

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

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences Biologiques
Option : Microbiologie en Secteur Biomédical et Vétérinaire



Réf :

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

MASTER

Thème

Caractérisation des phénotypes de résistance aux
 β -lactamines des souches d'*Escherichia coli*
fécales isolées d'animaux de compagnie

Présenté par : *MAIRI Assia*

Soutenu le : **17 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

Mr. LADJOUZI Rabia	MCB	Président
Mr. TOUATI Abdelaziz	Professeur	Encadreur
Mme. GHAROUT Alima	MAA	Examinatrice
Mme. HASSISSENE Lila	Docteur	Invitée

Année universitaire : 2014/2015

Remerciements

Je tiens à remercier mes encadreurs, le Pr. A. TOUATI et M^{elle} M. Yousfi pour m'avoir dirigé et guidé dans la réalisation de ce travail.

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

Je remercie également le Dr. HASSISSENE L. et son équipe pour leur aide précieuse dans la réalisation de la partie prélèvements.

Egalement, je remercie respectivement le Dr. BAKOUR S. pour son aide dans la réalisation du CARBA-NP test et Mr. BENSAID K. pour sa contribution dans l'analyse statistique des résultats.

A mes deux amours, ma maman et mon petit frère

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction 1

Synthèse bibliographique

1. Résistance aux β -lactamines	4
1.1. β -lactamases à Spectre Etendu	4
1.2. AmpC	5
1.3. Carbapénèmases	6
2. Génétique de la résistance	7
2.1. Transfert inter-espèces des déterminants de la résistance	7
2.2. Plasmides et dissémination de la résistance	9

Matériel et Méthodes

1. Souches bactériennes	11
2. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques	11
3. Détermination des phénotypes de résistance	12
3.1. Recherche de la production d'une β -lactamase à Spectre Etendu	12
3.2. Recherche de la production d'une céphalosporinase	13
3.3. Recherche de la production d'une carbapénèmase	13
4. Transfert par conjugaison	14
5. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices en milieu solide	15

Résultats

1. Souches bactériennes	16
2. Sensibilité des souches aux antibiotiques	16
3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices	20
4. Analyse des phénotypes de résistance	21
5. Déduction des phénotypes de résistance	23
6. Taux de portage fécal des souches d' <i>E. coli</i> résistantes aux β -lactamines à spectre étendu	26
7. Transfert par conjugaison	27

Discussion et conclusion 29

Références bibliographiques 33

Annexes I

Liste des tableaux

Tableau I* : Schéma de la classification des β -lactamases	I
Tableau II* : Types de BLSE rapportées chez les souches <i>E. coli</i> et autres entérobactéries isolées de chiens et de chats	II
Tableau III* : Types d'AmpC rapportées chez les souches d' <i>E. coli</i> et autres entérobactéries isolées de chiens et de chats	III
Tableau IV : Antibiotiques testés	12
Tableau V : Préparation de la gamme d'antibiotiques avec les différentes dilutions	15
Tableau VI : Prélèvements recueillis au cours de notre étude	IX
Tableau VII : Résultats des prélèvements recueillis	16
Tableau VIII : Lecture de la galerie API 20E	XIV
Tableau IX : Résultats de la sensibilité des 33 souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques	17
Tableau X* : Concentrations minimales inhibitrices (mg/l) des 33 souches d' <i>E. coli</i>	XV
Tableau XI : Phénotypes de résistance probables aux β -lactamines des souches d' <i>E. coli</i>	25
Tableau XII : Sensibilité aux antibiotiques, CMI et phénotypes de résistance obtenus des transconjugants	28

* : Tableaux figurant en annexes

Liste des figures

Figure 1 : Evolution des publications rapportant la résistance aux β -lactamines à large spectre chez les animaux de compagnie.	2
Figure 2 : Dissémination plausible ou avérée de la résistance aux antibiotiques à travers différents écosystèmes	8
Figure 3 : Taux de résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux β -lactamines.	18
Figure 4 : Taux de résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux autres antibiotiques.	18
Figure 5 : Comparaison entre les taux de résistance aux antibiotiques des souches d' <i>E. coli</i> isolées chez les chiens et chats.	19
Figure 6 : Indices de multi-résistance calculés pour les 33 souches d' <i>E. coli</i>	19
Figure 7 : Distribution des CMI vis-à-vis de la CAZ et du CTX des souches d' <i>E. coli</i> testées	20
Figure 8 : Image de synergie obtenue dans le DD-test pour la souche S79	21
Figure 9 : Image de synergie obtenue pour la souche S 174	21
Figure 10 : Antibiogramme de la souche S65 sur gélose MH et gélose MH+cloxacilline	21
Figure 11 : Résultat du test de Hodge pour les souches S99 et S100.	22
Figure 12 : Résultat du Carba NP test modifié pour la souche 174.	22
Figure 13 : Résultat du test à l'EDTA	23
Figure 14 : Arbre décisionnel permettant d'interpréter les mécanismes de résistance des souches d' <i>E. coli</i> isolées d'animaux de compagnie aux β -lactamines.	24

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
C1G: Céphalosporines de première génération
C2G: Céphalosporines de deuxième génération
C3G : Céphalosporines de troisième génération
C4G : Céphalosporines de quatrième génération
CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ: Ceftazidime
CIP: Ciprofloxacine
Cloxa : Cloxacilline
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CTAB: Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide
CTX: Céfotaxime
CTX-M : Céfotaximase-Munich
DD-test : Double Disc synergie test
EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétique
ERT: Ertapénème
EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FEP: Céfépime
FOX: Céfoxitine
GN: Gentamicine
I : Intermédiaire
IMP: Imipénème
KPC : *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase
LB : Luria Broth
M \square L: Métallo- \square -Lactamases
MC : Mac Conkey
MH : Mueller Hinton
NDM : New Delhi Metallo- \square -lactamases
OXA : Oxacilline

PMQR: plasmid-mediated-quinolone-resistance

R : Résistant

S : Sensible

SHV : Sulphydryl Variable

ST: Séquence Type

SXT: Triméthoprime-sulfaméthoxazole

TE: Tétracycline

TEM : Temoniera

TIC: Ticarcilline

TOB: Tobramycine

TSA : Trypticase Soja

TSI : Three Sugar Iron

TZP: Pipéracilline-tazobactam

UFC: Unité Formant Colonies

En médecine vétérinaire, les β -lactamines représentent sans doute la classe d'antimicrobiens la plus importante largement utilisée pour traiter les infections bactériennes, y compris celles causées par les entérobactéries (Trott, 2013). Chez les chiens, les β -lactamines, y compris les céphalosporines de première génération (C1G) et l'amoxicilline-acide clavulanique, sont parmi les antibiotiques les plus prescrits (Murphy et *al.*, 2012 ; Hughes et *al.*, 2013). Contrairement aux animaux d'élevage où l'usage de β -lactamines à spectre étendu, a été fortement contrôlé durant la dernière décennie en raison de la dissémination d'agents pathogènes zoonotiques résistants chez l'homme *via* la chaîne alimentaire, l'utilisation des β -lactamines chez les animaux de compagnie (chiens et chats) a cependant reçu beaucoup moins d'intentions, même si un grand nombre de ces molécules utilisées en médecine humaine sont disponibles pour les vétérinaires (Trott, 2013). Ainsi par exemple, les carbapénèmes ont été sporadiquement utilisés pour le traitement des infections à *Escherichia coli* multi-résistantes chez les chiens quand aucune autre classe d'antibiotique n'était disponible (Trott, 2013).

La résistance aux antibiotiques chez les animaux de compagnie est un domaine complexe qui revêt une grande importance en raison de facteurs liés aux patients et les questions de santé publique soulevées. Dans ce contexte, un aspect unique et critique de la multirésistance aux antibiotiques chez les animaux de compagnie et leur contact étroit avec les humains. Ceci crée des opportunités pour la transmission inter-espèces de bactérie, y compris les bactéries multirésistantes. Malgré ce contact étroit entre de nombreuses personnes avec les animaux et des risques pour la santé humaine associés, de nombreux aspects de ce domaine n'ont pas été abordés, de sorte que les connaissances actuelles sont limitées (Scott Weese, 2008 ; Rubin et Pitout, 2014).

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. C'est un domaine important pour de futures recherches, 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 Weese, 2008).

Les chiens et les chats peuvent être un réservoir important, mais actuellement sous-estimé, de gènes de résistance aux β -lactamines. 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, incluant les bacilles à Gram négatif producteurs de différentes β -lactamases. Cependant, l'émergence d'infections nosocomiales dues aux entérobactéries productrices de céphalosporinases ou de β -lactamases à spectre étendu dans les cliniques vétérinaires a attiré l'attention sur ces animaux ayant un contact étroit avec leurs propriétaires (Trott, 2013). Ainsi par exemple en 2002, uniquement un seul rapport décrivant les BLSE chez des souches d'*E. coli* isolées d'infections urinaires chez des chiens a été publié (Feria et al., 2002) et depuis le nombre de publications ne cesse d'augmenter (Figure 1).

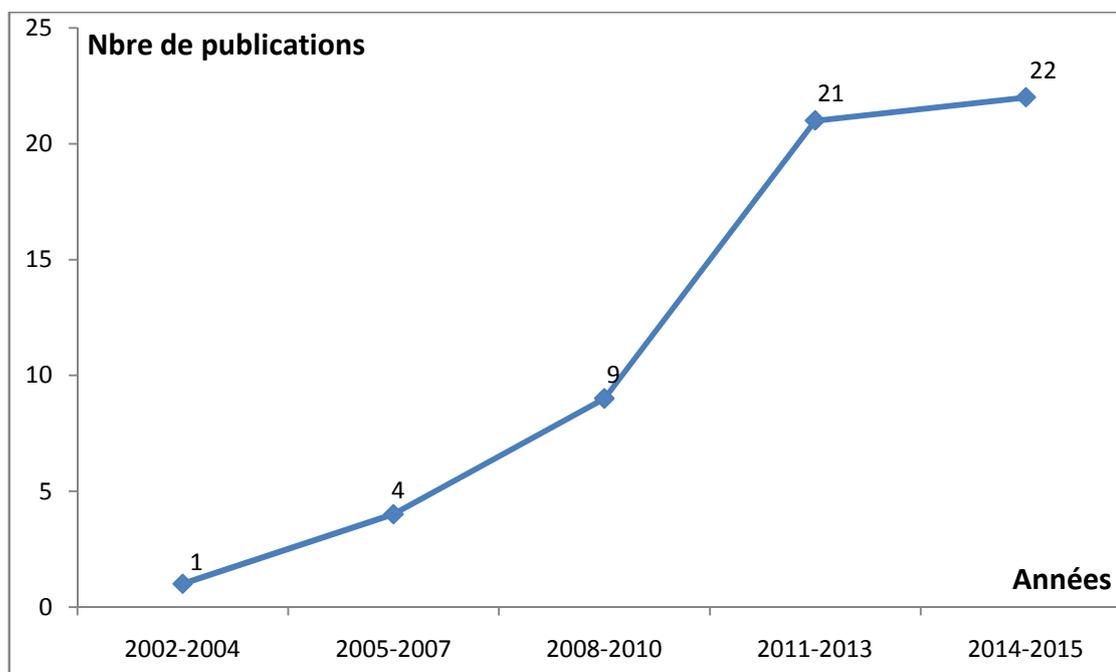


Figure 1 : Evolution des publications rapportant la résistance aux β -lactamines à large spectre chez les animaux de compagnie (PubMed, accéder le 24/05/2015)

La forte utilisation d'agents antimicrobiens chez les humains et chez les animaux est probablement la cause principale de cette situation. Ces agents exercent une pression de sélection non seulement sur les bactéries pathogènes, mais aussi sur des micro-organismes commensaux du tractus intestinal de l'homme et des animaux, et les bactéries commensales résistantes constituent un réservoir de gènes de résistance pouvant être transmis aux bactéries potentiellement pathogènes (Scott Weese, 2008). Il est connu depuis longtemps que l'intestin humain est un environnement propice pour le transfert horizontal de gènes entre les membres de la communauté microbienne le composant. *E. coli* se trouve couramment dans le tractus intestinal des animaux et des humains, et peut également être impliquée dans des maladies infectieuses animales et humaines. Pour cette raison, *E. coli* intestinale est considérée comme un indicateur de la pression de sélection exercée par l'utilisation des antibiotiques (Broaders et al., 2013; Szmolka et Nagy, 2013). 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 (Scott Weese, 2008).

