

Revue bibliographique des antibiorésistances portées par les entérobactéries isolées de reptiles et évaluation du profil de résistance d'*Escherichia coli* isolées de reptiles en Belgique

Auteur : Nys, Guillaume

Promoteur(s) : Thiry, Damien

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2020-2021

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/12051>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**Revue bibliographique des antibiorésistances portées
par les entérobactéries isolées de reptiles et
évaluation du profil de résistance d'*Escherichia coli*
isolées de reptiles en Belgique.**

*Bibliographic review of antibiotic resistance carried by
Enterobacteriaceae isolated from reptiles and evaluation of
the resistance profile of *Escherichia coli* isolated from
reptiles in Belgium.*

Guillaume NYS

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

Année académique 2020/2021

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

**Revue bibliographique des antibiorésistances portées
par les entérobactéries isolées de reptiles et
évaluation du profil de résistance d'*Escherichia coli*
isolées de reptiles en Belgique.**

*Bibliographic review of antibiotic resistance carried by
Enterobacteriaceae isolated from reptiles and evaluation of
the resistance profile of *Escherichia coli* isolated from
reptiles in Belgium.*

Guillaume NYS

Tuteur : Damien THIRY DVM, MVPH, PhD, Dipl ECVM

Travail de fin d'études

présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

Année académique 2020/2021

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur

Revue bibliographique des antibiorésistances portées par les entérobactéries isolées de reptiles et évaluation du profil de résistance d'*Escherichia coli* isolées de reptiles en Belgique.

Objectif : Ce travail a pour but, dans un premier temps, de réaliser une revue bibliographique des antibiorésistances portées par des entérobactéries isolées chez des reptiles et de déterminer si ces espèces animales sont régulièrement porteuses de souches résistantes. Et dans un second temps, d'évaluer les profils de résistance de souches *d'Escherichia coli* isolées en Belgique via une mise en pratique en laboratoire.

Résumé :

Les antibiorésistances portées par différents genres d'entérobactéries isolés chez des reptiles ont été recherchées en réalisant une revue de la bibliographie. *Escherichia coli* est régulièrement isolée chez les reptiles (+- 70%), les résistances chez cette bactérie sont majoritairement des résistances envers les bêta-lactamines, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la tétracycline, le chloramphénicol et les quinolones. Différentes sous-espèces du genre *Salmonella* sont typiquement mises en évidence chez les reptiles, néanmoins la sous-espèce *enterica* est également rencontrée chez les reptiles. Le profil d'antibiorésistances des souches de *Salmonella* semble varier selon les études. Le genre *Klebsiella* est également isolé chez les reptiles, le profil d'antibiorésistance chez ces bactéries semble être relativement similaire au cas d'*E. coli*. Les *Morganellaceae* (anciennement *Enterobacteriaceae*) sont également régulièrement isolées chez les reptiles et de haut taux de résistances aux bêta-lactamines, au nitrofurane, à la tétracycline et aux aminoglycosides sont obtenus. La présence d'antibiorésistances est également mise en évidence chez les reptiles sauvages, un lien entre cette présence et la pollution du milieu semble exister. Le profil de résistance de 50 souches *d'Escherichia coli* isolées chez des reptiles en 2009 en Belgique a été évalué en laboratoire. Les résultats démontrent que les souches sont pour la plupart sensibles aux 16 antibiotiques testés, seul 12 souches sont porteuses de résistances. Les plus hauts pourcentages de souches résistantes sont obtenus pour l'amoxicilline (24%), la tétracycline (16%), le triméthoprime-sulfaméthoxazole (10%), la ciprofloxacine (8%) et l'enrofloxacine (8%). On remarque qu'aucune souche n'est porteuse de gènes de BLSE (bêta-lactamase à spectre étendu). Les résultats obtenus sont assez rassurants mais il serait intéressant de pouvoir déterminer le profil de résistances de souches récoltées en 2021 et de comparer avec les résultats obtenus dans ce travail.

Bibliographic review of antibiotic resistance carried by Enterobacteriaceae isolated from reptiles and evaluation of the resistance profile of Escherichia coli isolated from reptiles in Belgium.

Aim of the work : The aim of this work is, first of all, to carry out a bibliographic review of antibiotic resistance carried by enterobacteria isolated from reptiles and to determine whether these animal species regularly carry resistant strains. And secondly, to evaluate the resistance profiles of *Escherichia coli* strains isolated in Belgium through laboratory practice.

Summary :

The antibiotic resistances carried by different genera of Enterobacteriaceae isolated from reptiles were researched by carrying out a review of the bibliography. *Escherichia coli* is regularly isolated in reptiles (+ - 70%), resistance in this bacterium is mainly resistance to beta-lactams, trimethoprim-sulfamethoxazole, tetracycline, chloramphenicol and quinolones. Different subspecies of the genus *Salmonella* are typically found in reptiles, however the *enterica* subspecies is also found in reptiles. The antibiotic resistance profile of *Salmonella* strains appears to vary between studies. The genus *Klebsiella* is also isolated from reptiles, the antibiotic resistance profile in these bacteria appears to be relatively similar to *E. coli*. *Morganellaceae* (formerly Enterobacteriaceae) are also regularly isolated in reptiles and high rates of resistance to beta-lactams, nitrofuran, tetracycline and aminoglycosides are obtained. The presence of antibiotic resistance is also demonstrated in wild reptiles, a link between this presence and environmental pollution seems to exist. The resistance profile of 50 strains of *Escherichia coli* isolated from reptiles in 2009 in Belgium was evaluated in the laboratory. The results show that the strains are for the most part sensitive to the 16 antibiotics tested; only 12 strains are carriers of resistance. The highest percentages of resistant strains are obtained for amoxicillin (24%), tetracycline (16%), trimethoprim-sulfamethoxazole (10%), ciprofloxacin (8%) and enrofloxacin (8%). We note that no strain carries ESBL (extended spectrum beta-lactamase) genes. The results obtained are quite reassuring but it would be interesting to be able to determine the resistance profile of strains collected in 2021 and to compare with the results obtained in this work.

Remerciements :

Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur, Damien Thiry, pour m'avoir guidé dans la réalisation de ce travail mais également pour tous ses conseils et pour tout le temps qu'il a consacré à la relecture de mon TFE.

Un grand merci à Jean-Noël Duprez qui m'a guidé lors de ma pratique en laboratoire, pour sa relecture de mon TFE et pour tout le temps qu'il m'a consacré.

Merci aux professeurs de l'Université de Liège et de l'Université de Namur pour leurs enseignements au cours de ces 6 ans.

Un grand merci à mes parents de m'avoir permis de réaliser ces études et de m'avoir soutenu pendant ses 6 années.

Merci à Léa pour tout ton soutien au long de cette année et tout ce que tu m'apportes au quotidien.

Merci à Sabine de m'avoir transmis la passion de la médecine vétérinaire.

Merci à Florence, Steve, Audrey, Benoît, Stéphanie, Fanny et Marie de m'avoir permis de réaliser mes stages externes avec vous et surtout merci pour votre gentillesse et tout ce que vous m'avez transmis.

Merci Ninon, Marion, Nicolas, Carolina et Mélanie pour cette demi-année passée ensemble en clinique, je n'aurais pas pu rêver avoir un meilleur groupe que le nôtre.

