

# ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

2007 – Thèse n°

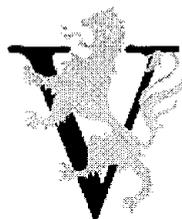
*MECANISMES DE RESISTANCE AUX OXYIMINO-  
CEPHALOSPORINES DE SOUCHES D'ESCHERICHIA  
COLI D'ORIGINE ANIMALE.*

## THESE

Présenté à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD – LYON I  
(Médecine – Pharmacie)  
et soutenue publiquement le 09 Novembre 2007  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

**Florian PIZETTE**  
**Né le 25 Avril 1982**  
**A Privas (Ardèche)**



**Ecole Nationale  
Vétérinaire de Lyon**

D'autres mutations telles que des délétions en +34, des substitutions en +20, +28, peuvent toucher l'atténuateur (+17 à +37) (Mulvey *et al.*, 2005). Elles aboutissent à la déstabilisation de la structure en épingle à cheveux : l'atténuateur ne réalise plus alors sa fonction de contrôle de la production d'AmpC qui peut donc augmenter.

Des mutations dans la zone codante, débutant à +60, ont été rapportées principalement en positions +63, +70 et +81. Les conséquences de ces mutations n'ont pas été évaluées mais comme elles affectent le peptide leader d'AmpC, elles pourraient permettre un transfert plus efficace de l'enzyme dans l'espace périplasmique (Mulvey *et al.*, 2005).

D'autres mutations dans la région codante sont responsables de modifications de la structure primaire d'AmpC dans l'hélice H10 ou à proximité, avec pour conséquence une modification de l'activité enzymatique de la céphalosporinase, notamment une augmentation de l'hydrolyse des céphalosporines à large spectre (Doi *et al.*, 2004 ; Mammeri *et al.*, 2004 et 2006).

## **1.9. Carbapénémases**

De rares souches d'*E. coli* exprimant une carbapénémase résistante aux inhibiteurs des  $\beta$ -lactamases (classe B, groupe 3) de type IMP (Peleg *et al.*, 2005) ou VIM (Miriagou *et al.*, 2003) ont été décrites. Ces enzymes hydrolysent toutes les  $\beta$ -lactamines à l'exception de l'aztréonam. Elles sont présentes sur des plasmides et codées par des cassettes géniques.

## **2. Les $\beta$ -lactamases chez les souches d'*E. coli* d'origine animale**

### **2.1. Les $\beta$ -lactamines en thérapeutique vétérinaire**

Les  $\beta$ -lactamines ne représentaient que 9,5 % (120/1261 tonnes) des antibiotiques utilisés pour le traitement et/ou la prévention des infections bactériennes animales en France en 2003, ce qui les place derrière les tétracyclines (48 %) et les sulfamides (16 %) (Moulin et Roux, 2003).

Les molécules ayant une Autorisation de Mise sur le Marché pour les préparations à usage vétérinaire sont (Anonyme, 2007) :

- la pénicilline G ;
- des pénicillines M : la cloxacilline, la dicloxacilline, l'oxacilline, la nafcilline ;
- des aminopénicillines : ampicilline et amoxicilline ;
- un inhibiteur des  $\beta$ -lactamases, l'acide clavulanique (en association avec l'amoxicilline) ;
- des C1G : la céfalexine, la céfazoline, la céfapirine ;
- une C2G : le céphalonium
- des C3G : la céfopérazone, le ceftiofur et la céfovécine ;
- une céphalosporine à large spectre : la cefquinome.

Les pénicillines M, la céfazoline, le céphalonium et la céfopérazone ne sont disponibles que dans des préparations administrables par voie diathétique et la céfapirine sous forme d'une suspension intra-utérine.

La céfalexine a pour indications :

- le traitement des infections bactériennes du chien et du chat ;
- le traitement, en lactation et hors lactation, des mammites de la vache.