Alors que la résistance aux antibiotiques est devenue une menace réelle, une équipe de chercheurs dirigée par le professeur A. TOUATI de l'université Abderrahmane Mira de Béjaïa tendent d'étudier ce phénomène. Leurs travaux de recherche sont essentiellement orientés sur la résistance aux antibiotiques des souches de bacilles à Gram négatif d'origine clinique, environnementale, alimentaire, ...etc. Cependant, aucune étude n'a été faite sur la résistance chez les animaux de compagnie au sein du laboratoire d'Ecologie Microbienne. Cela nous a paru pertinent d'évaluer le taux de portage fécal des souches d'*E. coli* isolées à partir d'animaux de compagnies au niveau de la wilaya de Béjaïa.

Dans ce contexte, nous ferons d'abord le point sur les différents articles publiés dans la littérature concernant la résistance aux bêta-lactamines chez les animaux de compagnie. Nous présenterons ensuite, après avoir explicité le travail expérimental, les résultats obtenus.

1. Résistance aux β -lactamines

La production d'enzymes hydrolysantes est le principal mécanisme de résistance des entérobactéries aux β -lactamines. La diversité de ces β -lactamases a entraîné de nombreuses tentatives de classification. Deux sont actuellement utilisées : la classification d'Ambler définit quatre classes d'enzymes désignées de A à D (Tableau I en annexe I). Les protéines de classe A, C et D sont des enzymes à sérine et les enzymes de classe B correspondent aux métallo-enzymes. La classification de Bush et Jacoby, basée sur les profils du substrat et d'inhibition, classe ces enzymes en trois groupes fonctionnels. Ainsi par exemple, les BLSE sont affectées dans le groupe 2be et 2de, les céphalosporinases plasmidiques sont incluses dans le groupe 1, les carbapénèmases de type *Klebsiella pneumoniae* dans le groupe 2f et les métallo- β -lactamases dans le groupe 3 (Bush et Jacoby, 2010).

1.1. β -lactamases à Spectre Etendu

Les BLSE sont définies comme étant des enzymes ayant une activité hydrolytique contre les céphalosporines à large spectre (ceftazidime ou céfotaxime), les pénicillines et l'aztréonam mais pas sur les céphamycines ou les carbapénèmes, et sont inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases tels que l'acide clavulanique (Lee et *al.*, 2012).

Durant les années 90, les BLSE décrites dérivait par mutations ponctuelles à partir des pénicillinases à large spectre TEM-1, TEM-2 et SHV-1. Selon la nature des mutations, ces enzymes conféraient une résistance plus marquée à la ceftazidime qu'au céfotaxime (ex : TEM-5, TEM-24, SHV-4, SHV-5) ou équivalente pour ces deux molécules (ex : TEM-3, SHV-2) (Pitout, 2012). A la date du 29 Mai 2015, 222 variantes TEM et 192 variantes SHV ont été décrites (www.lahey.org/studies/web.htm).

Au début des années 2000, les BLSE de type CTX-M ont émergé et continuent de prédominer comme une cause majeure de la résistance aux céphalosporines à spectre étendu chez les entérobactéries. Contrairement aux BLSE de type TEM et SHV, les enzymes de type CTX-M ne dérivent pas de mutations d'enzymes existantes, elles ont été acquises par transfert de gène latéral de *Kluyvera* sp. Les BLSE de type CTX-M sont phylogénétiquement divisées en 7 groupes (1, 2, 8, 9, 25, 74 et 75). Fait intéressant, la première enzyme CTX-M a été détectée dans les fèces d'un chien utilisé dans des essais de laboratoire au Japon en 1988 (Matsumoto et *al.*, 1988). A ce jour, 170 variantes CTX-M ont été identifiées (www.lahey.org/studies/web.htm).

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). Le tableau II en annexe II résume les différentes BLSE rapportées dans la littérature chez les animaux de compagnie.

1.2. AmpC

Les enzymes de type AmpC ont un spectre d'activité incluant les pénicillines, les céphalosporines, y compris les oxyimino-céphalosporines et les monobactames. Les enzymes de type AmpC sont peu inhibées par l'acide clavulanique et sont par contre inhibées par la cloxacilline. L'augmentation de la production d'AmpC peut être le résultat d'une dérégulation à la suite de mutations dans les gènes régulateurs. Lorsque les isolats présentent des déficiences de porines, la production d'AmpC peut être associée à la résistance aux carbapénèmes (Jacoby, 2009).

Les organismes produisant une AmpC plasmidique ont été rapportés dans les années 1990. Ces enzymes (CMY, ACT, FOX, et DHA) dérivent des céphalosporinases chromosomiques d'espèces bactériennes telles que *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Aeromonas* spp, et *Hafnia alvei*. Les gènes codant pour ces enzymes sont généralement portés sur de grands plasmides contenant des gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques (Philippon et al., 2002).

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 au Portugal (Feria et al., 2002). Depuis, le gène *blaCMY-2* et d'autres gènes *ampC*, ont été identifiés chez les animaux de compagnies dans de nombreux pays (Tableau III en annexe III).

1.3. Carbapénèmases

Les carbapénèmases décrites chez les entérobactéries peuvent être divisées en trois types. Les métallob- β -lactamases, les carbapénèmases de classe A (KPC) et les oxacillinases de type OXA-48-like (Pitout, 2012).

Les métallob- β -lactamases (MBL) ont un spectre d'activité hydrolytique comprenant les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les céphamycines, mais pas l'aztréonam (Pitout, 2012). Récemment l'émergence et la diffusion de NDM-1 (New Delhi métallob- β -lactamase) a attiré beaucoup d'attention. Les souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* productrices de NDM-1 ont été décrites pour la première fois en 2008 chez un patient suédois après avoir séjourné en Inde (Yong et al., 2009). Les autres MBL, y compris les types VIM et IMP sont plus fréquemment décrites chez *Pseudomonas aeruginosa* que chez les entérobactéries (Pitout, 2012).

Les carbapénèmases de type KPC appartiennent à la classe A d'Ambler, elles hydrolysent toutes les β -lactamines, y compris l'aztréonam, sont faiblement inhibées par le clavulanate *in vitro* et sont inhibées par l'acide boronique (Pitout, 2012). Les souches productrices de KPC sont très fréquentes en Amérique latine, en Chine et en Grèce. Le succès de la propagation des souches de *K. pneumoniae* productrices de KPC peut être attribué en grande partie à la diffusion du clone *K. pneumoniae* ST258 (Nordmann et al., 2009).

Les carbapénèmases de type OXA-48 appartiennent à la classe D d'Ambler et entraînent relativement une faible baisse de sensibilité aux β -lactamines. Ces enzymes hydrolysent les pénicillines, céphalosporines et les carbapénèmes et ne sont que faiblement actifs contre les oxyimino-céphalosporines et monobactames. Les carbapénèmases de type OXA ont été isolées le plus souvent chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, et sont endémiques en Turquie, Afrique du Nord et l'Inde (Poirel et al., 2013).

La résistance aux carbapénèmes est restée jusqu'à présent un phénomène rare chez les bactéries à Gram négatif isolées des animaux de compagnie. Deux rapports ont été publiés. Des souches d'*E. coli* d'origine canine et féline productrices d'NDM-1 ont été rapportées aux Etats-Unis par Shaheen et al., 2013. Des souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* productrices d'OXA-48 isolées d'animaux de compagnie ont été récemment identifiées en Allemagne (Stolle et al., 2013).

2. Génétique de la résistance

2.1. Transfert inter-espèces des déterminants de la résistance

Les β -lactamases sont situées sur des éléments génétiques mobiles telles que les intégrons, transposons et plasmides. Ces derniers jouent un rôle central dans la diffusion clinique de gènes de résistance aux antibiotiques entre les pathogènes et ont permis le développement rapide de la multi-résistance aux antibiotiques pour la plupart des classes d'antibiotiques utilisées en clinique (Broaders et *al.*, 2013).

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 des bactéries pathogènes pour l'homme, *via* les pathogènes zoonotiques ou les bactéries commensales. Une fois transmises à l'Homme, ces bactéries peuvent également transférer leurs gènes de résistance aux bactéries des flores commensales de l'individu, qui constituent elles-mêmes des réservoirs de gènes de résistance (Broaders et *al.*, 2013).

Les transferts de résistance animal-Homme peuvent se faire à partir des flores buccales ou oro-pharyngées, ou bien de la flore intestinale par l'intermédiaire d'un contact direct ou *via* l'environnement et la chaîne alimentaire. Les activités humaines ont également modifié la prévalence des gènes de résistance dans l'environnement. Les antibiotiques utilisés en médecine humaine ou en agriculture peuvent persister dans le sol et dans l'eau, et donc imposent une pression de sélection durable dans l'environnement (Figure 2) (Davies et Davies, 2010).