Merci à tous mes amis mais particulièrement à Antoine, Timothé, Guillaume, Matéo, Julien, Younes, Adrien, Jérémy, Adeline, Mélissa et Louis pour ces six formidables années et pour tous les moments passés avec vous.

Table des Matières :

1.	Introduction.....	7
2.	Généralités	7
2.1	LA FAMILLE DES ENTEROBACTERIACEAE	7
2.2	ANTIBIORÉSISTANCE.....	8
2.3	RÉSISTANCE INTRINSÈQUE/ NATURELLE DES ENTÉROBACTÉRIES AUX BETA-LACTAMINES : 7 PHÉNOTYPES.....	8
2.4	BLSE : BÉTA-LACTAMASES À SPECTRE ÉTENDU.	10
3.	Antibiorésistances portées par des bactéries du genre salmonella sp. Isolées chez des reptiles.....	11
3.1	SALMONELLA. SP CHEZ LES REPTILES : SOUCHES IMPLIQUÉES ET RÉSISTANCES MISES EN ÉVIDENCE :	11
3.2	ASPECT ZOONOTIQUE DU PORTAGE DE SALMONELLA SP. PAR LES REPTILES.....	14
4.	Antibiorésistances portées par des bactéries escherichia coli isolées chez des reptiles..	16
5.	Antibiorésistances portées par des bactéries de la famille des morganellaceae : morganella, proteus et providencia	18
6.	Antibiorésistances portées par des bactéries du genre klebsiella sp. Isolées chez des reptiles.....	20
7.	Utilisation de reptiles sauvages comme espèces sentinelles de la santé des écosystèmes : focus sur les résistances aux antibiotiques.....	21
8.	Partie expérimentale : évaluation du profil de résistance d'escherichia coli isolées de reptiles en belgique.....	24
8.1	OBJECTIF	24
8.2	MATÉRIEL ET MÉTHODE	24
8.2.1	effectif étudié.....	24
8.2.2	ensemencement des souches sur un milieu sélectif pour escherichia coli	24
8.2.3	réalisation des antibiogrammes	25
8.3	RÉSULTATS.....	26
9.	Discussion générale	29
	bibliographie:	33

1. Introduction

L'antibiorésistance est une préoccupation majeure dans le monde scientifique tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire à cause du risque pour la santé publique qui en découle, les résistances chez les bactéries pouvant être naturelles ou acquises, notamment à cause d'un mauvais usage des antibiotiques. Des bactéries résistantes peuvent être sélectionnées tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire, ce qui justifie un usage raisonnable des antibiotiques notamment dans la profession vétérinaire étant donné la découverte régulière de nouvelles résistances aux antibiotiques. Le commerce des reptiles de compagnie a pris de l'essor au cours de ces dernières décennies un peu partout dans le monde, par exemple, il est estimé que le nombre de foyers américains où sont recensés des reptiles de compagnie auraient triplé sur 15 ans lors de ces dernières années, de ce fait, la contamination de l'homme par des bactéries pathogènes via une source reptilienne est de plus en plus probable étant donné l'augmentation des contacts reptile-homme, une augmentation dans les cas de salmonelloses humaines associées aux reptiles au cours du temps en est une preuve. (Smith et al, 2012 ; Ramos et al., 2019) L'étude de la présence de résistances aux antibiotiques fréquemment utilisés chez les bactéries commensales telles que les *Enterobacteriaceae* des reptiles est intéressante d'un point de vue santé animale, car pour certaines elles sont pathogènes opportunistes et peuvent causer des pathologies chez nos reptiles de compagnie, mais aussi pour la santé humaine étant donné l'augmentation des contacts avec ces animaux, les risques de contaminations sont plus élevés.

2. Généralités

2.1 La famille des *Enterobacteriaceae*

La famille des *Enterobacteriaceae* est une grande famille de bacilles Gram négatifs comprenant de nombreux genres de bactéries aéro-anaérobies facultatives pouvant être mobiles ou immobiles, certaines espèces de cette famille sont commensales du tractus digestif de l'homme et de l'animal (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, *Proteus mirabilis*,...), d'autres sont des pathogènes (*Shigella*, *Yersinia*, ...) et d'autres sont Saprophytes (*Serratia sp*, *Enterobacter sp*, etc,...). Dans cette famille de bactéries, on distingue les genres de bactéries (*Escherichia*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Yersinia*, etc,...) en fonction de certaines de leurs caractéristiques métaboliques (fermentation du lactose, production d'uréase,...) et au sein de chaque genre, les bactéries sont classées en espèces selon leurs caractères

biochimiques et antigéniques (Antigènes H, O, K). L'antigène O est présent chez toutes les *Enterobacteriaceae*, c'est l'antigène de paroi de la bactérie, il fait partie des constituants du LPS (lipopolysaccharides) ou endotoxine de la bactérie pouvant provoquer des effets délétères sur un organisme. L'antigène H est présent chez les bactéries qui portent des flagelles, il est non toxique pour un organisme. L'antigène K est un des antigènes de surface qui entoure la paroi de certaines bactéries et est très souvent relié à la présence d'une capsule. Les antigènes O, K et H permettent de classer en sérotypes ou sérovars les bactéries d'une même espèce bactérienne. (www.chups.jussieu.fr; <http://www.microbes-edu.org>; www.infectiologie.com)

2.2 Antibiorésistance

Chez les bactéries, les résistances aux antibiotiques peuvent soit être intrinsèques soit être acquises, les résistances intrinsèques sont dites chromosomiques et sont installées dans le patrimoine génétique de la bactérie. Une résistance intrinsèque est donc présente chez toutes les souches d'une même espèce et sera transmise de manière verticale et systématique. Ces résistances vont donc limiter le spectre naturel des antibiotiques tandis que, les résistances acquises (mutations ou acquisition de gènes) ne vont être présentes que dans une fraction des souches d'une espèce. Ces mutations vont être sélectionnées notamment grâce à un mauvais usage des antibiotiques comme par exemple en sous-dosant les antibiotiques, ces résistances vont conférer un avantage sélectif en cas de traitement ce qui peut conduire à un échec thérapeutique. (www.chups.jussieu.fr; <http://www.microbes-edu.org>; www.infectiologie.com)

Par exemple, les fermes d'élevage de tortue de Floride (*Trachemys scripta elegans*) aux Etats-Unis utilisent souvent des bains de sulfate de gentamicine (aminoglycoside) pour éliminer les *Salmonella spp.* des œufs de tortue. Il est démontré que les bactéries isolées à partir des œufs ou des animaux traités sont globalement plus résistantes à la gentamicine et à d'autres aminoglycosides (gènes de résistances aac(3)-Iia et aac(3)-Via) que les souches venant d'animaux non traités. (Díaz et al., 2006)

2.3 Résistance intrinsèque/ naturelle des entérobactéries aux beta-lactamines : 7 phénotypes

La famille des bêta-lactamines est une classe d'antibiotique et comprend les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames, elles ont en commun le cycle bêta-lactame, celui-ci mime les précurseurs intervenant dans la synthèse de la paroi des bactéries.

