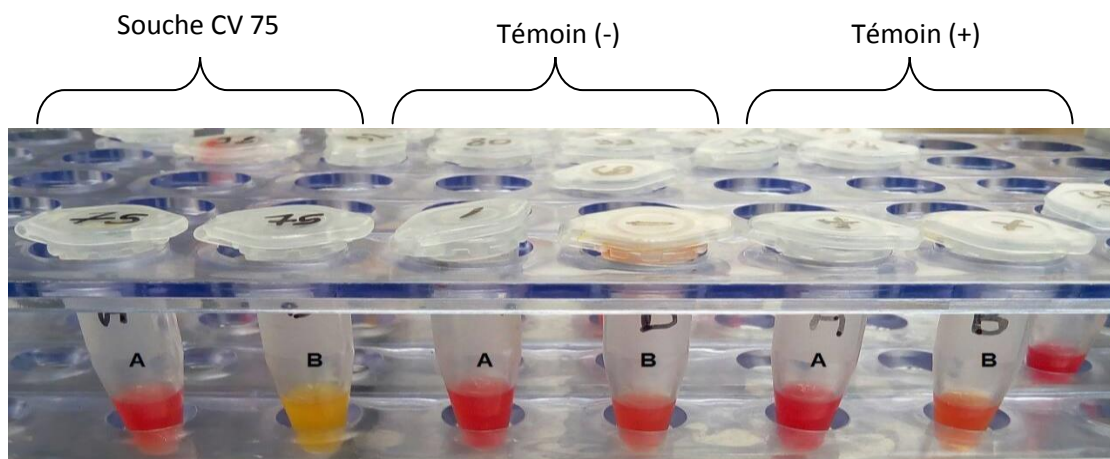


Figure 02: Résultats du test Carba NP modifié pour la souche *E. cloacae* CV 75

Recherche de M β L

La méthode des disques combinés ainsi que la recherche de synergie avec l'EDTA ont été négatives pour toutes les souches d'entérobactéries testées indiquant l'absence totale d'une carbapénèmase de type M β L.

4. Taux de portage fécal des souches d'EPC

Le taux de portage fécal des souches d'EPC obtenues a été de **2,54%** (9/354) dont un taux de portage de **2,89%**(2 /69) chez les animaux malades contre **2,46%** pour les animaux en bonne (07 /285) (Tableau V).

Tableau V : Taux de portage fécal des souches d'EPC

Animal	Taux total	Taux chez les sujets sains	Taux chez les sujets malades
Chiens	0,96% (1/104)	1,41% (1/71)	0% (0/33)
Chats	6,06% (2/33)	0% (0/33)	12,50% (2/16)
Oiseaux	1,68% (2/119)	1,94% (2/103)	0% (0/16)
Chevaux	4,08% (4/98)	4,25% (4/94)	0% (0/4)
Total	2,54% (9/354)	2,46% (7/285)	2,89% (2/69)

Le taux du portage fécal chez les chiens a été de **0,96 %** (1/104). L'animal d'où la souche a été isolée est un chiot d'un mois en bonne santé.

Nous avons obtenu un taux de portage de **6,06%** (2/33) chez les chats. Les deux sujets étaient malades, ils ont été trouvés dans la rue et admis chez le Dr HASSISSENE afin de recevoir les soins nécessaires.

Le taux de portage chez les oiseaux a été de **1,68%** (2 /119). Les deux sujets étaient sains au moment du prélèvement. Ils ont cependant pris un traitement

antibiotique trois mois auparavant (enrofloxacin) suite à des diarrhée et infections oculaires.

Nous avons obtenu un taux de portage de **4,08% (4/98)** chez les chevaux, Les 4 sujets étaient en bonne santé. Trois d'entre eux appartenaient au même propriétaire sis à Boulimat (Wilaya de Bejaia), et l'autre à une ferme à Jijel.

L'analyse statistique des taux de portage obtenus selon l'espèce animale n'a montré aucune différence significative (p valeur = 0,2048).

Discussion et conclusion

La dissémination de souches d'EPC chez les animaux de compagnie est un phénomène émergent. Il y a eu peu de travaux publiés à ce sujet. Bien que l'usage des carbapénèmes en médecine vétérinaire soit extrêmement rare, la présence des gènes qui codent pour des carbapénèmases sur des éléments génétiques transférables contenant d'autres gènes de résistance indique que l'usage d'autres antibiotiques contribue à la co-sélection (Fisher et *al.*,2013).

Lors de notre étude, nous avons retrouvé un taux de portage de 2.19% (3/137) chez les chiens et les chats, ce qui est similaire au taux de 2.5% (5/200) rapporté par Yousfi et *al* en 2016 au niveau de la wilaya de Bejaia.

Le taux de portage fécal retrouvé chez les chiens lors de notre étude (0.96%) est similaire à celui récemment décrit par Gonzalez-Torralba et *al.*, 2016, (0.6% 1/160).