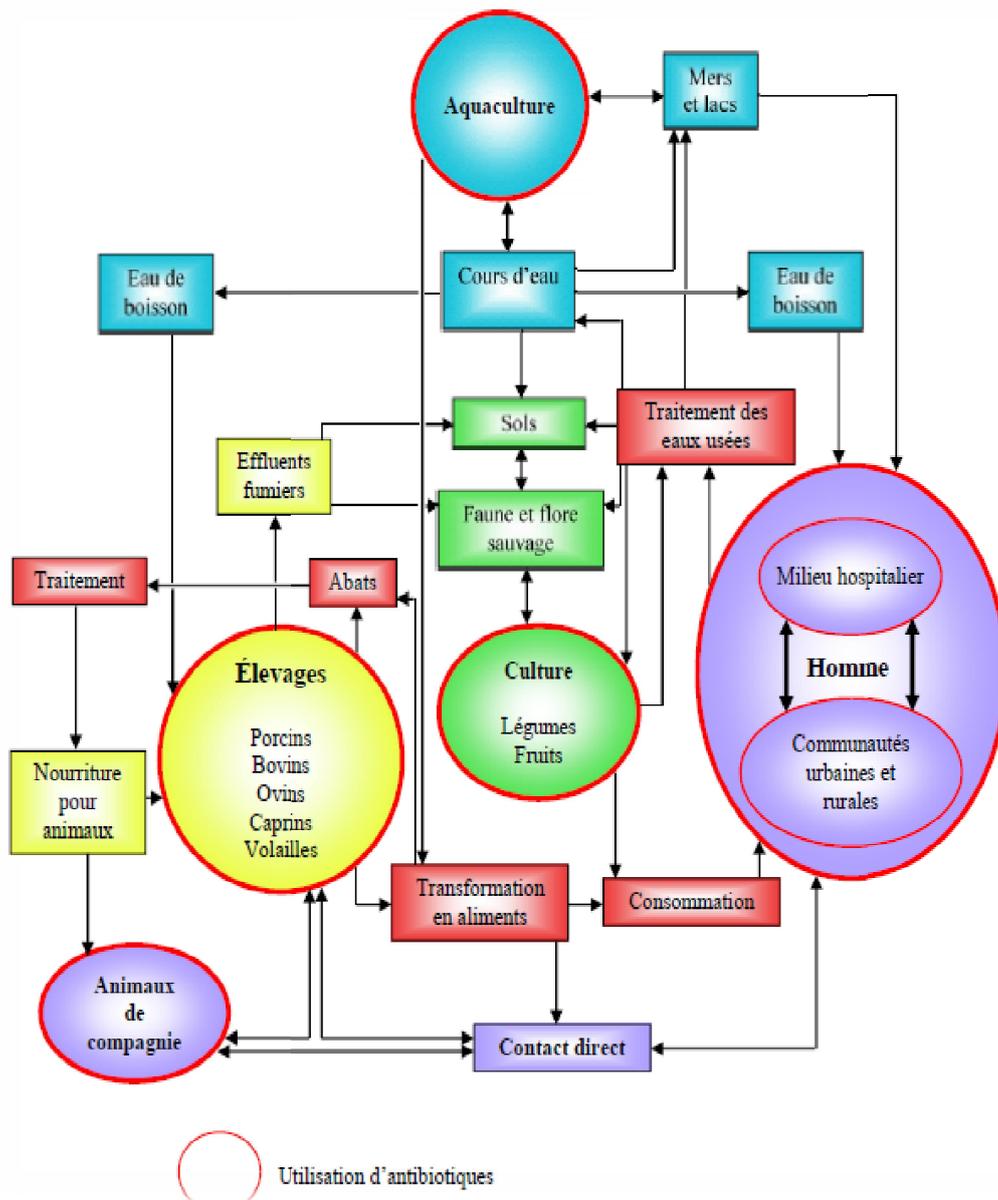


Figure 2 : Dissémination plausible ou avérée de la résistance aux antibiotiques à travers différents écosystèmes (Davies et Davies, 2010)

2.2. Plasmides et dissémination de la résistance

Les plasmides sont des molécules d'ADN extrachromosomiques à répllication autonome. La majorité sont des molécules d'ADN double-brin circulaires dont la taille peut varier de 2 à 3 kb jusqu'à avoir une taille équivalente à 10% de la taille du chromosome. Les plasmides peuvent coder pour une variété considérable de gènes, incluant ceux conférant la résistance aux antibiotiques, résistance aux métaux lourds et gènes de virulence. Ces déterminants offrent un avantage à leur hôte, ce qui permet de faire évoluer le plasmide en tant que partie intégrante du génome bactérien (Carattoli, 2013).

Les plasmides codant la résistance aux antibiotiques peuvent englober la majorité des classes d'antibiotiques actuellement utilisés en clinique, y compris les β -lactamines, aminosides, tétracyclines, chloramphénicol, sulfamides, triméthoprim, macrolides et les quinolones. Plusieurs déterminants de la résistance peuvent être identifiés sur le même plasmide, conférant un avantage sélectif aux bactéries lorsque plusieurs antibiotiques sont administrés simultanément. Les plasmides conférant une résistance à plusieurs antibiotiques sont généralement de grande taille (>50 Kb) et sont autotransférables (Carattoli, 2009).

Les plasmides peuvent acquérir des éléments génétiques mobiles (séquences d'insertion, transposons) qui mobilisent les gènes de résistance aux antibiotiques. Ils promouvoient le transfert horizontal des déterminants de la résistance chez les bactéries de différentes espèces dépendant de leur gamme d'hôtes étroits ou larges, des propriétés et de l'efficacité de la conjugaison (Carattoli, 2013).

Les réplicons contiennent une origine de répllication (*ori*), mais codent également pour des protéines initiatrices de répllication (Rep) et de leurs facteurs de régulation. L'incompatibilité des plasmides est une manifestation de parenté entre les séquences contrôlant la répllication, et elle a été utilisée pour classer les plasmides en groupes d'incompatibilité (Inc) (Carattoli, 2013). Le typage de réplicons basé sur l'amplification par PCR est actuellement la méthode de référence pour l'identification des plasmides, en ciblant les réplicons des grandes familles de plasmides retrouvés chez les entérobactéries et *Acinetobacter* (Carattoli, 2013).

Les plasmides IncF sont associés à la dissémination de plusieurs déterminants de la résistance et de la virulence et sont fréquemment détectés chez les entérobactéries (Carattoli, 2013). Le plasmide IncF a été identifié dans le clone pandémique virulent d'*E. coli* O25:H4-131, portant le gène *bla*_{CTX-M-15} isolé d'animaux de compagnie (Ewers et al., 2011 ; So et al.,

2012 ; Haenni et *al.*, 2014). En plus du gène *bla*_{CTX-M-15}, d'autres gènes BLSE ont été identifiés dans le plasmide IncF incluant *bla*_{CTX-M-1} et *bla*_{CTX-M-14} (Shaheen et *al.*, 2011 ; So et *al.*, 2012 ; Ho et *al.*, 2012 ; Tamang et *al.*, 2012 ; Ewers et *al.*, 2014).

La majorité des plasmides codants pour le gène *bla*CMY-2 identifiés chez *E. coli* isolées d'animaux de compagnie ont été rapportés pour être du groupe IncF et IncI1 (Shaheen et *al.*, 2011 ; So et *al.*, 2012 ; Tamang et *al.*, 2012 ; Haenni et *al.*, 2014 ; Vingopoulou et *al.*, 2014 ; Bortolaia et *al.*, 2014 ; Wagner et *al.*, 2014 ; Ben Sallem et *al.*, 2014). Tamang et *al.*, 2014 ont associés le gène *bla*DHA au groupe IncHI2.

OXA-48 et ses variantes sont les uniques carbapénèmases de classe D circulant chez les entérobactéries (Carattoli, 2013). Le gène *bla*_{OXA-48} a été identifié sur un plasmide de type IncL/M, qui ne porte pas d'autres gènes de résistance (Stolle et *al.*, 2013).

1. Souches bactériennes

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 ont été obtenus). 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.

L'écouvillon est utilisé pour faire un enrichissement sur deux bouillons nutritifs (Fluka, USA) contenant respectivement de l'ertapénème (0.5µg/ml) et de la céftazidime (1µg/ml). Après incubation à 37°C/24h, on ensemence avec 200 µl de culture deux géloses Mac Conckey (Liofilchem, Italie) additionnée de vancomycine (16 µg/ml) et respectivement de céftazidime et d'imipénème avec une concentration finale de 1 µg/ml et 0.5 µg/ml. Après incubation à 37°C/24h, 2 à 3 colonies ont été réisolées sur gélose Mac Conckey sans antibiotiques.

Les souches d'*E. coli* ont été identifiées à l'aide de l'emploi d'une mini-galerie biochimique (Milieux urée/indole, TSI et Clark et Lubs). L'identification est confirmée par l'utilisation de galeries API20E (Bio-Mérieux, France). Il est à noter que les milieux de cultures utilisés au cours de notre travail sont montrés dans l'annexe IV.

2. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de l'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller Hinton (Liofilchem, Italie) selon les recommandations du Comité Européen de l'Antibiogramme EUCAST (www.eucast.org). Des boites de gélose Mueller Hinton ont été ensemencées par écouvillonnage à partir d'une suspension bactérienne d'environ 10^8 bactéries/ml diluée au 1/10^{ème}. 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 IV : Antibiotiques testés

Antibiotiques	Abréviation	Charge (µg)	Famille	Diamètres critiques	
				S	R
Céfoxitine	FOX	30	β-lactamines	≥19	<19
Ceftazidime	CAZ	30	β-lactamines	≥22	<19
Céfotaxime	CTX	30	β-lactamines	≥20	<17
Céfépime	FEP	30	β-lactamines	≥24	<21
Imipénème	IMP	10	β-lactamines	≥22	<16
Ertapénème	ERT	10	β-lactamines	≥25	<22
Ticarcilline	TIC	75	β-lactamines	≥23	<23
Pipéracilline-tazobactam	TZP	30+6	β-lactamines	≥20	<17
Amoxicilline-clavulanate	AMC	20+10	β-lactamines	≥16	<16
Aztréonam	ATM	30	β-lactamines	≥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	1,25+23,75	Sulfamides	≥16	<13

* L'interprétation des diamètres de la tétracycline est effectuée selon les recommandations du CA-SFM, 2013.

3. Détermination des phénotypes de résistance

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

La présence d'une β-lactamase à spectre étendu a été détectée par le test de synergie (DD-test) qui consiste à déposer des disques de céftazidime (CAZ, 30µg), céfotaxime (CTX, 30 µg), aztréonam (ATM, 30µg) et céfépime (FEP, 30µg) à une distance de 20 mm (centre à centre) d'un disque d'amoxicilline /acide clavulanique (AMC, 20/10 µg). 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

Il est réalisé chez les souches ne présentant pas d'image de synergie, et résistante à la céfoxitine afin de rechercher la présence d'une céphalosporinase, la sensibilité de la souche aux β -lactamines est déterminée simultanément sur gélose Mueller Hinton et Mueller Hinton additionnée de cloxacilline à une concentration finale de 250 $\mu\text{g/ml}$. La comparaison des diamètres d'inhibition entre les boîtes avec et sans cloxacilline permet de mettre en évidence la production d'une céphalosporinase (diamètres d'inhibition $\geq 6\text{mm}$) associée ou non à une BLSE (Giraud-Morin et Fosse, 2008).

3.3. Recherche de la production d'une carbapénèmase

3.3.1. Test de Hodge

Un disque d'imipénème (IMP, 10 μg) est appliqué au centre d'une gélose de Mac Conkey préalablementensemencée avec une souche de référence d'*E coli* ATCC25922. Ensuite les souches à tester sontensemencées 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 (*K. pneumoniae* ATCC BAA-1705) et d'un autre négatif (*K. pneumoniae* ATCC 8291T). Après 24h d'incubation à 37°C, la production d'une carbapénèmase se traduit par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'imipénème (Lee et *al.*, 2010).

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 carbapénèmase. Nous avons utilisé le protocole du Carba NP test modifié (Bakour et *al.*, 2015).

Un volume de 200 μl de tampon de lyse (CTAB 0.02 %) est dispensé dans un tube Eppendorf. On dissocie une öse calibrée (10 μl) de colonies bactériennes dans le tampon de lyse, on vortex 1 à 2 min et on répartit 100 μl de la suspension dans 2 tubes Eppendorf numérotés "A" et "B". On ajoute 100 μl de la solution A (Annexe V) dans le tube "A" et 100 μl de la Solution A+imipénème 6mg/ml dans le tube Eppendorf "B". On vortex et on incube à 37°C pendant un maximum de 2h. La lecture visuelle de la couleur est 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).

3.3.3. Recherche de la production de métallo- β -lactamases (M β L)

➤ **Méthode des disques combinés**

Deux disques d'imipénème (IMP, 10 μ g) sont déposés séparément sur la gélose Mueller Hinton préalablementensemencée avec la souche à tester. Un volume de 5 μ l d'une solution d'EDTA (0.5 M, pH 8) est ajouté à l'un des disques. De plus, un disque vierge imbibé de 5 μ l d'EDTA est ajouté (Témoin). 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 β L (Yong et *al.*, 2002).