Il existe différents profils de résistances naturelles aux bêta-lactamines chez les *Enterobacteriaceae*, ces profils sont classés en 7 différents groupes. (Philippon et Arlet, 2012)

Tableau I : Les 7 phénotypes de résistance naturelle aux bêta-lactamines chez les entérobactéries. (Philippon et Arlet, 2012)

	Phénotype du Groupe						
	0	1	2	3	4	5	6
	<i>Salmonella spp.</i> <i>P. mirabilis</i>	<i>E. coli</i> <i>Shigella spp.</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>K. oxytoca</i> <i>C. koseri</i>	<i>Enterobacter</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Serratia marcescens</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Hafnia alvei</i> ...	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Serratia fonticola</i>	<i>P. vulgaris</i> <i>P. penneri</i>	<i>Kluuyvera</i> <i>Rahnella</i> <i>Citrobacter sedlakii</i>
Antibiotique	Absence de gènes de β-lactamase	Céphalosporinase chromosomique non inducible	Pénicillinase de bas niveau constitutive	Céphalosporinase de bas niveau, chromosomique et inducible par les β-lactamines	Pénicillinase de bas niveau + Céphalosporinase de bas niveau	Céphalosporinase inducible (Céfuroximase)	BLSE chromosomique de bas niveau
Amox	S	S/I	R	R	R	R	I/R
Amox + Ac Clav	S	S/I	S	R	R	S	S/I
Ticarcilline	S	S	R	S	R	S	I/R
Ticar + Ac Clav	S	S	S	S	S	S	S
Pipéracilline	S	S	I	S	I	S	I
Pip + Tazo	S	S	S	S	S	S	S
C1G	S	S/I	S	R	R	R	I/R
C2G	S	S	S	S/I/R	S/I	R	I/R
Céfoxitine (céphamycine)	S	S	S	S/I/R	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S/I
C4G	S	S	S	S	S	S	S/I
Carbapénèmes	S	S	S	S	S	S	S
Remarque	Proteus, Morganella, Providencia : imipénème S/I (faible affinité PLP2)						

Le groupe 0 est dit « sensible », c'est un phénotype sans gènes de bêta-lactamases (pas de céphalosporinase). Le groupe 1 est dit « sensible » : c'est un phénotype produisant naturellement une céphalosporinase de classe C (très bas niveau, gène ampC chromosomique non inducible). Il n'existe pas vraiment de différence de sensibilité entre le groupe 0 et 1 vis-à-vis des céphalosporines de type 1 et 2 comme on le voit dans le tableau I mais il est possible, dans le groupe 1, de faire émerger un mutant hyper producteur de céphalosporinases (résistance acquise) après un échec thérapeutique (cefoxidine/ ceftazidime), celui-ci est qualifié de céphalosporinase à spectre élargi. Le groupe 2 : phénotype pénicillinase chromosomique de bas niveau constitutive (on observe une petite zone d'inhibition autour de l'amoxicilline et de la ticarcilline), cette pénicillinase est sensible aux inhibiteurs de bêta-lactamases. Le groupe 3 : phénotype céphalosporinase bas niveau de classe C (gène ampC), chromosomique et inducible par les β-lactamines qui confère une résistance à l'amoxicilline, à l'amoxicilline + acide clavulanique et aux céphalosporines de première génération. Le groupe 4 : phénotype pénicillinase + céphalosporinase de bas niveau, production de 2 bêta-lactamases (Pénicillinase constitutive de classe A et céphalosporinase inducible de classe C) qui confère une résistance à l'amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique, ticarcilline et aux céphalosporines de première génération. Le groupe 5 : Phénotype céfuroximase (céphalosporinase de classe A, inducible) qui confère une résistance à l'amoxicilline (pas à l'acide clavulanique), aux céphalosporines de première génération, à certaines

céphalosporines de 2^{ème} génération (dont le cefuroxime). Le groupe 6 : BLSE chromosomal de bas niveau présent chez certaines bactéries, les BLSE (bêta-lactamases à spectre étendu) sont des enzymes capables d'hydrolyser l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines. (Philippon et Arlet, 2012)

2.4 BLSE : Bêta-lactamases à spectre étendu.

Les bêta-lactamases à spectre étendu sont des enzymes produites par les entérobactéries capables d'hydrolyser l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines (excepté les céphamycines, le moxalactam et les carbapénèmes). (Mariani-Kurkdjian et al., 2012)

Ces enzymes sont en partie inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases (tel que l'acide clavulanique, le tazobactam ou le sulbactam) et celles-ci sont portées par des plasmides, les premières BLSE mises en évidence dérivaient de bêta-lactamases de type TEM ou SHV-1 via mutation ponctuelle et ont été décrites à la base chez *Klebsiella pneumoniae* (TEM 3 et SHV 2), récemment des BLSE non dérivées de pénicillinases ont émergé et sont en majorité des enzymes de type CTX-M (plus résistant à la céfotaxime qu'à la ceftazidime), ces gènes de CTX-M proviennent de bactéries de l'environnement, il existe 5 grands groupes de CTX-M (M1, M2, M8, M25, M9) qui ont été décrits et l'ensemble comporte en tout 84 variants. Ce mécanisme de résistance est le plus souvent associé à une résistance multiple aux aminosides, au cotrimoxazole et aux tétracyclines. (Mariani-Kurkdjian et al., 2012)

La mise en évidence d'une BLSE repose, par exemple, sur la détection d'une synergie entre une céphalosporine de 3^{ème} génération et l'acide clavulanique, car celui-ci est stable vis-à-vis des BLSE, une étude sur 63 souches d'*E. coli* BLSE a mis en évidence le fait que 93 % des isolats étaient résistants au céfixime (céphalosporine de 3^{ème} génération) seul alors qu'au contraire, l'association amoxicilline/acide clavulanique et céfixime était active contre 90 % des souches. (Mariani-Kurkdjian et al., 2012)

La diffusion de ces *E. coli* BLSE résulterait en réalité de 2 événements : la pression de sélection des antibiothérapies et la transmission croisée d'*E. coli* en milieu hospitalier mais différentes études mettent également en évidence la présence de BLSE chez des reptiles ce qui pourrait constituer une source de contamination pour l'homme. (Mariani-Kurkdjian et al., 2012 ; Hossain et al., 2020)

3. Antibiorésistances portées par des bactéries du genre *Salmonella* sp. isolées chez des reptiles

3.1 *Salmonella* sp chez les reptiles : souches impliquées et résistances mises en évidence :

Salmonella . *sp* est une bactérie Gram négative de la famille des *Enterobacteriaceae* qui peut être transmise à l'homme et qui peut provoquer une salmonellose chez celui-ci, il existe différentes voies de transmission de cette bactérie à l'homme dont la voie féco-orale via un animal excréteur ou l'ingestion d'un produit alimentaire contaminé. (Maciel et al., 2010 ; Bertelloni et al., 2016)

Les reptiles sont souvent porteurs asymptomatiques et excréteurs intermittents de *Salmonella* *sp.*, ceux-ci étant repris parmi les hôtes naturels de ces bactéries bien que dans certaines conditions, ils peuvent présenter des salpingites, des dermatites, des ostéomyélites et des septicémies dues à ces bactéries, de plus, il est estimé que 60 à 90 % de tous les reptiles sont porteurs au niveau digestif et cutané et excrètent *Salmonella* *sp.*, ceci représente un risque zoonotique chez les personnes qui ont des contacts avec des reptiles de manière directe ou indirecte. (Smith et al, 2012 ; Bertelloni et al., 2016 ; Clancy et al., 2016 ; Ramos et al., 2019)