Nous avons obtenu un taux de portage fécal de 4.08% (4/98) chez les chevaux. Shmeidel et *al* ont rapporté en 2014 une seule souche d'EPC de type OXA-48 chez un cheval en Allemagne.

Cependant aucun rapport publié sur la présence de carbapénèmases chez des oiseaux de compagnie n'a été retrouvée sur la base de données PubMed.

Le premier rapport publié sur les carbapénèmases chez les animaux de compagnie faisait état de la détection d'une souche d'*E.coli* produisant une NDM-1 chez des chiens et des chats aux Etats Unis (Shaheen et *al.*,2013). Deux études ont

été publiées par la suite, décrivant des souches d'entérobactéries productrices d'OXA-48 chez des chiens et des chats (Stolle et al.,2013), et chez des chiens, des chats, et un cheval en Allemagne (Shmeidel et al.,2014). Une souche d'*E.coli* produisant une NDM-5 a été isolée pour la première fois en Algérie chez un chien (Yousfi et al.,2015). Des souches d'*E.coli* productrices d'OXA-48 ont été également rapportées (Yousfi et al., 2016). Dernièrement, une souche de *K.pneumoniae* productrice de VIM-1 a été rapportée en Espagne chez un chien (Gonzalez Torralba et al.,2016).

Les animaux porteurs de carbapénèmases prélevés durant notre étude n'ont jamais pris un traitement antibiotique, à l'exception des deux oiseaux, nous pouvons donc supposer qu'ils ont été contaminés par leur environnement, leurs maitres, ou leurs aliments. Trois des chevaux porteurs de souches d'*E.cloacae* productrices de carbapénèmase vivent dans la même ferme à Boulimat, deux d'entre eux ont été à peine âgés d'un mois. Malgré le fait que leurs écuries soient séparées, ils sont régulièrement en contact entre eux, et avec leur propriétaire. Il est donc probable qu'il y ait eu des contaminations liées au contact avec leurs congénères ou leur propriétaire.

L'émergence des ces entérobactéries hautement résistantes chez les animaux de compagnie est un enjeu de santé publique majeur, car les risques de transmission de ces souches aux humains sont amplifiés par le contact étroit entre

les animaux de compagnie et leurs propriétaires, notamment ceux vivant sous le même toit, ainsi que par le contact avec l'environnement qu'ils partagent, comme par exemple lors du nettoyage des cages des oiseaux, ou des enclos et écuries de chevaux.

La gravité des infections par des EPC réside dans le manque d'options thérapeutiques, aussi bien pour l'animal que pour l'Homme, même si les souches n'expriment pas de facteurs de virulence (Nordmann et *al.*,2011). La présence de carbapénèmases sur des éléments génétiques mobiles rend leur dissémination plus facile, certains de ces éléments contiennent également d'autres gènes de résistance, ce qui confère à la souche une résistance à plusieurs types de molécules antimicrobiennes (Carattoli, 2013).

En conclusion, Bien que les EPC ne soient pas largement disséminées chez les animaux de compagnie, il n'y a nul doute que la transmissions inter-espèces et le transfert de gènes de résistance contribuent à leur dissémination. Vu l'importance des carbapénèmes dans le traitement d'infections avec des germes multi-résistants, il est urgent de mettre en place des programmes de surveillance efficaces, notamment pour :

- ✓ Evaluer les prévalences des souches multi-résistantes régulièrement et identifier les mécanismes de résistance en cause.
- ✓ Réglementer l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire et humaine.

En perspective, nos résultats rapportent l'émergence de souches d'EPC chez les animaux de compagnie. Cependant, notre travail reste préliminaire, et doit être complété par :

- ✓ Etudes de la clonalité pour voir la relation clonale entre les souches.
- ✓ Caractérisation moléculaire des carbapénèmases
- ✓ Comparaison des souches isolées chez les animaux de compagnie, et celles isolées chez l'Homme.

Références bibliographiques

1. **Bakour S, Garcia V, Loucif L, Brunel JM, Gharout-Sait A, Touati A, Rolain JM.** (2015). Rapid identification of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* using a modified Carba NP test. *New Microbes New Infect.* **10**:89-93
2. **Carattoli A.** (2013). Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol.* **303**:298-304
3. **Fischer J, Rodríguez I, Schmogger S, Friese A, Roesler U, Helmuth R, Guerra B.** (2013). *Salmonella enterica* subsp. *enterica* producing VIM-1 carbapenemase isolated from livestock farms. *J Antimicrob Chemother.* **68**:478-480
4. **González-Torralba A, Oteo J, Asenjo A, Bautista V, Fuentes E, Alós J.** (2016) Survey of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Companion Dogs in Madrid, Spain. *Antimicrob Agents Chemother.* **60**:2499-2501
5. **Hughes LA, Pinchbeck G, Callaby R, Dawson S, Clegg P, Williams N.** (2013) Antimicrobial prescribing practice in UK equine veterinary practice. *Equine Vet J.* **45**:141-147
6. **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**:23-431
7. **Johnson JR, Clabots C, Kuskowski MA.** (2008). Multiple-host sharing, long-term persistence, and virulence of *Escherichia coli* clones from human and animal household members. *J. Clin. Microbiol.* **12**:4078-4082
8. **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 MacConkey agar for screening carbapenemase-producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods.* **83**:149-152