La céfovécine a pour indications :

- chez le chien, le traitement des infections urinaires à *E. coli* ou *Proteus* spp., le traitement des infections cutanées, plaies et abcès à *Staphylococcus intermedius*, *E. coli*, *Pasteurella multocida* ou à streptocoques  $\beta$ -hémolytiques ;
- chez le chat, le traitement des infections urinaires à *E. coli*, le traitement des plaies et abcès à *S. intermedius*, *P. multocida*, à streptocoques  $\beta$ -hémolytiques et impliquant des bactéries anaérobies.

Le ceftiofur a pour indications :

- chez les bovins, le traitement des infections respiratoires à *Mannheimia haemolytica*, *P. multocida* et *Histophilus somni*, des panaris interdigités, de la métrite puerpérale aiguë à *E. coli*, *Arcanobacterium pyogenes* et *Fusobacterium necrophorum* ;
- chez les porcins, le traitement des infections respiratoires à *P. multocida*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Haemophilus parasuis* et *Streptococcus suis*, des septicémies, polyarthrites et polysérosites associées à *S. suis* ;
- chez les chevaux de sport et de course, le traitement des infections respiratoires à *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*.

La cefquinome a pour indications :

- chez les bovins, le traitement des infections respiratoires à *M. haemolytica*, *P. multocida* et *H. somni*, du fourchet et du panaris interdigité, les septicémies néonatales du veau, le traitement par voie intramammaire des mammites en lactation et hors lactation ;
- chez les porcins, le traitement des infections respiratoires à *P. multocida*, *A. pleuropneumoniae*, *H. parasuis* et *S. suis*, du syndrome mammite-métrite-agalactie, des arthrites à *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *E. coli*, de la dermatite à *Staphylococcus hyicus* ;
- chez les chevaux, le traitement des infections respiratoires à *S. equi* subsp. *zooepidemicus* et chez le poulain, des infections sévères à *E. coli* à haut risque de septicémie.

En France, les céphalosporines ne représentaient que 0,6 % des antibiotiques consommés par les animaux mais une nette augmentation des ventes (+ 26 %) a été constatée entre 1999 et 2003. Cette utilisation accrue est à relier à l'emploi chez les carnivores (+ 58 %). Les valeurs des tonnages utilisés chez les bovins étaient stables et en légère augmentation chez les porcins. Durant cette même période, la consommation des pénicillines est restée stable chez les bovins et les porcins, et a augmenté chez les volailles (Moulin et Roux, 2003).

## 2.2. Fréquence de résistance aux $\beta$ -lactamines des souches animales d'*E. coli*

De nombreuses données sur les fréquences de résistance aux  $\beta$ -lactamines de souches cliniques animales d'*E. coli* ont été publiées par des réseaux de surveillance de l'antibiorésistance (Tableau 3a) (Anonyme, 2000 et 2005 a ; Teale *et al.*, 2003 ; USDA, 2004) et différents auteurs (Tableau 3b) (Cid *et al.*, 1996 ; Orden *et al.*, 2000 ; Salmon et Watts, 2000 ; Cormican *et al.*, 2001 ; Oluoch *et al.*, 2001 ; Erskine *et al.*, 2002 ; Vandemaele *et al.*, 2002 ; Werckenthin *et al.*, 2002 ; Lanz *et al.*, 2003 ; ARSIA, 2004 ; Hariharan *et al.*, 2004 ; Bruchon, 2005 ; Boerlin *et al.*, 2005 ; Hagman et Greko, 2005 ; Harada *et al.*, 2005 ; Zhao *et al.*, 2005 ; Clemente *et al.*, 2006 ; Lambie *et al.*, 2000). La comparaison de ces résultats est difficile mais, globalement, les fréquences de résistance aux aminopénicillines sont élevées quelle que soit l'origine des souches et dépassent même 90 % pour des souches isolées lors de diarrhée néonatale chez le veau en France (Bruchon, 2005), en Allemagne