Le genre *Salmonella* est représenté par 3 espèces *Salmonella bongori*, *Salmonella subterranea* et *Salmonella enterica* qui englobe 6 sous-espèces : *S. enterica* ssp. *enterica* (I), *S. enterica* ssp. *salamae* (II), *S. enterica* ssp. *arizona* (IIIa), *S. enterica* ssp. *diarizonae* (IIIb), *S. enterica* ssp. *houtenae* (IV) and *S. enterica* ssp. *indica* (VI). Chez les reptiles on va retrouver principalement *Salmonella enterica subspecies II (salamae)*, *IIIa (arizona)*, *IIIb (diarizonae)*, *IV (houtenae)*, *VI (indica)* et *Salmonella bongori* mais parfois on retrouve *Salmonella enterica enterica* (la plus fréquemment associée à une pathologie chez l'homme). *Salmonella* *sp.* serait plus souvent isolée chez les reptiles captifs ou importés à cause de certaines conditions de vie comme une plus haute densité en nombre d'animaux, le stress, certains problèmes associés à l'alimentation, elle serait également plus souvent isolée chez un animal malade par rapport à un animal sain, de plus, il est suggéré que ces bactéries soient plus fréquemment isolées chez les animaux à tendance carnivore qui auraient plus de chances de se contaminer via leur nourriture (rongeurs, œufs, volailles). (Park et al., 2009 ; Smith et al, 2012 ; Mughini-Gras et al., 2016 ; Ramos et al., 2019)

On a également pu démontrer chez les serpents une transmission verticale de *Salmonella sp.* et une transmission à la naissance via la coquille de l'œuf comme chez les poulets. (Maciel et al., 2010)

L'étude des résistances aux antibiotiques chez *Salmonella sp.* est particulièrement intéressante étant donné le pouvoir pathogène sur l'homme et même sur le reptile lui-même que peut avoir cette bactérie, chez l'homme les salmonelloses, qu'elles soient dues à des sous-espèces atypiques (comme celles retrouvées chez les reptiles) ou à *Salmonella enterica enterica* (sérotype *typhimurium* ou *enteritidis* par exemple) engendrent souvent des gastro-entérites qui occasionnent de la diarrhée, des vomissements et de la fièvre, cependant, chez certaines catégories de personnes (YOPI : : young, old, pregnant, immunosuppressed) ces infections peuvent franchir la barrière intestinale et provoquer un syndrome septicémique de type typhoïde. Les résultats au niveau de la sensibilité aux antibiotiques de *Salmonella sp.* sont assez différents selon les études, dans certaines, un haut taux de multi-résistances (68,9%) est même obtenu sur des isolats de *Salmonella enterica*, ces isolats étant insensibles pour 93,1 % à la tigécycline (dérivés de la tétracycline), pour 89,6% à la streptomycine et pour 86,6% au sulfonamide. (Bertelloni et al., 2016)

En ce qui concerne les bêta-lactamines, certaines études décrivent un haut taux de sensibilité pour l'ampicilline, l'amoxicilline/ acide clavulanique, le cefotaxime, le ceftazidime, la céfalotine tandis que d'autres mettent en évidence des résistances à l'encontre d'antibiotiques de cette famille notamment pour la céfalotine. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Barbour et al., 2007 ; Maciel et al., 2010 ; Bertelloni et al., 2016 ; Ramos et al., 2019)

Par exemple, une étude sur des tortues *Testudo graeca* et *Testudo horsfieldii*, 2 tortues couramment rencontrées en captivité, démontrent une sensibilité des *Salmonella sp.* isolées à la kanamycine, à la gentamicine, au chloramphénicol et au triméthoprime-sulfaméthoxazole et une résistance à hauteur de 17 % des isolats pour la pénicilline. Pour les sulfamidés, certaines études démontrent de bons résultats au niveau de leur utilisation seule ou en combinaison avec le triméthoprime dont par exemple une étude réalisée en Trinité-et-Tobago sur un groupe de reptiles captifs alors que d'autres ont obtenu des résultats suggérant un haut taux de résistance au sulfonamide comme par exemple, sur un lot de *Gekko gecko* indonésiens destinés à l'exportation ou bien chez un groupe de *Tupinambis merianae* destiné à la consommation humaine au Brésil, où 82 % des souches sont résistantes au sulfonamide. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Barbour et al., 2007 ; Guerra et al., 2010 ; Maciel et al.,

2010 ; Smith et al, 2012) Chez les phénicolés, globalement les résultats de différentes études ont tendance à s'accorder sur une bonne sensibilité du chloramphénicol sur *Salmonella* sp. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Barbour et al., 2007 ; Maciel et al., 2010) Dans la famille des aminoglycosides on a des résultats assez hétérogènes au sein d'une même étude, qui démontre notamment une bonne sensibilité pour la gentamicine (75% de sensibilité) mais à l'opposé, une non-sensibilité de 89,6% des souches à la streptomycine, ce qui est en accord aux résultats d'antibiogramme réalisés sur divers reptiles en Trinité-et-Tobago où 100 % des isolats de *Salmonella* sp étaient résistants à la streptomycine, certaines souches étaient également résistantes à la néomycine. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Bertelloni et al., 2016) De même, la streptomycine a été identifiée comme un des antibiotiques présentant le plus de résistances chez un groupe de Téju destinés à la consommation humaine parmi différents sérovars de *Salmonella enterica* (64 % de résistance) alors que 100% des isolats sont sensibles à la gentamicine. (Maciel et al., 2010) Dans la famille des tétracyclines, on observe dans plusieurs études un haut taux de non-sensibilité pour les antibiotiques de cette famille, certaines décrivent de haut taux de non sensibilité et de résistance comme par exemple à l'encontre de la tigécycline (93,10% de non-sensibilité) ou bien de la tétracycline (56% de résistance). (Guerra et al., 2010 ; Maciel et al., 2010 ; Bertelloni et al., 2016) Pour les quinolones, la plupart des études démontrent une bonne sensibilité de *Salmonella* sp. pour les molécules de cette famille comme par exemple dans une étude effectuée sur des isolats de *Salmonella enterica* issue de 213 reptiles captifs où l'enrofloxacine, la ciprofloxacine et l'acide nalidixique ont été testés et sont respectivement sensibles à 82,76 %, 89,66% et 82,76%, des résultats similaires ont été obtenus dans l'étude réalisée en Trinité-et-Tobago pour la norfloxacine. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Bertelloni et al., 2016)

La présence de gène de résistance aux quinolones a été recherchée au travers de certaines études, par exemple, les gènes PMQR (Plasmid-mediated quinolone resistance) : qnrA, qnrB, qnrC, qnrD, qnrS, qepA et aac(6')-Ib-cr qui ont été recherchés sur 10 isolats de *Salmonella* sp de différents serotypes provenant de reptiles venant d'Allemagne (comprenant des lézards, des serpents et des tortues) ce qui a permis de mettre en évidence la présence de ce genre de gène chez 9 d'entre eux (voir résultats de l'étude dans le tableau II). (Guerra et al., 2010)

Tableau II : Présence de PMQR chez des reptiles et sensibilité des différents isolats. (Guerra et al., 2010)