9. **Maddox TW, Clegg PD, Williams NJ, Pinchbeck GL.** (2015). Antimicrobial resistance in bacteria from horses: Epidemiology of antimicrobial resistance. *Equine Vet J.* **47**:756–765.
10. **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**:1047-1053
11. **Nordmann P, Naas T, Poirel L.** (2011). Global spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis.* **17**:1791-1798
12. **Patel G, Bonomo RA.** (2013) . "Stormy waters ahead": global emergence of carbapenemases. *Front Microbiol.* **14**: 48
13. **Pitout JD.** (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **10**: 1165-1176
14. **Rubin JE, Pitout JD.** (2014). Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* in companion animals. *Vet Microbiol.* **170**:10-18
15. **Seepersadsingh N, Adesiyun A A.** (2003). Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Salmonella spp.* in Pet Mammals, Reptiles, Fish Aquarium Water, and Birds in Trinidad. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* **50**:488–493
16. **Schmiedel J, Falgenhauer L, Domann E, Bauerfeind R, Prenger-Berninghoff E, Imirzalioglu C, Chakraborty T.** (2014). Multiresistant extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* from humans, companion animals and horses in central Hesse, Germany. *BMC Microbiol.* **14**:187
17. **Shaheen BW, Nayak R, Boothe DM.** (2013). Emergence of a New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1)-encoding gene in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from

companion animals in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**:2902-2903

17. 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**:2802-2808.

18. www.eucast.org. The European Committee on antimicrobial susceptibility Testing. Recommendations de 2015.

19. Weese J. (2008). Antimicrobial resistance in companion animals. *Animal Health Research Reviews.* **9**:169-176

20. 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**:3798-3801

21. Yousfi M, Mairi A, Bakour S, Touati A, Hassissen L, Hadjadj L, J M. Rolain. (2015). First report of NDM-5-producing *Escherichia coli* ST1284 isolated from dog in Bejaia, Algeria. *New Microbes New Infect.* **8**:17-18

22. Yousfi M, Touati A, Mairi A, Brasme L, Gharout-Sait A, Guillard T, De Champs C. Emergence of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolated from Companion Animals in Algeria. *Microb Drug Resist.*

Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier le portage fécal de souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases isolées d'animaux de compagnie.

Un total de 354 prélèvements ont été recueillis entre Janvier et Avril 2016, dont 104 chiens, 33 chats, 119 oiseaux, et 98 chevaux. Les isolements ont été effectués sur milieu Mac Conkey additionné d'ertapénème et de vancomycine. Les souches ont été identifiées en utilisant des galeries Api 20E. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton. Les phénotypes de résistance aux carbapénèmes ont été déterminés par Hodge test, le Carba NP test modifié, et le test d'inhibition à l'EDTA.

Un total de 9 souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases ont été isolées chez 1 chien, 2 chats, 2 oiseaux, et 4 chevaux. Le taux de portage observé est de 2,54% .Le Hodge test et le Carba NP test modifié ont été positifs pour tous les isolats, et le test d'inhibition à l'EDTA a été négatif pour la totalité des souches.

Ces résultats indiquent la nécessité de la mise en place de programmes de surveillance de la résistance aux antibiotiques en milieu vétérinaire.

Mots-clés : Animaux de compagnie, portage fécal, Carbapénèmase, entérobactéries, Algérie

Abstract

The aim of our study is to investigate the fecal carriage of carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* strains isolated from pets.

A total of 354 samples were collected between January and April 2016, including 104 dogs, 33 cats, 119 birds, and 98 horses. Isolation was performed on MacConkey agar supplemented with ertapenem and vancomycin. Strains were identified using Api 20E galleries. Antibiotic susceptibility was determined by the disk diffusion method on Mueller Hinton agar. Carbapenemase detection was determined using Hodge test, modified Carba NP test and EDTA inhibition.

A total of 9 carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* strains were isolated from 1 dog, 2 cats, 2 birds and 4 horses. The fecal carriage rate observed was 2.54%. The Hodge test and the modified Carba NP were positive for all isolates, and the EDTA inhibition test was negative for all strains.

These results indicate the need for the establishment of monitoring programs of antimicrobial resistance in veterinary medicine.

Key words: Pets, fecal carriage, carbapenemase, *Enterobacteriaceae*, Algeria.