(Werckenthin *et al.*, 2002) ou en Espagne (Orden *et al.*, 2000) ou pour des souches isolées de mammites cliniques chez la vache aux USA (Srinivasan *et al.*, 2007). Les taux de résistance à l'association amoxicilline/acide clavulanique sont très différents d'une étude à une autre mais peuvent être élevés pour des souches provenant des veaux ou de volailles ou de chiens (Tableau 3a et 3b). La résistance aux C3G semble rare, néanmoins elle dépasse 10 % voire 20 % pour les souches isolées de porcs (Boerlin *et al.*, 2005 ; Clemente *et al.*, 2006), de chiens ou de mammites cliniques chez la vache aux USA (USDA, 2004). En France, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) estimait que la prévalence de la résistance au ceftiofur chez les souches cliniques d'*E. coli* était de 0,71 % en 2003-2004 (Meunier *et al.*, 2006). Une diminution de la sensibilité au ceftiofur entre 1990-1997 et 1998-2002 a été observée au Canada pour des isolats provenant de selles de veaux ou de porcelets atteints de diarrhée néonatale (Hariharan *et al.*, 2004).

*E. coli* est considéré comme une bactérie « indicatrice » de la pression de sélection par les antibiotiques chez l'animal. Les fréquences de résistance aux  $\beta$ -lactamines sont plus basses chez des souches isolées de la flore intestinale d'animaux sains (Tableaux 4a, 4b) que chez des isolats cliniques (Anonyme, 2000, 2005 a et b ; Teshager *et al.*, 2000 a ; Van den Bogaard *et al.*, 2000 ; Mevius *et al.*, 2000 ; Sáenz *et al.*, 2001 ; Guerra *et al.*, 2003 ; Kijimi-Tanaka *et al.*, 2003 ; Van Donkersgoed *et al.*, 2003 ; Bywater *et al.*, 2004 ; De Graef *et al.*, 2004 ; USDA, 2004 ; Moreno *et al.*, 2007). La résistance à l'amoxicilline concerne plus les souches provenant de porcins ou de volailles que celles issues de bovins, ce qui serait à mettre en relation avec l'utilisation à titre préventif dans ces deux espèces d'aliments médicamenteux. Des souches résistantes aux C3G ont aussi été mises en évidence notamment en Espagne (Mesa *et al.*, 2006, Moreno *et al.*, 2007) et au Canada (Anonyme, 2005 b). Dans ce dernier pays, 20 % des souches d'*E. coli* isolées de poulets abattus étaient résistantes au ceftiofur et 25 % à la céfoxitine.

**Tableau 3a.** Fréquences de sensibilité (en %) aux  $\beta$ -lactamines chez des souches animales d'*E. coli* isolées de prélèvements cliniques (réseaux de surveillance de l'antibiorésistance).