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

Un DD-test est réalisé avec un disque d'imipénème (IMP, 10 μ g) déposé à 15 mm d'un disque vierge imbibé de 10 μ l de la solution d'EDTA (0,5 M, pH8). La présence d'une M β 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

On cultive les souches donatrices et la souche réceptrice d'*E. coli* J52 résistante à l'azide de sodium dans 10 ml de bouillon Luria. Après une nuit d'incubation à 37°C sous agitation, on prélève 200 μ l de la souche réceptrice et donatrice et on réensemence dans 10 ml de bouillon Luria. On incube sans agitation pendant 4h à 37°C. Ensuite, dans un récipient, on mélange 500 μ l de la culture de la souche donatrice avec 2ml de la 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 deux dilutions décimales de 10⁻¹ et 10⁻² du mélange et onensemence avec 200 μ l du mélange et des dilutions sur la surface de la gélose Luria contenant soit de la céftazidime (4 μ g/ml) ou de l'imipénème (0.5 μ g/ml) et l'azide de sodium (200 μ g/ml). On incube les boîtes de sélection à 37°C pendant 18h. 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 transconjugant un antibiogramme, un DD-test et on détermine sa Concentration Minimale Inhibitrice.

5. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices en milieu solide

La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) est effectuée pour les 33 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 mère de 10240 mg/l préparée à partir d'une poudre d'antibiotiques (céftazidime, céfotaxime et imipénème) pour solutions injectables. A partir de la solution mère, des dilutions (à raison de deux) ont été préparées en suivant les étapes décrites dans le tableau ci-dessous.

Tableau V : Préparation de la gamme d'antibiotiques avec les différentes dilutions

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

Dans une boîte de Pétri, on répartit 1 ml de chaque dilution auquel on ajoute 19 ml de gélose Mueller Hinton en surfusion et les boîtes sont ensuite séchées. Une suspension bactérienne de 10^6 UFC/ml a été préparée et à l'aide d'une micropipette, 10 μ l de cette suspension 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. Etude statistique

Deux tests statistiques ont été effectués, le test de χ^2 et le test exact de Fisher pour donner la significativité entre les taux de résistances aux antibiotiques testés. La différence entre les fréquences est considérée comme significative lorsque $p \leq 5\%$.

1. population étudiée

Au cours de notre étude, un total de 200 animaux de compagnie (116 chiens et 84 chats) ont été inclus (Tableau VI en annexe VI). Parmi eux, 174 animaux (93 chiens et 81 chats) ont été prélevés au niveau du cabinet vétérinaire du Dr. HASSISSENE contre 26 (23 chiens et 03 chats) chez des propriétaires privés. Un nombre de 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) (Tableau VII).

Tableau VII: Résultats des prélèvements recueillis

Animal	Catégorie	Vétérinaire Dr HASSISSENE	Propriétaires privés	Effectif	Total animal
Chats	Bonne santé	66	3	69	84
	Malade	15	0	15	
Chiens	Bonne santé	81	21	102	116
	Malade	12	2	14	

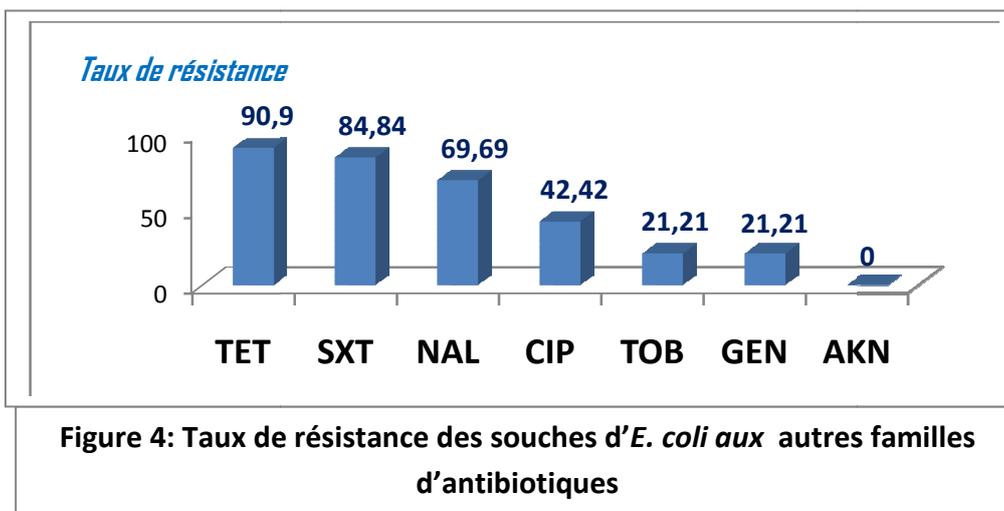
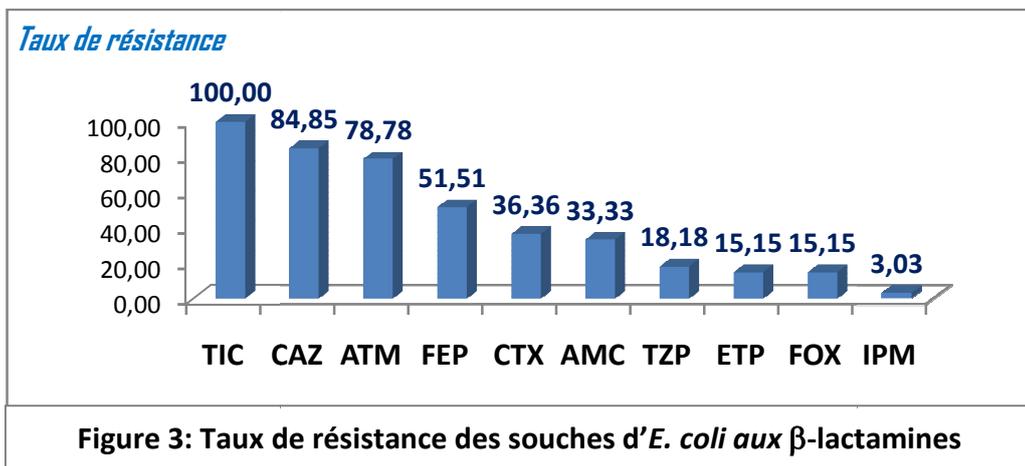
Les résultats obtenus des galeries biochimiques et API20E ont permis d'identifier les souches isolées comme étant des *E. coli* (Tableau VIII en annexe VII). L'isolement sur gélose de sélection a permis de sélectionner 33 souches d'*E. coli* résistantes. Parmi elles, 24 souches ont été isolées chez les chiens contre 9 souches chez les chats.

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 le tableau IX et les figures 3 et 4. 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. Pour le reste des β -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 4).

Tableau IX: Résultats de la sensibilité des 33 souches d'*E. coli* aux antibiotiques (Diamètres et catégories cliniques)

code	Animal	TIC	AMC	FEP	ETP	CTX	ATM	FOX	CAZ	IPM	TZP	TET	AKN	TOB	GEN	CIP	NAL	SXT	Indice
39	Chien	6(R)	26(S)	>32(S)	>32(S)	36(S)	19(R)	28(S)	17(R)	>32(S)	30(S)	6(R)	24(S)	22(S)	23(S)	27(S)	25(S)	6(R)	0.29
44	Chien	6(R)	26(S)	20(R)	>32(S)	>32(S)	20(R)	30(S)	17(R)	>32(S)	24(S)	6(R)	23(S)	10(R)	10(R)	6(R)	6(R)	6(R)	0.58
65	Chat	6(R)	11(R)	>32(S)	>32(S)	21(S)	25(S)	10(R)	16(R)	>32(S)	25(S)	6(R)	26(S)	24(S)	24(S)	10(R)	6(R)	6(R)	0.47
67	Chien	6(R)	23(S)	20(R)	>32(S)	18(I)	18(R)	29(S)	18(R)	>32(S)	30(S)	6(R)	26(S)	24(S)	25(S)	29(S)	27(S)	6(R)	0.41
77	Chien	6(R)	>32(S)	26(S)	>32(S)	15(R)	20(R)	29(S)	20(I)	>32(S)	>32(S)	6(R)	25(S)	22(S)	24(S)	23(S)	15(I)	6(R)	0.41
78	Chien	6(R)	27(S)	24(S)	>32(S)	15(R)	21(I)	28(S)	21(I)	>32(S)	26(S)	6(R)	24(S)	22(S)	24(S)	24(S)	15(I)	6(R)	0.41
79	Chien	6(R)	>32(S)	24(S)	>32(S)	14(R)	20(R)	29(S)	21(I)	>32(S)	>32(S)	6(R)	25(S)	21(S)	23(S)	23(S)	14(I)	6(R)	0.41
86	Chat	6(R)	>32(S)	24(S)	>32(S)	14(R)	21(I)	>32(S)	18(R)	>32(S)	>32(S)	6(R)	26(S)	24(S)	24(S)	24(S)	15(I)	6(R)	0.41
87	Chat	6(R)	28(S)	22(I)	>32(S)	24(S)	20(R)	29(S)	20(I)	>32(S)	>32(S)	6(R)	22(S)	20(S)	23(S)	22(S)	16(I)	6(R)	0.41
93	Chien	6(R)	22(S)	>32(S)	>32(S)	26(S)	14(R)	27(S)	14(R)	>32(S)	24(S)	6(R)	24(S)	23(S)	23(S)	10(R)	6(R)	6(R)	0.41
94	Chien	6(R)	>32(S)	26(S)	>32(S)	18(I)	23(I)	>32(S)	21(I)	>32(S)	>32(S)	29(S)	25(S)	22(S)	23(S)	27(S)	25(S)	>32(S)	0.23
99	Chat	6(R)	8(R)	>32(S)	22(I)	31(S)	>32(S)	29(S)	>32(S)	26(S)	15(R)	6(R)	25(S)	17(S)	10(R)	>32(S)	21(S)	6(R)	0.41
99B	Chat	6(R)	24(S)	21(I)	>32(S)	>32(S)	20(R)	>32(S)	20(I)	>32(S)	6(R)	0.29							
100	Chien	6(R)	8(R)	>32(S)	22(I)	26(S)	>32(S)	30(S)	>32(S)	25(S)	14(R)	6(R)	25(S)	16(S)	9(R)	>32(S)	21(S)	6(R)	0.41
100B	Chien	6(R)	20(S)	17(R)	>32(S)	9(R)	12(R)	25(S)	15(R)	>32(S)	28(S)	6(R)	24(S)	22(S)	23(S)	26(S)	25(S)	20(S)	0.35
132	Chat	6(R)	7(R)	34(S)	22(I)	25(S)	28(S)	10(R)	19(I)	26(S)	16(R)	6(R)	25(S)	23(S)	24(S)	6(R)	6(R)	6(R)	0.58
140	Chien	6(R)	15(R)	10(R)	>32(S)	6(R)	8(R)	22(S)	13(R)	>32(S)	24(S)	6(R)	24(S)	8(R)	11(R)	25(S)	13(R)	17(S)	0.58
142	Chat	6(R)	17(R)	19(R)	>32(S)	30(S)	16(R)	27(S)	18(R)	>32(S)	23(S)	6(R)	21(S)	9(R)	21(S)	6(R)	6(R)	6(R)	0.58
153	Chat	6(R)	19(S)	17(R)	>32(S)	13(R)	18(R)	28(S)	21(I)	>32(S)	25(S)	6(R)	25(S)	22(S)	23(S)	11(R)	6(R)	6(R)	0.52
154B	Chien	6(R)	28(S)	>32(S)	>32(S)	>32(S)	20(R)	30(S)	17(R)	>32(S)	30(S)	8(R)	25(S)	24(S)	24(S)	14(R)	6(R)	6(R)	0.41
159	Chien	22(R)	12(R)	>32(S)	>32(S)	29(S)	28(S)	16(R)	22(S)	>32(S)	25(S)	6(R)	25(S)	24(S)	24(S)	>32(S)	14(I)	6(R)	0.35
161	Chien	21(R)	12(R)	>32(S)	>32(S)	31(S)	29(S)	15(R)	23(S)	>32(S)	27(S)	6(R)	27(S)	25(S)	27(S)	32(S)	13(R)	6(R)	0.35
168	Chien	6(R)	12(R)	21(I)	>32(S)	21(S)	17(R)	28(S)	18(R)	>32(S)	19(I)	6(R)	24(S)	23(S)	23(S)	26(S)	25(S)	6(R)	0.47
171	Chien	6(R)	24(S)	21(I)	>32(S)	28(S)	18(R)	29(S)	18(R)	>32(S)	30(S)	6(R)	25(S)	23(S)	24(S)	26(S)	29(S)	6(R)	0.35
172	Chien	6(R)	22(S)	21(I)	>32(S)	30(S)	17(R)	30(S)	16(R)	>32(S)	26(S)	6(R)	24(S)	23(S)	23(S)	23(S)	14(I)	6(R)	0.41
174	Chien	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	6(R)	17(R)	6(R)	6(R)	22(S)	11(R)	23(S)	6(R)	6(R)	26(S)	0.82
180	Chien	6(R)	22(S)	>32(S)	>32(S)	>32(S)	20(R)	>32(S)	18(R)	>32(S)	>32(S)	6(R)	25(S)	24(S)	24(S)	10(R)	6(R)	18(S)	0.35
182	Chien	6(R)	24(S)	21(I)	>32(S)	26(S)	16(R)	30(S)	14(R)	>32(S)	>32(S)	6(R)	25(S)	22(S)	23(S)	26(S)	24(S)	6(R)	0.35
184	Chien	6(R)	19(S)	15(R)	>32(S)	9(R)	15(R)	29(S)	18(R)	>32(S)	26(S)	6(R)	25(S)	23(S)	24(S)	6(R)	6(R)	6(R)	0.52
188	Chien	6(R)	25(S)	20(R)	>32(S)	22(S)	17(R)	30(S)	17(R)	>32(S)	>32(S)	6(R)	25(S)	16(S)	11(R)	6(R)	6(R)	6(R)	0.52
190	Chat	6(R)	24(S)	19(R)	>32(S)	14(R)	17(R)	30(S)	16(R)	>32(S)	>32(S)	6(R)	24(S)	14(I)	10(R)	6(R)	6(R)	6(R)	0.64
192	Chien	6(R)	26(S)	19(R)	>32(S)	27(S)	17(R)	29(S)	19(I)	>32(S)	27(S)	6(R)	24(S)	17(S)	12(R)	6(R)	6(R)	6(R)	0.52
192B	Chien	6(R)	6(R)	>32(S)	21(R)	31(S)	>32(S)	26(S)	>32(S)	28(S)	13(R)	27(S)	25(S)	24(S)	24(S)	6(R)	6(R)	6(R)	0.44