Table 1. *Salmonella enterica* carrying PMQR genes isolated from reptiles

NRL no.	Serotype	Origin	Isolation region (city)	Resistance pattern ^a	MIC (mg/L)		XbaI PFGE pattern	Plasmid profile	PMQR genes	Carrier plasmid	
					CIP	NAL				size (kb)	replicon type
07-1678	Salmonella Urbana	black iguana (zoo)	Berlin	susceptible	0.5	16	X1	PP1	qnrB19	4.5	ColE-Tp ^d
08-0944	Salmonella subsp. I rough ^b	water dragon (zoo)	Berlin	susceptible	0.5	16	X1	PP1	qnrB19	4.5	ColE-Tp ^d
07-4392	Salmonella Urbana	bearded dragon (zoo)	Berlin	susceptible	0.25	8	X1b	PP1b	qnrB19	4.5	ColE-Tp ^d
08-4326	Salmonella subsp. I rough	bearded dragon	Baden-Württemberg (Stuttgart)	susceptible	0.5	16	X2	PP2	qnrB19	2.7	ColE-Tp ^d
06-1428	Salmonella subsp. II 58:l,Z ₁₃ :Z ₂₈ :Z ₆	gecko	Brandenburg (Frankfurt an der Oder)	SXT-NAL	1	32	X3	PP3	qnrB19	4.5	ColE-Tp ^d
05-4864	Salmonella subsp. IV 16:Z ₄ ,Z ₃₅ :	monitor lizard	Thuringia (Jena)	susceptible	0.5	16	X4	PP4	qnrB19	2.7	ColE-Tp ^d
06-0145	Salmonella subsp. IV 48:g,Z ₅₁ :	snake	North Rhine-Westphalia (Detmold)	susceptible	0.5	16	X5	PP5	qnrB19	2.7	ColE-Tp ^d
07-0279	Salmonella Litchfield	turtle	Thuringia (Bad Langensalza)	SXT-TET-TMP	1	16	X6	PP6	qnrB6'/aac(6')-lb-cr	45 ^c	IncN
08-4339	Salmonella Pomona	turtle	Hesse (Gießen)	TET-TMP	0.5	8	X7	PP7	qnrS1	35	IncX

NRL, German National *Salmonella* Reference Laboratory (NRL-Salm).

^aEuropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (www.eucast.org) cut-off values for microdilution susceptibility testing were used. The antimicrobials tested were: NAL, nalidixic acid; TET, tetracycline; TMP, trimethoprim; SXT, trimethoprim/sulfamethoxazole.

^bAfter molecular analyses (PFGE typing), this isolate was considered as *Salmonella* Urbana.

^cOnly the qnrB probe was used for hybridization experiments.

^dColE variant described by Garcia-Fernández et al.²

Dans le tableau II, on voit que même en présence de gène PMQR, seul un des 9 isolats est résistant à une quinolone (acide nalidixique). (Guerra et al., 2010) Des résistances à la ciprofloxacin (une autre fluoroquinolone) ont été mises en évidence lors d'une étude au Brésil, alors que celle-ci est utilisée en humaine pour traiter certaines infections sévères, c'est pour cela qu'une attention particulière doit être portée sur ces bactéries résistantes aux quinolones. (Ramos et al., 2019) Les fluoroquinolones et les céphalosporines de 3^{ème} génération sont utilisés comme un traitement optimal de la salmonellose chez l'humain dans les pays développés alors que dans les pays en développement, le traitement de la salmonellose chez l'homme fait souvent recours au chloramphénicol, au triméthoprime-sulfamethoxazole ou à l'amoxicilline, d'où le choix de plusieurs études d'inscrire ces antibiotiques dans leurs antibiogrammes. (Smith et al, 2012) On observe un taux de résistance élevé pour certaines familles d'antibiotiques comme pour les lincosamides (clindamycine, lincomycine), les macrolides (érythromycine), les pénicillines et la rifampicine comme attendu pour des bactéries Gram négatives tel que *Salmonella* sp. (Clancy et al., 2016)

3.2 Aspect zoonotique du portage de *Salmonella* sp. par les reptiles

Salmonella sp. est détectée chez 60 à 90 % des reptiles de compagnie, ceux-ci étant souvent porteurs asymptomatiques de la bactérie, il est reconnu que les reptiles peuvent être une

source de contamination par *Salmonella* sp. chez l'homme, bien que la sous-espèce *enterica* soit la sous-espèce causant le plus souvent la pathologie chez l'homme, les autres sous-espèces (communes chez les reptiles) peuvent aussi être à l'origine de cette maladie. La proportion des salmonelloses transmises par les reptiles parmi le nombre de salmonelloses total chez l'homme n'est pas à négliger, en effet 2 % des salmonelloses aux Pays-Bas sur une période de 30 ans (1984-2014) ont pour source un reptile, de plus ces statistiques sont en augmentation au cours du temps dans ce pays, tandis que aux USA la proportion serait encore plus élevée et atteindrait 5%. (Maciel et al., 2010 ; Smith et al, 2012 ; Mughini-Gras et al., 2016)

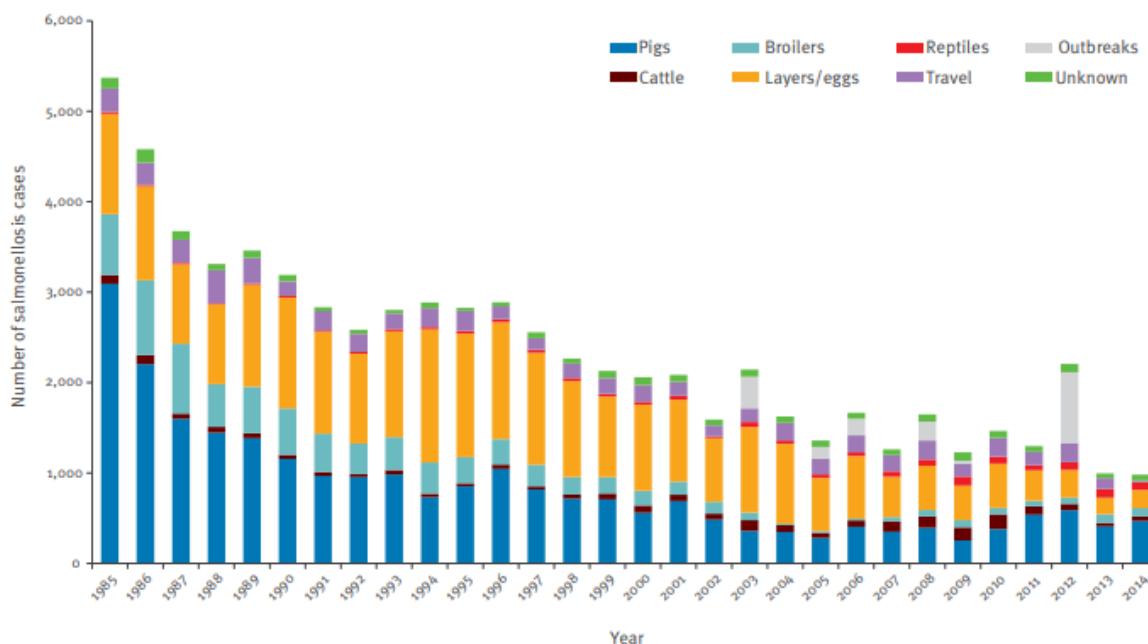


Fig.1. Nombre annuel de cas de salmonelloses humaines reportés et attribués à différentes sources entre 1985 et 2014. Le nombre de cas de salmonelloses humaines aux Pays-Bas est repris pour chaque année dans une période comprise entre 1985 et 2014. Dans chaque colonne, le nombre total de salmonelloses est attribué à différentes sources (animales ou non) via un code couleur (voir figure 1). (Mughini-Gras et al., 2016)