|                          | France<br>1999-2000<br>AFSSA | USA<br>2000-2002<br>USDA | Angleterre<br>1998-2003<br>Teale <i>et al.</i> | Danemark<br>2005<br>Anonyme |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------|--|-----------------------------|
| <b>Aminopénicillines</b> |                              |                          |  |                             |
| Bovins                   |                              |                          | 34 – 56  | 7                           |
| Diarrhées néonatales     | 14                           |                          | 6 – 71   |                             |
| Mammites                 | 59                           | 45                       |  |                             |
| Ovins                    |                              |                          | 67 – 72  |                             |
| Porcs                    |                              | 79                       | 47 – 59  | 63                          |
| Infections digestives    |                              |                          | 37 – 46  |                             |
| Poulets                  |                              | 95                       | 58 – 67  |                             |
| Poules pondeuses         |                              |                          |  |                             |
| Dindons                  |                              |                          | 42 – 61  |                             |
| Carnivores               |                              |                          |  |                             |
| <b>+ Ac clavulanique</b> |                              |                          |  |                             |
| Bovins                   |                              |                          | 79 – 86  | 98                          |
| Diarrhées néonatales     | 31                           |                          | 50 – 90  |                             |
| Mammites                 | 77                           | 75                       |  |                             |
| Ovins                    |                              |                          | 91 – 97  |                             |
| Porcs                    |                              | 99                       |  | 100                         |
| Infections digestives    |                              |                          |  |                             |
| Poulets                  |                              | 99,6                     | 40 – 58  |                             |
| Poules pondeuses         |                              |                          |  |                             |
| Carnivores               |                              |                          |  |                             |
| <b>C1G</b>               |                              |                          |  |                             |
| Bovins                   |                              |                          |  | 98                          |
| Diarrhées néonatales     |                              |                          |  |                             |
| Mammites                 |                              | 71                       |  |                             |
| Porcs                    |                              | 93                       |  | 94                          |
| Infections digestives    |                              |                          |  |                             |
| Poulets                  |                              | 91                       |  |                             |
| Poules pondeuses         |                              |                          |  |                             |
| Carnivores               |                              |                          |  |                             |
| <b>Ceftiofur</b>         |                              |                          |  |                             |
| Bovins                   |                              |                          |  | 100                         |
| Diarrhées néonatales     | 99                           |                          |  |                             |
| Mammites                 | 100                          | 86                       |  |                             |
| Porcs                    |                              | 97                       |  | 99                          |
| Poulets                  |                              | 96                       |  |                             |
| <b>Autres C3G</b>        |                              |                          |  |                             |
| Carnivores               |                              |                          |  |                             |
| <b>Céfoxitine</b>        |                              |                          |  |                             |
| Bovins                   |                              |                          |  |                             |
| Mammites                 |                              | 79                       |  |                             |
| Porcs                    |                              | 99                       |  |                             |
| Poulets                  |                              | 99,6                     |  |                             |

**Tableau 3b.** Fréquences de sensibilité (en %) aux  $\beta$ -lactamines chez des souches animales d'*E. coli* isolées de prélèvements cliniques.

|                          | USA<br>1990-1998<br>Oluoch<br><i>et al.</i> | USA<br>1994-2000<br>Erskine <i>et al.</i> | USA<br>1996-2000<br>Zhao <i>et al.</i> | Suisse<br>1999-2001<br>Lanz <i>et al.</i> | France<br>2002<br>AFSSA* | Canada<br>2003<br>Boerlin<br><i>et al.</i> | Japon<br>2001-2004<br>Harada <i>et al.</i> |
|--------------------------|---|---|--|---|--------------------------|--|--|
| <b>Aminopénicillines</b> |   |   |  |   |                          |  |  |
| Bovins                   |   |   |  |   |                          |  |  |
| Diarrhées néonatales     |   |   |  |   |                          |  | 41   |
| Mammites                 |   | 84  |  | 79  |                          |  |  |
| Ovins                    |   |   |  |   |                          |  |  |
| Porcs                    |   |   |  |   | 47                       |  |  |
| Infections digestives    |   |   |  | 84  |                          | 44   | 56   |
| Poulets                  |   |   | 55                                     |   |                          |  |  |
| Poules pondeuses         |   |   |  | 88  |                          |  |  |
| Dindons                  |   |   |  |   |                          |  |  |
| Carnivores               | 47  |   |  | 79  |                          |  |  |
| <b>+ Ac clavulanique</b> |   |   |  |   |                          |  |  |
| Bovins                   |   |   |  |   |                          |  |  |
| Diarrhées néonatales     |   |   |  |   |                          |  |  |
| Mammites                 |   |   |  | 99  |                          |  |  |
| Ovins                    |   |   |  |   |                          |  |  |
| Porcs                    |   |   |  |   | 82                       |  |  |
| Infections digestives    |   |   |  | 98  |                          | 83   |  |
| Poulets                  |   |   | 64                                     |   |                          |  |  |
| Poules pondeuses         |   |   |  | 98  |                          |  |  |
| Carnivores               | 57  |   |  | 96  |                          |  |  |
| <b>C1G</b>               |   |   |  |   |                          |  |  |
| Bovins                   |   |   |  |   |                          |  |  |
| Diarrhées néonatales     |   |   |  |   |                          |  | 85   |
| Mammites                 |   | 74  |  | 94  |                          |  |  |
| Porcs                    |   |   |  |   | 96                       |  |  |
| Infections digestives    |   |   |  | 98  |                          | 33   | 96   |
| Poulets                  |   |   | 63                                     |   |                          |  |  |
| Poules pondeuses         |   |   |  | 88  |                          |  |  |
| Carnivores               | 23  |   |  | 87  |                          |  |  |
| <b>Ceftiofur</b>         |   |   |  |   |                          |  |  |
| Bovins                   |   |   |  |   |                          |  |  |
| Diarrhées néonatales     |   |   |  |   |                          |  | 95   |
| Mammites                 |   |   |  |   |                          |  |  |
| Porcs                    |   |   |  |   | 99,2                     | 89   |  |
| Poulets                  |   |   | 87                                     |   |                          |  |  |
| <b>Autres C3G</b>        |   |   |  |   |                          |  |  |
| Carnivores               | 71  |   |  |   |                          |  |  |
| <b>Céfoxitine</b>        |   |   |  |   |                          |  |  |
| Bovins                   |   |   |  |   |                          |  |  |
| Mammites                 |   |   |  |   |                          |  |  |
| Porcs                    |   |   |  |   |                          | 81   |  |
| Poulets                  |   |   |  |   |                          |  |  |