Les taux de résistance aux antibiotiques obtenus pour les chiens et chats sont donnés dans la figure 5. La comparaison statistique entre les taux de résistance aux antibiotiques obtenus pour les chiens et chats ne montrent aucune différence significative entre ces taux (p -value>0.05).

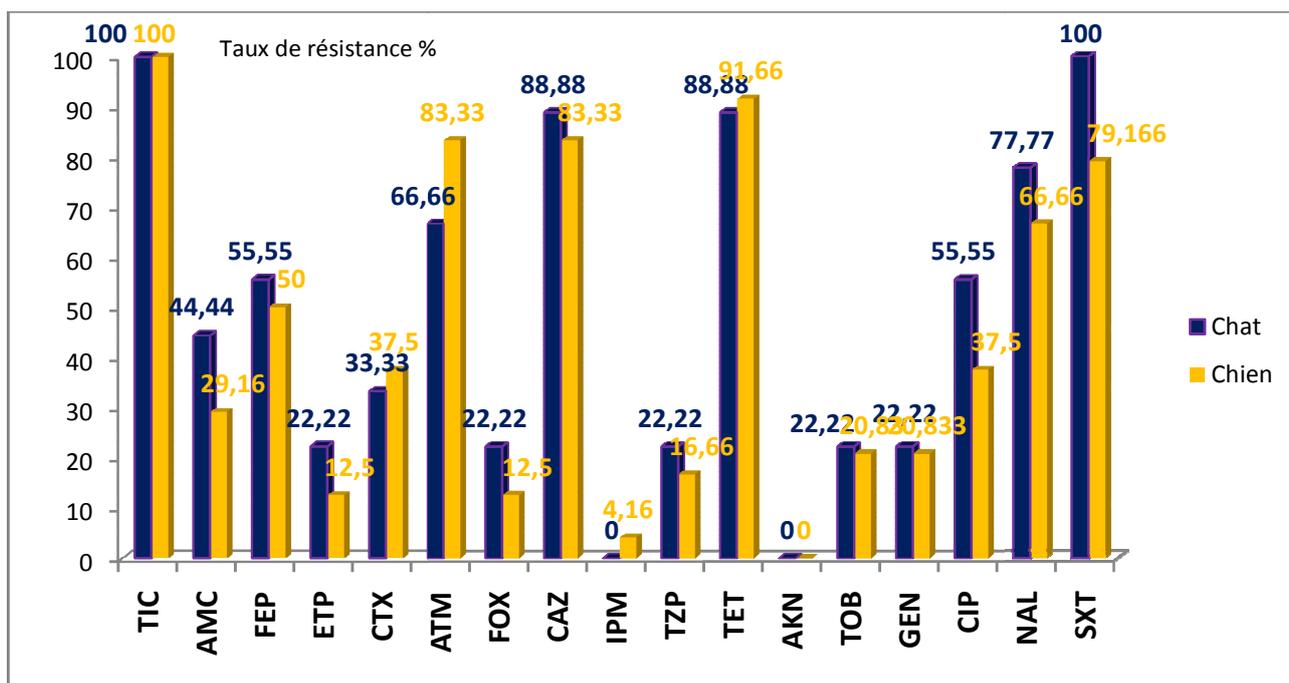


Figure 5: Comparaison entre les taux de résistance aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées chez les chiens et chats.

L'indice de multirésistance aux antibiotiques nous renseigne sur la multirésistance 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 étude). La figure 6 donne la distribution des 33 souches testées par rapport à leurs indices de multirésistance. 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 multirésistance de 0.35 et 0.41.

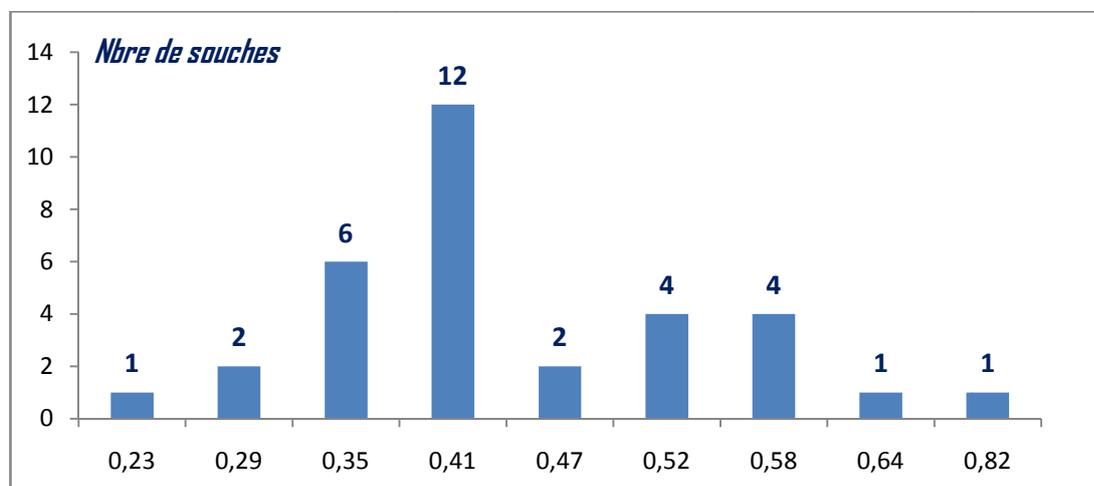


Figure 6 : Indices de multirésistance calculés pour les 33 souches d'*E. coli*

3. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Les CMI ont été déterminées pour les 33 souches d'*E. coli* vis-à-vis du céfotaxime et du céftazidime (Tableau X en annexe VIII et figure 7). Pour l'imipénème, ces CMI ont été déterminées uniquement pour les 5 souches résistantes à l'ertapénème et montrent que 4 souches d'*E. coli* ont une CMI vis-à-vis de l'imipénème de 2 mg/l contre une seule souche ayant une CMI de 16 mg/l (S174).

On note que la CMI moyenne vis-à-vis du céfotaxime et à la céftazidime est de 64 mg/l et 8mg/l respectivement. En ce qui concerne les CMI de la céftazidime et du céfotaxime (figure 7), on note que 5 et 4 souches d'*E. coli* possèdent respectivement des CMI <1 mg/l. 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 32 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.

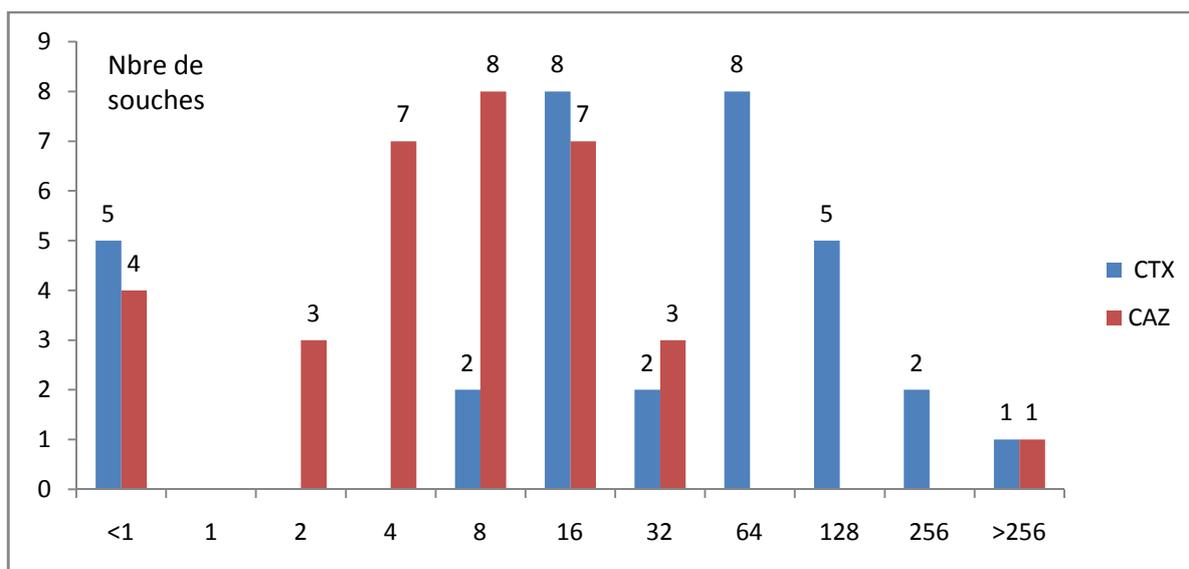


Figure 7 : Distribution des CMI vis-à-vis du CAZ et CTX des souches d'*E. coli* testées

4. Analyse des phénotypes de résistance

- **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^{ème} génération, traduisant ainsi la production probable d'une BLSE chez ces souches (figure 8). Il est à noter que pour la souche S174, qui est résistante aux carbapénèmes, une image de synergie est observée uniquement entre l'aztréonam et l'amoxicilline-clavulanate (figure 9).