On peut voir sur la figure 1 que le nombre total de cas de salmonellose tend à diminuer aux Pays-Bas, cependant, la proportion associée aux reptiles augmente au cours du temps. La plupart des cas étant liés à d'autres sources animales notamment les porcs et les poules pondeuses. Des résultats similaires sont retrouvés ailleurs en Europe, par exemple en Suède où 6% du nombre total de salmonelloses serait associé à une contamination par un reptile, ces

différents chiffres à travers le monde pourraient être associés au fait que le marché des reptiles de compagnie tend à augmenter et se diversifier ces dernières années. (Mughini-Gras et al., 2016)

La majorité des souches de *Salmonella* sp. retrouvées chez les reptiles appartiennent aux sous-espèces autres que la sous espèce 1, Or, plus de 99 % des cas de salmonellose chez l'homme sont imputables à la sous espèce 1 (serotypes enteritidis et typhimurium en majorité). Un recensement des cas de salmonelloses associées aux reptiles au Minnesota entre 1996 et 2011 a permis de mettre en évidence plusieurs choses, d'une part, 3,5% des cas de salmonelloses étaient associés à des reptiles (grâce à l'utilisation d'un questionnaire donné à chacun des malades), d'autre part, les serotypes les plus communs chez les personnes atteintes de salmonelloses associées à un reptile étaient des sérotypes de la sous-espèce *enterica* et plus précisément les sérotypes: *Typhimurium* (45,15%) et *enteritidis* (20,7%), la sous-espèce étant à chaque fois retrouvée chez la personne malade et le reptile suspect de transmission. (Whitten et al., 2015)

Il est suggéré que la contamination des reptiles par ces sous-espèces pourrait être due à leur alimentation, en effet, de nombreuses espèces de reptiles sont nourries avec des rongeurs, de la volaille ou des œufs (serpents, varans, certains lézards et tortues) ce qui pourrait expliquer le portage de ces sous-espèces chez les reptiles, en effet, la sous-espèce I a été retrouvée chez certains reptiles précédemment citée ou bien encore lors d'une recherche de *Salmonella* en Trinité -et-Tobago effectuée sur un *Boa constrictor* ayant permis de mettre en évidence une souche de *Salmonella enterica enterica* sérotype *enteritidis*. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Whitten et al., 2015)

4. Antibiorésistances portées par des bactéries *Escherichia Coli* isolées chez des reptiles.

Escherichia Coli est un bacille Gram négative anaérobie facultative commensale du tractus digestif des vertébrés dont certaines souches ont un pouvoir pathogène, bien que très fréquente chez les mammifères, *Escherichia Coli* semble être assez fréquemment isolée chez les reptiles, à hauteur de 68,4% d'après les résultats d'un recensement sur un groupe de reptiles brésiliens, il semblerait également que cette bactérie soit plus communément isolée chez les animaux carnivores comme les serpents. (Ramos et al., 2019)

D'après une étude en Turquie où des reptiles et amphibiens sauvages ont été récoltés dans le but de déterminer les profils de résistances aux antibiotiques chez la faune sauvage, 14,37% (22 isolats sur les 153 isolats au total qui venaient de 50 animaux dont 40 reptiles) de tout les isolats de bactéries isolés chez ces animaux étaient des *Escherichia Coli* et faisait partie des genres de bactéries les plus fréquemment rencontrés avec *Aeromonas sp.*, *Proteus sp.* et *Klebsiella sp.* (Hacioglu et al., 2014)

En ce qui concerne les résistances que l'on peut retrouver chez cette espèce de bactérie, on a pu mettre en évidence la présence du gène plasmidique *mcr-1* qui code pour une résistance à la colistine (polymyxines) chez deux lézards importés du Vietnam (*Takydromus sexlineatus*), un gène de résistance d'ESBL (extended spectrum beta-lactamase) a aussi été mis en évidence chez ces 2 animaux. Les 2 isolats d'*Escherichia Coli* portant le *mcr-1* étaient également résistants à différentes bêta-lactamines (ampicilline, pipéracilline, céfalexine, cefotaxime), aux fluoroquinolones (enrofloxacine, marbofloxacine), aux tétracyclines et à la combinaison de triméthoprime/ sulfaméthoxazole et à la polymyxine B en plus d'être résistants à la colistine. Ceci pourrait suggérer que le marché des animaux exotiques pourrait contribuer, dans une certaine mesure, à la dissémination globale des multi-résistances bactériennes dans le monde. (Unger et al., 2016)

Des résultats similaires ont été démontrés chez une souche d'*Escherichia Coli* isolé chez un varan du Pacifique (*Varanus Indicus*). En effet, cette souche était à la fois résistante à la tétracycline, au sulfaméthoxazole mais aussi à la kanamycine (aminoglycoside) et au chloramphénicol, de plus, la présence du gène *tet(A)* plasmidique (gène de résistance aux tétracyclines) a été démontrée via PCR chez cette souche. Un point intéressant est le fait que cet animal n'a pas eu de traitements connus aux antibiotiques. Il est possible que ces résistances soient capables de se disséminer via le milieu aquatique (Le varan du Pacifique est une espèce semi-aquatique) à partir d'une source humaine, comme le suggère d'autres études. (Waturangi et al., 2003)

Une autre situation similaire s'est déroulée dans un hôpital au Ghana, où des geckos *Hemidactylus Brooki* se sont révélés être porteurs de gènes de résistance ESBL dont le gène bla CTX-M-15. Il est possible que ces geckos se soient contaminés à partir du milieu ou bien via leur nourriture, par exemple par des insectes volants contaminés. (Eibach et al., 2019)

Des résultats de sensibilité aux antibiotiques montrent que tout les *Escherichia Coli* isolés chez des reptiles et amphibiens sauvages en Turquie démontrent des résistances à différent

degrés à la cefoxitine, à l'érythromycine et à l'ampicilline alors que l'aminoglycoside testé dans cette étude avait le meilleur taux de sensibilité (gentamicine), ce qui suggère de nouveau que la pollution des eaux via l'activité humaine pourrait permettre la transmission de résistances aux bactéries de la faune sauvage. (Hacioglu et al., 2014)

Certaines souches répertoriées dans une étude sur différents reptiles captifs au Brésil étaient à la fois porteuses de gènes de virulence : cnf1 (cytotoxic necrotizing factor-1) et EAST1 (enteroaggregative Escherichia Coli heat-stable enterotoxin 1). Leur profil d'antibiorésistance a mis en évidence que certaines souches porteuses de cnf1 étaient résistantes ou intermédiaires à la céfalotine dont une souche en particulier qui était résistante à la céfalotine, au triméthoprim-sulfamethoxazole, à la ciprofloxacine et au chloramphénicol. Il est décrit que les souches d'Escherichia Coli cnf1+ peuvent être responsable de pathologies intestinales et extra-intestinales tant chez l'homme que chez l'animal (cystite, méningite,...). Or, la céfalotine est un antibiotique utilisé en médecine humaine dans le traitement des infections urinaires, la ciprofloxacine, le chloramphénicol et le triméthoprim-sulfamethoxazole étant eux aussi des traitements pour les infections urinaires chez l'homme et l'animal. (Ramos et al., 2019)

Les résultats des différentes études citées ci-dessus sont assez variés, on peut néanmoins en ressortir la présence de résistances à différentes bêta-lactamines, au triméthoprime-sulfaméthoxazole, aux tétracyclines, au chloramphénicol et à différentes quinolones (ciprofloxacine, enrofloxacine, marbofloxacine). Certains gènes de résistances (mcr-1, bla CTX-M-15, etc,...) sont présents parmi les souches analysées. (Waturangi et al., 2003 ; Hacioglu et al., 2014 ; Unger et al., 2016 ; Eibach et al., 2019)