\* communication personnelle

**Tableau 4a.** *Fréquences de sensibilité (%) aux  $\beta$ -lactamines chez des souches animales d'E. coli isolées de la flore intestinale d'animaux sains (réseaux de surveillance de l'antibiorésistance).*

|                          | France<br>1999-2000<br>AFSSA | USA<br>2000-2004<br>USDA | Danemark<br>2005<br>Anonyme |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------|-----------------------------|
| <b>Aminopénicillines</b> |                              |                          |                             |
| Bovins                   |                              |                          | 97                          |
| Veaux                    |                              |                          |                             |
| Porcs                    | 75                           |                          | 82                          |
| Poulets                  | 49                           | 80 – 82                  | 85                          |
| <b>+ Ac clavulanique</b> |                              |                          |                             |
| Bovins                   |                              |                          | 100                         |
| Veaux                    |                              |                          |                             |
| Porcs                    |                              |                          | 100                         |
| Poulets                  |                              | 90 – 92                  | 100                         |
| <b>C1G</b>               |                              |                          |                             |
| Bovins                   |                              |                          | 100                         |
| Porcs                    |                              |                          | 98                          |
| Poulets                  |                              | 82 – 83                  | > 99                        |
| <b>Ceftiofur</b>         |                              |                          |                             |
| Bovins                   |                              |                          | 100                         |
| Porcs                    |                              |                          | 100                         |
| Poulets                  |                              | 95 – 97                  | 100                         |
| <b>Autres C3G</b>        |                              |                          |                             |
| Bovins                   |                              |                          |                             |
| Veaux                    |                              |                          |                             |
| Porcs                    |                              |                          |                             |
| Poulets                  |                              |                          |                             |
| <b>Céfoxitine</b>        |                              |                          |                             |
| Bovins                   |                              |                          |                             |
| Porcs                    |                              |                          |                             |
| Poulets                  |                              | 91 – 93                  |                             |

**Tableau 4b.** Fréquences de sensibilité aux  $\beta$ -lactamines chez des souches animales d'*E. coli* isolées de la flore intestinale d'animaux sains.