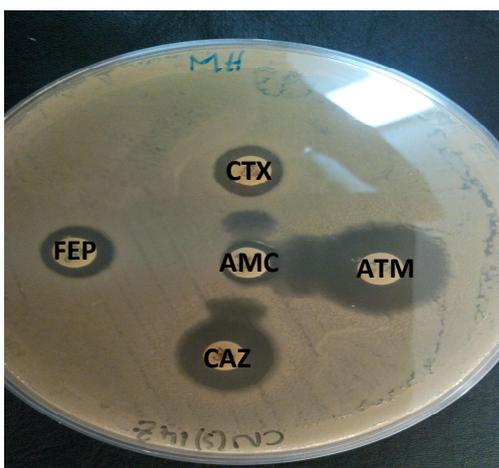


Figure 8 : Image de synergie obtenue dans le DD-test pour la souche S79

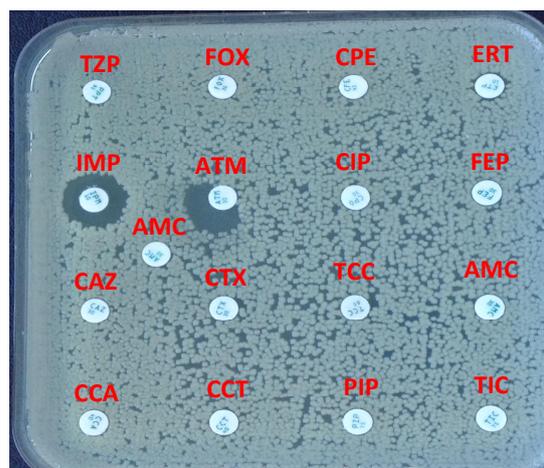


Figure 9 : Image de synergie obtenue pour la souche S174

- **DD-test sur gélose MH+cloxacilline**

Les 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 10), traduisant la production probable d'une céphalosporinase.

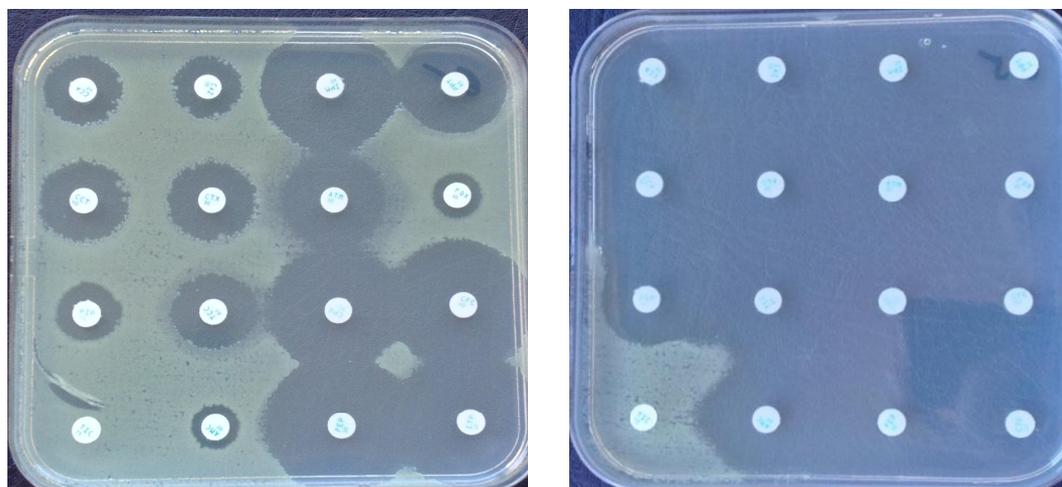


Figure 10: Antibiogramme de la souche S65 sur gélose MH (à gauche) et gélose MH+cloxacilline (à droite)

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

Le test de Hodge et le Carba NP test modifié ont été positifs pour les 5 souches d'*E. coli* résistantes ou intermédiaires à l'ertapénème, indiquant la production probable d'une carbapénémase (figure 11 et 12).

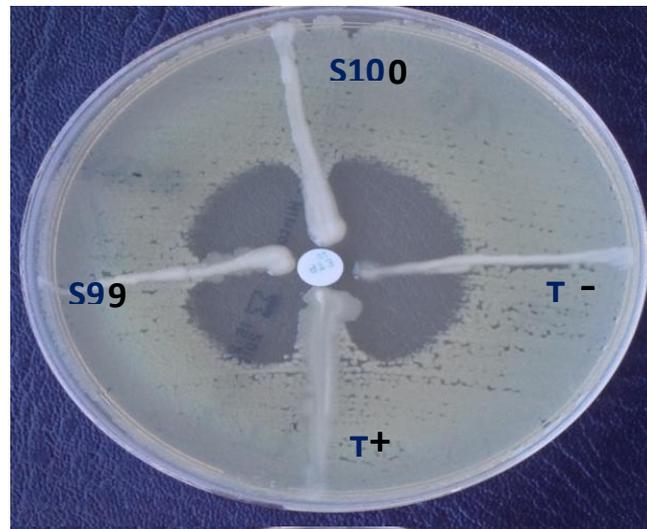


Figure 11: Résultat du test de Hodge pour les souches S99 et S100.

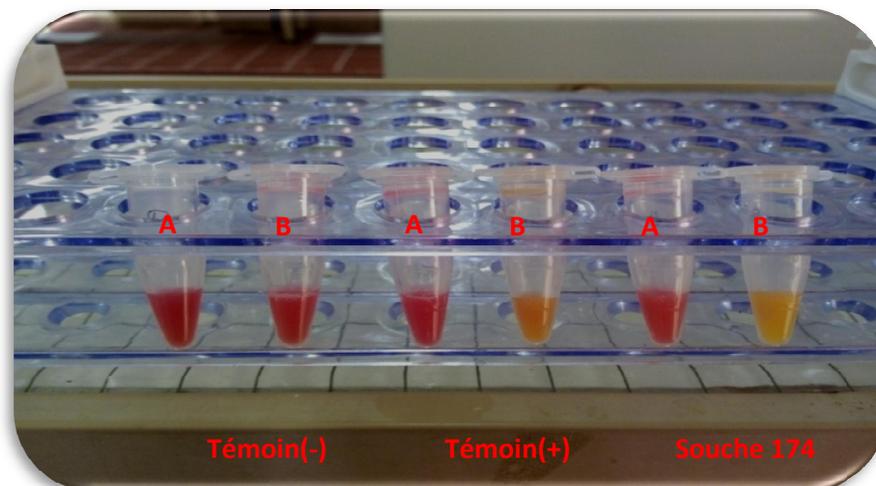


Figure 12: Résultat du Carba NP test modifié pour la souche 174.

- **Recherche de métallo- β -lactamases**

Le test à l'EDTA est positif uniquement pour la souche 174 indiquant la présence d'une carbapénémase de type métallo- β -lactamase (figure 13).

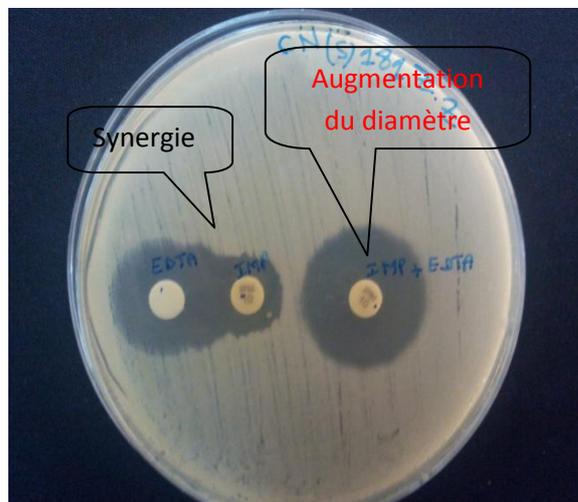


Figure 13: Résultat du test à l'EDTA

5. Déduction des phénotypes de résistance

La figure 14 résume notre démarche visant à interpréter les phénotypes de résistance aux bêta-lactamines des souches d'*E. coli* isolées à partir de la flore fécale d'animaux de compagnie. Elle repose sur l'analyse du phénotype de résistance, des tests de détection des BLSE, céphalosporinases plasmidiques et des carbapénémases 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 carbapénémases par le test de Hodge et le Carba NP-test modifié. Cependant une carbapénémase de type métallo- β -lactamase est suspectée si le test à l'EDTA est positif. Tandis que les carbapénémases de type OXA-48 sont sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération contrairement aux types M β L et KPC qui y sont résistants, dans le cas où l'enzyme OXA-48 n'est pas associée à d'autres mécanismes.

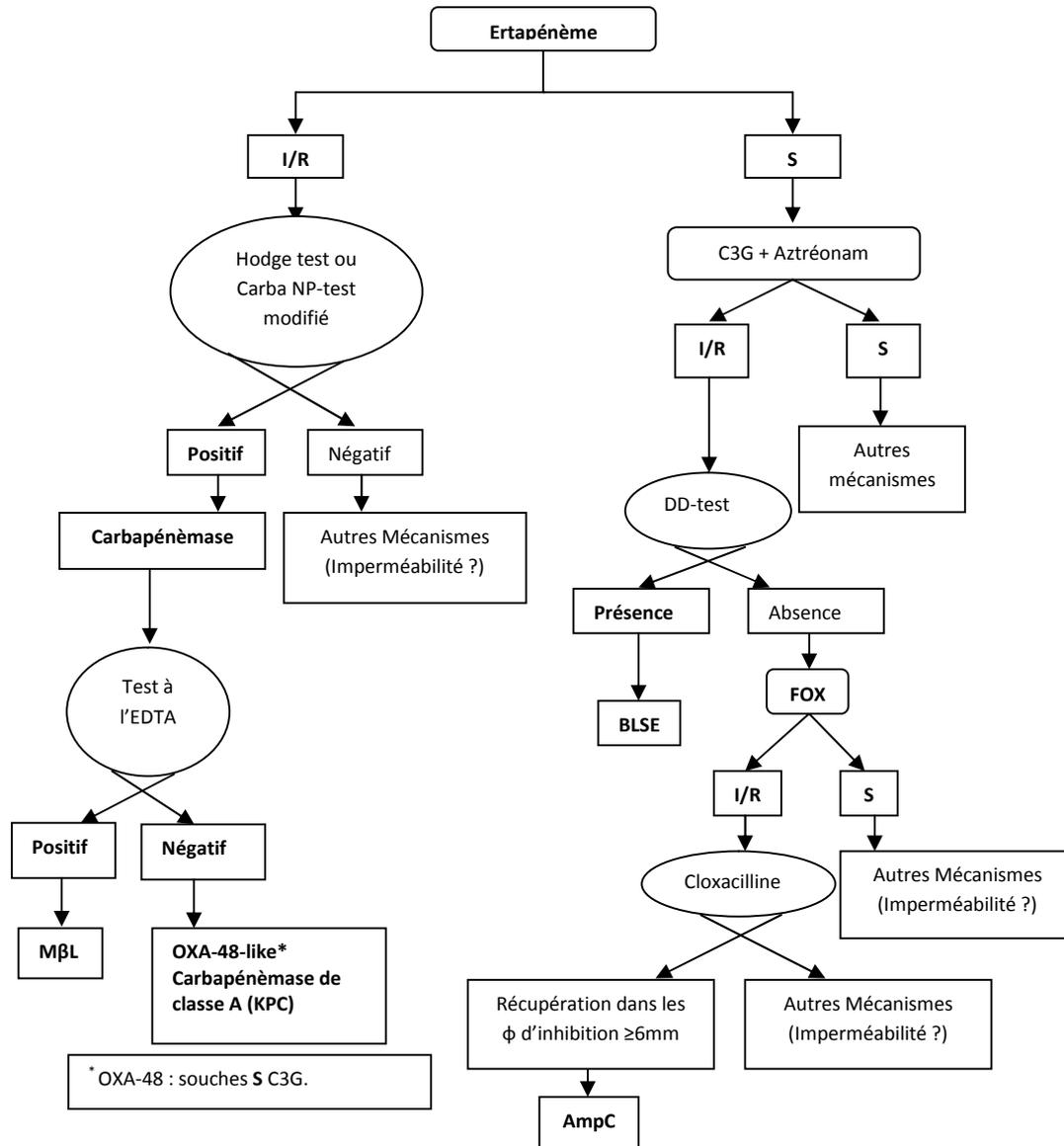


Figure 14 : Arbre prédictif permettant d'interpréter les mécanismes de résistance des souches d'*E. coli* isolées d'animaux de compagnie aux β -lactamines

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, 04 souches produiraient une AmpC plasmidique et 02 souches coproduisent simultanément une MBL et une BLSE (souche 174) et une OXA-48-like et une AmpC (souche 132), respectivement.