5. Antibiorésistances portées par des bactéries de la famille des Morganellaceae : *Morganella*, *Proteus* et *Providencia*

La famille des *Morganellaceae* est constituée de 3 genres de bactéries Gram négatives : *Proteus*, *Morganella* et *Providencia*, les bactéries de cette famille ont été dans un premier temps comprises dans la famille des *Enterobacteriaceae* mais certaines études classent distinctement ces 2 familles dans l'ordre des *Enterobacteriales*, bien que distinctes des *Enterobacteriaceae*, elles sont encore classifiées dans la famille des *Enterobacteriaceae* par des études récentes, c'est pour cela que cette famille est abordée ici, certaines bactéries comprises dans cette famille sont pathogènes opportunistes chez l'homme (*Morganella*,

Proteus et *Providencia*), celles-ci peuvent être retrouvées dans l'environnement et au niveau de la flore intestinale de l'homme et des animaux dont les reptiles chez qui ces bactéries sont le plus souvent asymptomatiques (Adeolu et al., 2016 ; Pathirana et al., 2018 ; Wimalasena et al., 2019) Chez l'homme, elles peuvent provoquer des pathologies (septicémie, maladies du tractus urinaire, surinfections de blessure), certaines études démontrent également des souches de bactéries multi-résistances au sein de cette famille ce qui peut compliquer certains traitements, le risque étant plus élevé au sein de certaines classes d'âge de personnes (YOPI) comme dans le cas d'infection à *Salmonella* sp. (Pathirana et al., 2018 ; Wimalasena et al., 2019)

Les reptiles sont une source d'infection pour les personnes d'autant plus chez les personnes ayant des reptiles de compagnie, en effet, la contamination par certaines manipulations d'entretien notamment chez les espèces aquatiques est une source de risque d'infection à cause d'une transmission possible par l'eau du milieu de l'animal, de plus l'isolation de ces bactéries à partir de ces animaux est fréquente comme par exemple lors d'une étude sur un groupe de tortues aquatiques de compagnie où plusieurs espèces de cette famille ont été mises en évidence dont : *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Proteus hauseri* dont la majorité des souches étaient multi-résistantes. Cette étude a mis en évidence que 87,5% des isolats étaient résistants au nitrofurane, 81,25 % étaient résistants aux beta-lactamines, 56,25% étaient résistants aux tétracyclines, 39,06% étaient résistants aux aminoglycosides et 26,56 % étaient résistants aux phénicols. Différents gènes de résistances ont également été mis en évidence parmi les isolats ceux-ci codaien pour des résistances aux tétracyclines, aux beta-lactamines et aux aminoglycosides. (Pathirana et al., 2018)

En ce qui concerne les résistances à la famille des quinolones des *Morganellaceae*, une autre étude réalisée sur des tortues de compagnie de Corée du Sud a permis d'isoler différentes bactéries de cette famille (*Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* et *Proteus hauseri*) et de tester la présence de résistances aux quinolones ainsi que la présence de gènes de résistances aux quinolones plasmidiques, les PMQR (Plasmid-mediated quinolone resistance) incluant les gènes qnr et le gène aac(6)Ib-cr, et de rechercher des mutations chromosomales dans les QRDR (quinolone resistance-determining region) de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV qui sont des cibles des quinolones. Parmi les 64 isolats de *Morganellaceae* mis en évidence, 78% étaient sensibles aux quinolones testées (ofloxacin, ciprofloxacine, levofloxacine et acide nalidixique), 4 isolats étaient

résistants à tout les antibiotiques testés, 6 étaient résistants à un antibiotique (acide nalidixique) et de sensibilité intermédiaire aux autres, 2 isolats n'étaient résistants qu'à l'acide nalidixique, des mutations dans les QRDR ont été mises en évidence dans 18% des isolats tandis que la mise en évidence de PMQR s'est avérée plus fréquente, étant donné que 46 isolats présentaient des gènes qnr, le plus fréquent étant qnrD dans 76% des isolats (suivi de qnrS, qnrA et qnrB chez respectivement 17%, 13% et 2% des isolats) et le second plus prévalent étant aac(6)Ib-cr qui a été retrouvé chez 52% des isolats. (Wimalasena et al., 2019)

Ces résultats de sensibilité rejoignent de précédentes études et mettent en évidence une globalement bonne efficacité des quinolones sur cette famille de bactérie et montre également la prévalence de gènes et mutations au sein des isolats testés, les isolats les plus résistants étant obtenus chez les souches porteuses de mutations QRDR (l'association de plusieurs de ces mutations est associée avec les valeurs de CMI les plus hautes) tandis que les gènes PMQR étaient les plus fréquemment rencontrés dans cette étude, ceux-ci étant combinés à des éléments génétiques mobiles (plasmides) facilitant la dissémination de ceux-ci et constituant un risque pour la santé publique. (Wimalasena et al., 2019)

6. Antibiorésistances portées par des bactéries du genre *Klebsiella* sp. isolées chez des reptiles.

Les bactéries du genre *Klebsiella* sp. sont des bactéries Gram négatives pathogènes opportunistes pouvant donner lieu à des pathologies chez l'homme et l'animal, elles font parties de la flore commensale régulièrement retrouvée chez les reptiles, elles peuvent dans certaines circonstances, causer des stomatites, des cloacites, des otites, des abcès sous-cutanés et viscéraux, des infections du tractus respiratoire haut et bas.

Une émergence de *Klebsiella* sp. multi-résistantes chez les reptiles a été mise en évidence notamment dans les ferme d'élevage des tortues, en effet, l'utilisation d'antibiotiques pourrait permettre une sélection de résistance chez les bactéries du genre *Klebsiella* dans les élevages de tortues de compagnie. Une étude menée en Corée sur des tortues de compagnie de diverses espèces a permis d'isoler les espèces *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* et de mettre en évidence leurs profils de résistance via test par diffusion sur disque et recherche de gènes de résistances par PCR, les gènes recherchés étant des gènes codant pour des bêta-lactamases de spectre étendu (blaTEM, blaSHV, blaCTX-M et blaIMP), des gènes de résistance aux

tétracyclines (tetA, tetB et tetE), des gènes de résistances aux aminoglycosides (strA-B, aphAI-IAB et aac(60')-Ib) et des gènes plasmidiques de résistance aux quinolones (qnrA, qnrB et qnrS). (Hossain et al., 2020)

Les résultats obtenus sont synthétisés dans le tableau III (ci-dessous), toutes les souches de *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae* sont résistantes à l'ampicilline (bêta-lactamine), on observe un haut taux de résistance contre la céfaloïne (céphalosporine de 1 ère génération). On retrouve des gènes codant pour des bêta-lactamases de spectre étendu chez les 3 souches de *Klebsiella pneumoniae* (gènes bla) mises en évidence et des gènes plasmidiques de résistance aux quinolones chez 7 des 13 souches de *Klebsiella oxytoca* (gène qnr). Certaines souches sont parfois résistantes à d'autres antibiotiques, on retrouve notamment des résistances à l'acide nalidixique, à la ciprofloxacine, à la tétracycline, à l'imipénème et au triméthoprime-sulfaméthoxazole. (Hossain et al., 2020)