|                          | Pays Bas<br>1996-1999<br>Mevius <i>et al.</i> | Espagne<br>1997-1999<br>Sáenz <i>et al.</i> | Espagne<br>1998-1999<br>Teshager <i>et al.</i> | Europe<br>1999-2001<br>Bywater <i>et al.</i> | Japon<br>1999<br>Kijima-<br>Tanaka<br><i>et al.</i> | Canada<br>2001<br>Van<br>Donkersgoed | Canada<br>2005<br>Anonyme |
|--------------------------|---|---|--|--|---|--------------------------------------|---------------------------|
| <b>Aminopénicillines</b> |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  | 86 – 100                                     | 92  | 97                                   | ≈ 96                      |
| Veaux                    | 63  |   |  |  |   |                                      |                           |
| Porcs                    | 69  | 71  | 28   | 48 – 97                                      | 77  |                                      | 65                        |
| Poulets                  | 52  | 42  |  | 49 – 95                                      | 60  |                                      | 60                        |
| <b>+ Ac clavulanique</b> |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  |  |   | 99,7                                 | ≈ 99                      |
| Veaux                    | 97  |   |  |  |   |                                      |                           |
| Porcs                    | 100   | 84  |  |  |   |                                      | ≈ 98                      |
| Poulets                  | 100   | 95  |  |  |   |                                      | 72                        |
| <b>C1G</b>               |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  |  | 100   | 99                                   |                           |
| Porcs                    |   |   | 84   |  | 100   |                                      |                           |
| Poulets                  |   |   |  |  | 99,3  |                                      |                           |
| <b>Ceftiofur</b>         |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  |  | 100   | 99,9                                 | 100                       |
| Porcs                    |   |   |  |  | 100   |                                      | ≈ 98                      |
| Poulets                  |   |   |  |  | 99,3  |                                      | 80                        |
| <b>Autres C3G</b>        |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  | 100  |   |                                      |                           |
| Veaux                    | 98  |   |  |  |   |                                      |                           |
| Porcs                    | 100   | 100   | 100  | 100  |   |                                      |                           |
| Poulets                  | 100   | 100   |  | 100  |   |                                      |                           |
| <b>C4G</b>               |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  | 100  |   |                                      |                           |
| Porcs                    |   |   |  | 100  |   |                                      |                           |
| Porcelets                |   |   |  | 100  |   |                                      |                           |
| <b>Céfoxitine</b>        |   |   |  |  |   |                                      |                           |
| Bovins                   |   |   |  |  |   | 99,6                                 | 100                       |
| Porcs                    |   | 100   | 98,5   |  |   |                                      | ≈ 98                      |
| Poulets                  |   | 98  |  |  |   |                                      | 75                        |

### 2.3. Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines des souches animales d'*E. coli*

La plupart des publications sur les mécanismes de résistance des souches animales d'*E. coli* aux  $\beta$ -lactamines concerne la résistance aux oxyimino-céphalosporines.

La résistance aux aminopénicillines est liée le plus souvent à la production de la pénicillinase TEM-1 et, très secondairement, à des pénicillinases de type OXA-1, SHV, TRI ou parfois CARB-2. (Féria *et al.*, 2002 ; Briñas *et al.*, 2002 ; Guerra *et al.*, 2003 ; Maynard *et al.*, 2003 ; Olesen *et al.* 2004). Parmi les souches résistantes à l'ampicilline, environ 10 % ont un phénotype céphalosporinase qui serait à relier dans la majorité des cas à l'augmentation de la production d'AmpC à la suite de mutations dans la région promotrice/atténuatrice du gène *ampC* (Briñas *et al.*, 2002 ; Féria *et al.*, 2002 ; Olesen *et al.* 2004)

Dès 1996, une forte prévalence (13 %) de la résistance au ceftiofur était rapportée chez des souches d'*E. coli* entérotoxigènes isolées de veaux diarrhéiques aux USA. Chez 27

souches, Bradford *et al.* (1999) avaient montré que la résistance était d'origine chromosomique (hyperproduction d'AmpC). Ultérieurement, des céphalosporinases plasmidiques de type CMY, en particulier CMY-2, ont été caractérisées chez des souches provenant de prélèvements cliniques chez des bovins et des porcins (Winokur *et al.*, 2001) ou d'animaux sains (Zhao *et al.*, 2001), ce qui pourrait expliquer les fréquences de résistance élevées aux C3G dans ce pays.