Tableau XI: Phénotypes de résistance probables aux β -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	-	+	+	+	-	OXA-48like+AmpC
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	+ ¹	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

¹ : positive uniquement avec l'aztréonam

6. Taux de portage fécal des souches d'*E. coli* résistantes aux β -lactamines 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.

Pour les chiens analysés, 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 sujets malades étaient porteurs contre 7.6% (5/66) pour les sujets 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 2% (4/200) dont 1.7% (2/116) pour les chiens contre 2.4% (2/84) pour les chats. Concernant le

portage des souches productrices de carbapénèmases, nous avons observé un taux de portage de 2.5% (5/200) dont 2.6% (3/116) pour les chiens contre 2.38% (2/84) pour les chats.

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

- **Etude Statistique**

Malgré que des différences soient observées au niveau des différents taux de portage fécal décrits ci-dessus, cependant aucune différence significative n'est notée ($P \geq 0.005$).

7. 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 ainsi que les phénotypes de résistance obtenus des transconjugants sont montrés dans le tableau XII. Il est à noter que la résistance aux différents antibiotiques testés est variable entre les souches d'origine et leurs transconjugants. Tous les transconjugants sont sensibles aux autres familles d'antibiotiques que les β -lactamines, sauf le transconjugant T93 qui est résistant à la tétracycline.

Concernant les CMI du céfotaxime et de la ceftazidime des transconjugants, elles varient de 4 mg/l à 128 mg/l et de 16 mg/l respectivement, tandis que les CMI du transconjugant T93 sont restées identiques à celles de la souche d'origine (S93). Quatre transconjugants montrent un phénotype BLSE et deux montrent un phénotype AmpC.

Tableau XII: Sensibilité aux antibiotiques, CMI et phénotypes de résistance obtenus des transconjugants

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

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 agent pathogène important causant diverses maladies, y compris les infections gastro-intestinales, urinaires et septicémiques. Pour le traitement de ces infections, les β -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. La taille de notre échantillon est relativement petite, par conséquent l'extrapolation de nos résultats pour la population générale des chats et chiens au niveau de la wilaya de Bejaïa doit être faite avec précautions.

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, AmpC et carbapénèmases). Nos résultats sont similaires à ceux rapporté 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) et une prévalence de 18% (n=368) rapportés par Henni et *al.*, 2014 en France.

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 rapporté 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% (chiens : n=40 et chats : n=40).

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 le confirmer. 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. Les types de BLSE et d'AmpC chez *E. coli* décrites chez les animaux de compagnie ont été rapportés par plusieurs auteurs comme, précédemment décrit dans le (Tableau II et III en annexe II).

En Algérie, plusieurs auteurs ont rapporté la dissémination des gènes BLSE (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV-12}, ...etc) et AmpC (*bla*_{CMY}, *bla*_{DHA},...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.*, 2012 ont rapporté des souches d'*E. coli* communautaires productrices de *bla*_{CMY-4} et/ou CTX-M-15 (Gharout et *al.*, 2012 ; Gharout et *al.*, 2015). Brahmi et *al.*, 2015 ont rapporté des souches d'*E. coli* productrices de CTX-M isolées du poisson.

Dans notre étude, nous avons trouvé deux souches d'*E. coli* isolée d'un chien productrice d'une métallo-β-lactamase et 4 souches d'*E. coli* isolées de chiens et chats probablement productrices de carbapénèmes de type OXA-48. Uniquement 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 carbapénèmes de type OXA-48 en Allemagne. Par contre aucune étude sur les carbapénèmes n'a été rapportée en Afrique chez les animaux de compagnie.

Dans notre étude, nous avons détecté 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) (Costa et *al.*, 2008).

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 adényltransféases(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. *rmtB* a été rapporté par Liao et *al.*, 2013 chez de souches d'*E. coli* productrices de CTX-M-15 et CTX-M-14 en Chine.

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 en Chine (Ma et *al.*, 2009). Sallem et *al.*, 2013, ont décrit le gène *qnrB19* chez une souche d'*E. coli* productrice de CTX-M-1.

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 où la tétracycline a été co-transférée 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. De plus l'utilisation d'autres souches réceptrices autres qu'*E. coli*, comme *P. mirabilis* rifampicine résistante, est souhaitée pour augmenter la probabilité de transfert des déterminants de la résistance.

L'enzyme OXA-48 et une variante sont les uniques carbapénémases de classe D circulant chez les entérobactéries. Le gène *bla_{OXA-48}* a été identifié sur des plasmides de type IncL/M, qui ne portent pas d'autres gènes de résistance (Stolle et *al.*, 2013).

En conclusion, il est connu que les animaux de compagnie vivent souvent en contact très étroit avec leurs propriétaires, et plusieurs publications ont rapporté l'apparition des mêmes gènes de résistance chez les animaux de compagnie et chez les humains et le transfert possible de bactéries des animaux aux humains et vice versa. La détection de ces souches résistantes aux antibiotiques chez les animaux de compagnie en bonne santé peut être une source de préoccupation, en particulier en absence de facteurs 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 obtenus au cours de notre étude fournissent un point de départ pour étudier l'impact de la résistance aux antibiotiques chez les animaux de compagnie. En perspective, notre travail est préliminaire et un certains nombre de points doivent être pris en compte:

- L'étude doit englober un effectif d'animaux de compagnie plus large et des cabinets vétérinaires représentatifs de toute la wilaya afin d'avoir des résultats statistiquement significatifs et représentatifs. D'autres animaux de compagnie comme les chevaux peuvent également être inclus. De plus, les prélèvements cliniques à visé diagnostic doivent aussi être inclus pour estimer les taux de résistance et de caractériser les mécanismes de résistance en cause.
- Etudier les facteurs de risque d'acquisition de souches multirésistantes en établissant une fiche de renseignement indiquant l'historique de l'animal.
- Faire un état des lieux de l'usage des antibiotiques, notamment des β -lactamines, en médecine vétérinaire et particulièrement chez les animaux de compagnie.

1. **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.
2. **Baede VO, Wagenaar JA, Broens EM, Duim B, Dohmen W, Nijse R, Timmerman AJ, Hordijk J.** (2015). Longitudinal Study of Extended-Spectrum- β -Lactamase- and AmpC-Producing *Enterobacteriaceae* in Household Dogs. *Antimicrob Agents Chemother*. **59**, 3117-24.
3. **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.
4. **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 β -lactamases in dogs. *Vet Rec*. **175**, 202.
5. **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.
6. **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.
7. **Brahmi S, Dunyach-Rémy C, Touati A, Lavigne JP.** (2015). CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and the pandemic clone O25b-ST131 isolated from wild fish in Mediterranean Sea. *Clin Microbiol Infect*. **21**, 18-20.
8. **Broaders E, Gahan CG, Marchesi JR.** (2013). Mobile genetic elements of the human gastrointestinal tract: potential for spread of antibiotic resistance genes. *Gut Microbes*. **271**, 271-80.
9. **Bush K, Jacoby GA.** (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. **54**, 969-76.

10. **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. *Antimicrob Agents Chemother.* **49**, 833-5.
11. **Carattoli A.** (2013). Plasmids and the spread of resistance. *Int J Med Microbiol.* **303**, 298-304.
12. **Carattoli A.** (2009). Resistance plasmid families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**, 2227-38.
13. **Collignon P, Aarestrup FM.** (2007). Extended-spectrum beta-lactamases, food, and cephalosporin use in food animals. *Clin Infect Dis.* **44**, 1391–1392.
14. **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.
15. **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.
16. **Davies J, Davies D.** (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* **74**, 417-33.
17. **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.
18. **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.* **9**, 90564.
19. **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.

20. **Ewers C, Grobbel M, Stamm I, Kopp PA, Diehl I, Semmler T, Fruth A, Beutlich J, Guerra B, Wieler LH, Guenther S.** (2011). 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.
21. **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.
22. **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.
23. **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.* **1252**, 469-75.
24. **Gandolfi-Decristophoris P, Petrini O, Ruggeri-Bernardi N, Schelling E.** (2013). Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in healthy companion animals living in nursing homes and in the community. *Am J Infect Control.* **41**, 831-5.
25. **Gharout-Sait A, Touati A, Benallaoua S, Guillard T, Brasme L, Madoux J, de Champs C.** (2012). CTX-M from community-acquired urinary tract infections in Algeria. *Afr J Microbiol.* **6**, 5306-5313.
26. **Gharout-Sait A, Touati A, Guillard T, Brasme L, de Champs C.** (2015). Molecular characterization and epidemiology of cefoxitin resistance among *Enterobacteriaceae* lacking inducible chromosomal *ampC* genes from hospitalized and non-hospitalized patients in Algeria: description of new sequence type in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Braz J Infect Dis.* **19**, 187-95.
27. **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.
28. **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.* **56**, 417-23.

29. **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.
30. **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.* **67**, 5358-62.
31. **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.
32. **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.
33. **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.
34. **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.
35. **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.
36. **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**, 141-7.
37. **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](https://doi.org/10.1111/zph.12178).
38. **Jacoby GA.** (2009). AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev.* **22**, 161-82.

39. **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.
40. **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.
41. **Lee JH, Bae IK, Lee SH.** (2012). New definitions of extended-spectrum β -lactamase conferring worldwide emerging antibiotic resistance. *Med Res Rev.* **32**, 216-32.
42. **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 carbapenemases producing Gram-negative bacilli. *J Microbiol Methods.* **83**, 149–152.
43. **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 β -lactamase genes among *Escherichia coli* isolates from pets and poultry. *J Food Prot.* **76**, 2018-23.
44. **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.
45. **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.
46. **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.
47. **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.

48. **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.
49. **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. *Can Vet J.* **53**, 291-8.
50. **Nordmann P, Cuzon G, Naas T.** (2009). The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. *Lancet Infect Dis.* **9**, 228-36.
51. **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.
52. **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.
53. **Philippon A, Arlet G, Jacoby GA.** (2002). Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* **46**, 1-11.
54. **Pitout JD.** (2012). Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: an update on antimicrobial resistance, laboratory diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther.* **10**, 1165-76.
55. **Poirel L, Nordmann P, Ducroz S, Boulouis HJ, Arné P, Millemann Y.** (2013). Extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type ST274 in companion animals. *Antimicrob Agents Chemother.* **57**, 2372-5.
56. **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.
57. **Rubin JE, Pitout JD.** (2014). Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and AmpC producing *Enterobacteriaceae* in companion animals. *Vet Microbiol.* **170**, 10-8.
58. **Sallem RB, 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.