En Europe, la résistance aux C3G chez des souches animales d'*E. coli* est apparue apparemment plus tardivement. Elle a été décrite en Espagne (Briñas *et al.*, 2003 a et b, 2005 a ; Blanc *et al.*, 2006) puis en France (Meunier *et al.*, 2005, 2006 ; Girlich *et al.*, 2007), en Grande-Bretagne (Liebana *et al.*, 2004 ; Batchelor *et al.*, 2005 ; Teale *et al.*, 2005), au Danemark (Aarestrup *et al.*, 2006) et en Allemagne à partir d'un échantillon de viande de bœuf importée au Danemark (Jensen *et al.*, 2006). Dans le cadre de la surveillance des résistances aux antibiotiques des bactéries animales, des fréquences de résistance au ceftiofur de 2,4 % ont été observées en 2003 en Espagne pour des prélèvements provenant d'animaux malades (Briñas *et al.*, 2005 a). Les taux de résistance seraient plus élevés pour les souches isolées du contenu intestinal d'animaux sains : 6,3 % en Espagne en 2003 (Briñas *et al.*, 2005 a) et 10,7 % chez les volailles en France en 2005 (Girlich *et al.*, 2007). Contrairement à ce qui est observé aux USA, les mécanismes de résistance sont très variés : BLSE de type CTX-M (CTX-M-1, -15, -14, -9), SHV (SHV-12, -5), TEM (TEM-52), céphalosporinases plasmidiques de type AmpC (CMY-2) et hyper-expression d'*ampC*. C'est ce dernier mécanisme qui expliquerait dans la majorité des cas la résistance aux C3G, en particulier au ceftiofur (Briñas *et al.*, 2003 b, 2005 a ; Liebana *et al.*, 2004 ; Girlich *et al.*, 2007). Le deuxième mécanisme en cause est la diffusion de BLSE de type CTX-M, en particulier CTX-M-1, mise en évidence en Espagne (Briñas *et al.*, 2005 a) et en France (Meunier *et al.*, 2006 ; Girlich *et al.*, 2007).

Des souches d'*E. coli* résistantes aux C3G ont aussi été caractérisées chez des bovins, des porcins ou des volailles sains et dans des denrées alimentaires d'origine animale en Asie, à Taiwan (Yan *et al.*, 2004), au Japon (Shiraki *et al.*, 2004 ; Kojima *et al.*, 2005) et à Hong-Kong (Duan *et al.*, 2006). De nouveau, le mécanisme de résistance le plus répandu est la synthèse d'une BLSE de type CTX-M (-2, -3, -13, -14, -18 et -24). Toutefois des céphalosporinases de type CMY-2 ont aussi été caractérisées.

La présence d'*E. coli* résistants aux C3G a été rapportée de manière plus épisodique chez les animaux de compagnie, de sport ou de loisirs. Des souches exprimant CTX-M-1 ou CMY-2 ont été isolées chez des chevaux infectés aux Pays-Bas (Vo *et al.*, 2007). Des cas isolés ont été décrits chez des chiens infectés (Teshager *et al.*, 2000 b ; Carattoli *et al.*, 2005) et des infections nosocomiales par des souches possédant des céphalosporinases de type CMY-2 et -7 ou des BLSE ont été rapportées en Australie (Warren *et al.*, 2001 ; Sidjabat *et al.*, 2006 a et b) et aux USA (Sanchez *et al.*, 2002). Les carnivores domestiques pourraient aussi constituer des réservoirs de souches CTX-M-1<sup>+</sup> ou TEM-52<sup>+</sup> (Costa *et al.*, 2004 ; Carattoli *et al.*, 2005).