59. **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.
60. **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.
61. **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.* **12**, 14-187.
62. **Scott Weese J.** (2008). Antimicrobial resistance in companion animals. *Anim Health Res Rev.* **9**, 169-76.
63. **Shaheen BW, Nayak R, Foley SL, Kweon O, Deck J, Park M, Rafii F, Boothe DM.** (2011). Molecular characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins in clinical *Escherichia coli* isolates from companion animals in the United States. *Antimicrob Agents Chemother.* **55**, 5666-75.
64. **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**, 2902-3.
65. **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.
66. **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.
67. **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.* **3**, 426-34.

68. **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.
69. **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.
70. **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.
71. **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 β -lactamase genes in *Escherichia coli* isolates from pets and emergence of CTX-M-64 in China. *Clin Microbiol Infect.* **16**, 1475-81.
72. **Szmlka A, Nagy B.** (2013). Multidrug resistant commensal *Escherichia coli* in animals and its impact for public health. *Front Microbiol.* **3**, 4-258.
73. **Tamang MD, Nam HM, Jang GC, Kim SR, Chae MH, Jung SC, Byun JW, Park YH, Lim SK.** (2012). Molecular characterization of extended-spectrum- β -lactamase-producing and plasmid-mediated AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* isolated from stray dogs in South Korea. *Antimicrob Agents Chemother.* **56**, 2705-12.
74. **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 β -lactamase and their addiction systems in *Escherichia coli* isolates from animals. *Vet Microbiol.* **174**, 456-62.
75. **Teshager T, Domínguez L, Moreno MA, Saénz Y, Torres C, Cardeñosa S.** (2000). Isolation of an SHV-12 beta-lactamase-producing *Escherichia coli* strain from a dog with recurrent urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother.* **44**, 3483-4.
76. **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.
77. **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 Bejaia, Algeria. *Int J Antimicrob Agents.* **7**, 397-402.
78. **Trott D.** (2013). β -lactam resistance in gram-negative pathogens isolated from animals. *Curr Pharm Des.* **19**, 239-49.
79. **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.
80. **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*CMY2-IncII/ST65 plasmid and topoisomerase mutations. *J Antimicrob Chemother.* **69**, 2076-80.
81. **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.
82. **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.
83. **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.
84. **www.eucast.org.** The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Recommendations de 2015.
85. **www.lahey.org/Studies.** (2015). β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes.
86. **www.sfm-microbiologie.org.** Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommendations de 2013.
87. **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.
88. **Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, Walsh TR.** (2009). Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla*(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**, 5046-54.

ANNEXE I

Tableau 1 : Tableau de la classification des β -lactamases (Bush et Jacoby, 2010)

Bush et Jacoby (2010)	Ambler	Substrats préférés	Inhibée par		Enzymes
			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

ANNEXE II

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

β-Lactamase	Organisme	Pays	Référence
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	Timofté 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	<i>E. coli</i>	Etats-Unis	Shaheen et <i>al.</i> , 2013

TEM-181			
CTX-M-15, SHV-12 et SHV-28	<i>E. coli</i> et <i>K.pneumoniae</i>	Allemagne	Stolle et <i>al.</i> , 2013
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>Salmonella</i>	France	Haenni et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i>	Allemagne	Schmiedel et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Angola	Albrechtova et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Corée	Tamang et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1, -9, -15 et CTX-M-32	<i>E. coli</i>	Portugal	Belas et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-2, CTX-M-14 et CTX-M-27	<i>E. coli</i>	Japan	Okubo et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1, -9, -15 et SHV-2	<i>K. pneumoniae</i> et <i>K. oxytoca</i>	Italie	Donati et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1	<i>E. coli</i>	Tunisie	Ben Sallem et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Allemagne	Valentin et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1, -3, -14, -15, -27, -55, -61 et SHV-12	<i>E. coli</i>	Allemagne	Ewers et <i>al.</i> , 2014
CTX-M-1, CTX-M-14, CTX-M-15 et SHV-12	<i>Enterobacteriaceae</i>	Hollande	Baede et <i>al.</i> , 2015
CTX-M -1	<i>E. coli</i>	Royaume uni	Schmidt et <i>al.</i> , 2015
CTX-M-1 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Allemagne	Schaufler et <i>al.</i> , 2015
CTX-M	<i>E. coli</i>	Etats-Unis	Jackson et <i>al.</i> , 2015
CTX-M-15 et SHV-12	<i>E. coli</i>	Mexique	Rocha-Gracia et <i>al.</i> , 2015
CTX-M-1, CTX-M-9 et CTX-M-15	<i>E. coli</i>	Australie	Guo et <i>al.</i> , 2015

ANNEXE III

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

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

ANNEXE IV

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 ₃	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 V

Préparation de la solution A

La solution A (solution contenant l'indicateur de pH) est préparée comme suit :

- 1- Préparer une solution concentrée de rouge de phénol 0.5% poids/volume.
- 2- Mélanger 2ml de la solution concentrée de rouge de phénol dans 16.6ml d'eau distillée.
- 3- Ajouter au mélange 180 μ l d'une solution de ZnSO₄ 10mM pour obtenir une concentration finale de ZnSO₄ à 0.1mM.
- 4- Ajuster le pH à 7 avec une solution de NaOH (1N).

ANNEXE VI

Tableau VI: Les prélèvements recueillis au cours de notre étude

Code	Lieu	Animal	Observation
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	Gastroentérites
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	Gastroentérites
20	Vétérinaire	Chat	Vermifications
21	Vétérinaire	Chat	Gastroentérites
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	Problèmes de peau
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
79	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
80	Vétérinaire	Chat	Bonne santé

81	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
82	Vétérinaire	Chat	Salivation
83	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
84	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
85	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
86	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
87	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
88	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
89	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
90	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
91	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
92	Vétérinaire	Chat	Conjonctivite
93	Privé	chien	Tumeur
94	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
95	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
96	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
97	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
98	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
99	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
100	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
101	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
102	Vétérinaire	Chien	Ecoulement nasal
103	Vétérinaire	chat	Ecoulement nasal
104	Vétérinaire	chat	Bonne santé
105	Vétérinaire	chat	Ecoulement nasal
106	Vétérinaire	Chien	Plaie
107	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
108	Vétérinaire	chat	Bonne santé
109	Vétérinaire	chat	Gastroentérite
110	Vétérinaire	chat	Bonne santé
111	Vétérinaire	Chat	Bonne santé
112	Vétérinaire	chat	Bonne santé
113	Vétérinaire	chat	Bonne santé
114	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
115	Vétérinaire	chat	Bonne santé
116	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
117	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
118	Vétérinaire	chat	Bonne santé
119	Vétérinaire	chien	Bonne santé
120	Vétérinaire	chat	Bonne santé
121	Vétérinaire	chat	Bonne santé
122	Vétérinaire	Chien	Bonne santé
123	Vétérinaire	chat	Bonne santé

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

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

ANNEXE VII

Tableau VIII: Lecture de la galerie API 20E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché :	Révéléateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Beta galactosidase		Lecture directe		
<u>ADH</u> <u>LDC</u> <u>ODC</u>	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de Phénol	Lecture directe		
<u>CIT</u>	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
<u>H₂S</u>	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S		Lecture directe		
<u>URÉ</u>	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif chlorure de fer III		
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte Ajouter une goutte de réactif Kovacs	 	 
<u>V_P</u>	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de VP1 et VP2 Attendre 10 minutes		 
<u>GEL</u>	Gélatine	gélatinase		Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ ⁻ /N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte Ajouter 1 goutte de NIT1 et NIT2 et zinc éventuellement		

ANNEXE VIII

Tableau X : Concentrations Minimales Inhibitrices (mg/l) des 33 souches d'*E. coli*

Code	Animal	CTX	CAZ	IMP
39	chien	128	8	NT
44	chien	64	8	NT
65	chat	16	32	NT
67	chien	64	2	NT
77	chien	32	4	NT
78	chien	16	2	NT
79	chien	32	8	NT
86	chat	16	2	NT
87	chat	64	4	NT
93	chien	16	16	NT
94	chien	16	<1	NT
99	chat	16	<1	2
99B	chat	64	8	NT
100	chien	<1	<1	2
100B	chien	128	16	NT
132	chat	8	16	2
140	chien	256	32	NT
142	chat	128	16	NT
153	chat	64	4	NT
154B	chien	<1	4	NT
159	chien	<1	4	NT
161	chien	16	4	NT
168	chien	64	32	NT
171	chien	128	16	NT
172	chien	64	16	NT
174	chien	>256	>256	16
180	chien	<1	8	NT
182	chien	16	16	NT
184	chien	256	8	NT
188	chien	64	8	NT
190	chat	128	8	NT
192	chien	8	4	NT
192B	chien	<1	<1	2

Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer le taux de portage fécal des souches d'*Escherichia coli* résistantes aux β -lactamines à large spectre isolées d'animaux de compagnie (chiens et chats) dans la ville de Bejaia.

Un total de 200 prélèvements a été réalisé au niveau du cabinet du Dr. HASSISSENE et chez des propriétaires privés. Après isolement et identification, la sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose Mueller Hinton. Les phénotypes de résistance aux β -lactamines ont été déterminés par l'utilisation de tests phénotypiques incluant le DD-test, test de Hodge, Carba NP test modifié, et le test de l'inhibition à l'EDTA. Les CMI des souches à la céftazidime et au céfotaxime ont été déterminées. L'essai de transfert par conjugaison a été fait pour étudier la transférabilité des déterminants de la résistance.

Au total 33 souches d'*E. coli* résistantes aux β -lactamines ont été sélectionnées et un taux de portage 15% a été observé. Des taux de résistance aux β -lactamines allant de 3% à 100 % ont été enregistrés respectivement pour l'imipénème et la ticarcilline. La caractérisation phénotypique a montré que 25 (75,5%) souches étaient productrices de BLSE, 4 (12,12%) étaient productrices d'AmpC et 5 (15,15%) produisaient des carbapénémases. 02 souches coproduisent une MBL et une BLSE et une OXA-48 et une AmpC.

A notre connaissance, ceci est le premier rapport de souches d'*E. coli* productrices de BLSE, AmpC et de carbapénémases isolées d'animaux de compagnie en Algérie.

Mots-clés : Animaux de compagnie, *Escherichia coli*, résistance aux β -lactamines, portage fécal, Algérie.

Abstract

The objective of this study was to evaluate the rate of fecal carriage of *Escherichia coli* strains resistant to extended spectrum β -lactams antibiotics isolated from companion animals (dogs and cats) in Bejaia.

A total of 200 samples were obtained from the veterinary office of Dr. HASSISSENE and private owners. After isolation and identification, susceptibility of strains to antibiotics was determined by the agar diffusion method on Mueller Hinton agar. β -lactams resistance phenotypes were determined by using phenotypic tests including DD-test, Hodge test, modified Carba NP test, and EDTA inhibition. Ceftazidime and cefotaxime MICs were determined. Transfer by conjugation was used to study the transferability of resistance determinants.

A total of 33 strains of *E. coli* resistant to expanded-spectrum- β -lactams were selected and a fecal carriage rate of 15% was observed. Resistance rates β -lactams ranging from 3% to 100% respectively to imipenem and ticarcillin. Phenotypic characterization showed that 25 (75.5%) strains produced ESBL, 4 (12,12%) produced AmpC and 5 (15.15%) produced carbapenemases. Two strains coproduced respectively MBL+ESBL and OXA-48-like+AmpC.

To the best of our knowledge, this is the first report of *E. coli* strains producing ESBL, AmpC and carbapenemases recovered from companion animals in Algeria.

Key words: Companion animals, *Escherichia coli*, β -lactams resistance, fecal carriage, Algeria.