L'émergence de souches animales d'*E. coli* résistantes aux C3G a donc été bien caractérisée en Amérique du Nord, en Europe et en Asie. Leur sélection a été associée, chez des vaches laitières ou des taurillons à l'engrais, à des traitements par le ceftiofur (Tragesser *et al.*, 2006 ; Lowrance *et al.*, 2007). Les fortes prévalences observées dans certains effectifs s'expliqueraient par la diffusion de clones résistants entre les animaux, la diffusion de plasmides d'antibiorésistance entre souches bactériennes et la colonisation rapide du tube digestif des veaux après la naissance (Donaldson *et al.*, 2006 ; Liebana *et al.*, 2006).

Dans la majorité des études citées, il a été mis en évidence que les souches résistantes aux C3G sont multi-résistantes. Leur sélection pourrait donc aussi être due à l'emploi de molécules autres que des  $\beta$ -lactamines. Doublet *et al.* (2004) ont identifié chez *Salmonella*

Typhimurium et Newport des plasmides portant le gène *bla*<sub>CMY-2</sub> et le gène *floR*, qui code pour la résistance aux phénicolés par un mécanisme d'efflux.

L'apparition et la dissémination de ces souches est un problème majeur en santé animale car les molécules antibiotiques disponibles en thérapeutique vétérinaire sont en nombre limité (Moulin et Roux, 2003).

C'est aussi un problème de santé publique. La forte prévalence de gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> chez des *E. coli* isolés chez des animaux de production est à rapprocher de l'augmentation de la fréquence des infections communautaires humaines par des bactéries exprimant des BLSE de type CTX-M (Cantón et Coque, 2006). Le support plasmidique, démontré pour de nombreux gènes codant pour des BLSE (CTX-M, TEM-52...) et pour des céphalosporinases de type AmpC, peut expliquer la large diffusion des souches d'*E. coli* résistantes aux C3G dans les populations bactériennes d'origine humaine et animale (Moreno *et al.*, 2007) y compris les carnivores domestiques (Costa *et al.*, 2004 ; Carattoli *et al.*, 2005) et les animaux sauvages (Costa *et al.*, 2006). Les animaux de rente peuvent donc constituer des réservoirs de souches résistantes. La transmission de souches résistantes de l'animal à l'homme n'est pas exclue, notamment par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire pour les animaux de production (Yan *et al.*, 2004). Les carnivores domestiques peuvent être un réel danger car ils vivent souvent au contact de l'homme (Sidjabat *et al.*, 2006 b).

Un des risques majeurs en santé publique est la transmission de déterminants génétiques codant pour des BLSE ou des céphalosporinases plasmidiques d'*E. coli* à des salmonelles. La plupart des plasmides codant pour ces  $\beta$ -lactamases sont autotransférables et le transfert par conjugaison à des salmonelles a été démontré plusieurs fois (Zhao *et al.*, 2001 ; Winokur *et al.*, 2001 ; Poppe *et al.*, 2005). Ceci pourrait contribuer à l'augmentation de la prévalence des salmonelles résistantes aux oxyimino-céphalosporines (Miriagou *et al.*, 2004 ; Arlet *et al.*, 2006).

Dans une étude précédente sur l'antibiosensibilité de souches d'*E. coli* isolées, en France, de veaux atteints de diarrhée néonatale, 10 % des souches présentaient un phénotype « céphalosporinase hyperproduite » dû à une augmentation de la production d'AmpC (Bruchon, 2005 ; Salord *et al.*, 2005). Dans d'autres études françaises (Meunier *et al.* 2005 et 2006 ; Girlich *et al.*, 2007) des BLSE et des céphalosporinases plasmidiques ont été décrites chez des souches animales d'origine variées.

Le présent travail a été entrepris pour caractériser les mécanismes de résistance aux oxyimino-céphalosporines chez 24 souches isolées de prélèvements cliniques chez des veaux et des porcs. Il a été réalisé dans le laboratoire de bactériologie de l'Hôpital de la Croix-Rousse (Lyon) (D<sup>r</sup> Sylvestre Tigaud, Chef de service) sous la direction du D<sup>r</sup> Hélène Salord.