Tableau III : Phénotype de résistance, présence de gènes de résistance et de virulence chez différentes souches du genre *Klebsiella* (Hossain et al., 2020)

Bacterial strain*	Antimicrobial resistance phenotype†	Antimicrobial resistance genes	Virulence genes					
			firmH	rmpA	mrkD	kfu	ureC	hlyA
<i>K. pneumoniae</i>								
KP1	AMP, KF (I), NAL (I)	bla _{SHV-1} , bla _{CTX-M}	+	+	+	+	+	-
KP2	AMP, T, STX, KF (I), IMP (I), STR (I), KN (I), NAL (I)	bla _{SHV-1} , bla _{CTX-M} , aac(6')-Ib-cr, qnrB, tetE	+	+	+	+	+	-
KP3	AMP, T, STX, NAL, KF (I), IMP (I), STR (I), KN (I), CIP (I), OFX (I)	bla _{SHV-1} , bla _{CTX-M} , aac(6')-Ib-cr, qnrB, tetE	+	+	+	+	+	-
<i>K. oxytoca</i>								
KX1	AMP, KF, IMP (I)	qnrA	-	-	-	+	+	-
KX2	AMP, KF	qnrA, qnrB	-	-	-	+	+	-
KX3	AMP, KF (I), IMP (I), STR (I)	qnrA, qnrB	-	-	-	+	+	-
KX4	AMP, KF (I), STR (I), KN (I)	qnrA	-	-	-	+	+	-
KX5	AMP, KF, IMP	qnrA, qnrB	-	-	-	+	+	-
KX6	AMP, KF, IMP (I), STR (I)	qnrB, qnrS	-	-	-	+	+	-
KX7	AMP, KF, IMP (I), STR (I)	-	-	-	-	-	+	-
KX8	AMP, KF (I)	-	-	-	-	-	+	-
KX9	AMP, KF, IMP (I)	-	-	-	-	+	+	-
KX10	AMP, KF, IMP (I), STR (I)	-	-	-	-	-	+	-
KX11	AMP, KF, IMP (I), STR (I)	-	-	-	-	+	+	-
KX12	AMP, KF, IMP	-	-	-	-	-	+	-
KX13	AMP, KF, IMP (I), NAL (I)	qnrS	-	-	-	-	+	-

**Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* are designated as KP and KX respectively.

†Antimicrobials; ampicillin, cephalothin, cefotaxime, ceftazidime, cefepime, imipenem, streptomycin, gentamicin, kanamycin, amikacin, nalidixic acid, ciprofloxacin, ofloxacin, tetracycline, chloramphenicol and trimethoprim/sulfamethoxazole, are marked as AMP, KF, FOX, CTX, CAZ, CEF, IMP, STR, GN, K, AK, NAL, CIP, OFX, TET, CHL and STX respectively. I = intermediate resistance.

7. Utilisation de reptiles sauvages comme espèces sentinelles de la santé des écosystèmes : focus sur les résistances aux antibiotiques

Différents milieux peuvent être impactés par les activités humaines mais parmi ceux-ci, un des plus touchés est certainement le milieu marin, l'étude d'espèces sentinelles est utile pour pouvoir évaluer la santé de celui-ci, celles-ci permettre d'avoir une idée de la santé globale d'un écosystème et pour cela doivent pouvoir correspondre à certains critères, par exemple être dotées d'une espérance de vie relativement longue, être relativement sédentaires vis-à-vis

d'une zone géographique ou bien encore avoir tendance à stocker des polluants, toxines ou pathogènes. Au sein de la faune marine, les espèces correspondant particulièrement bien à ces critères sont les tortues marines, comme par exemple la tortue caouanne (*Caretta Caretta*) qui évolue en mer Méditerranée, en effet, l'étude d'échantillons cloacaux et buccaux prélevés chez des individus de cette espèce dans 2 zones au large de l'Italie a permis de mettre en évidence, d'une part, la prévalence des espèces bactériennes isolées chez cette espèce et d'autre part d'analyser leur profil de sensibilité à divers antibiotiques, les *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter sp.* étant le genre le plus commun) et les *Pseudomonadaceae* étaient les 2 les plus retrouvées. (Pace et al., 2019)

Tableau IV : Sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes isolées chez un groupe de tortue caouanne (Pace et al., 2019)

Antibiotic resistance of bacterial isolates from oral and cloacal swabs of 35 loggerhead turtles.

Antibiotic	Bacterial strains (%)		
	Susceptible	Intermediate	Resistant
Amikacin	96.2%	3.8%	0%
Ampicillin	0%	5.3%	94.7%
Ceftazidime	44.4%	25.9%	29.6%
Chloramphenicol	55.5%	5.6%	38.9%
Ciprofloxacin	66.7%	3.7%	29.6%
Colistin sulphate	80%	0%	20%
Doxycycline	36.8%	15.8%	47.4%
Gentamicin	70.4%	3.7%	25.9%
Nalidixic acid	65%	5%	30%
Streptomycin	15.8%	47.4%	36.8%
Tetracycline	28.6%	0%	71.4%
Trimethoquin-Sulfamethoxazole	72.7%	4.6%	22.7%

Les bactéries isolées sont pour la plupart des bactéries commensales du microbiote des reptiles mais qui peuvent causer des pathologies chez l'homme, chez d'autres espèces animales et même chez cette espèce de tortue dans certaines conditions. (Pace et al., 2019)

Les résultats de sensibilité aux antibiotiques sont exprimés pour l'ensemble des bactéries isolées et il en ressort que la majorité des souches bactériennes (89,3%) étaient résistantes ou intermédiaires à au moins un des 12 antibiotiques testés (repris dans le tableau IV) les résistances les plus détectées sont à l'encontre des pénicillines et des tétracyclines puis des phénicols, des quinolones et des céphalosporines tandis que les meilleurs taux de sensibilité sont observés pour les polymyxines, les aminoglycosides et les sulfamidés. Parmis les souches bactériennes qui montraient des statuts résistants ou intermédiaires au plus grand nombre d'antibiotiques on retrouve *Morganella morganii* (62,3 % de résistance aux antibiotiques testés en moyenne) puis *Citrobacter spp.* (54,2% en moyenne) puis *Proteus spp.*

(45% en moyenne). Le plus haut pourcentage de multi résistances a été observé chez *Morganella morganii* (61,5%) et *Citrobacter spp.* (41,9%) dont 2 souches multi résistantes de *Citrobacter freundii* qui étaient aussi productrices d'ESBL (Extended spectrum Beta-lactamase). (Pace et al., 2019)

La présence d'*Enterobacteriaceae* chez ces tortues a pu être mise en relation avec la pollution de la zone de capture des tortues, en effet, la prévalence de cette famille de bactérie était supérieure dans la zone où la qualité de l'eau était moindre (golfe de Naples) à cause de l'extension de l'activité humaine, de la pollution, etc,... (Pace et al., 2019)

On retrouve également pareilles observations dans d'autres zones géographiques du monde, au Brésil, des *Enterobacteriaceae* multi-résistants ont également été retrouvées chez une tortue verte (*Chelonia mydas*) présentant notamment de l'arthrite. Deux souches de bactéries ont pu être isolées des articulations de l'animal (*Citrobacter freundii* et *Enterobacter hormaechei*) et un profil de multi-résistance a été mis en évidence sur ces deux souches (résistances envers l'amikacine, l'ampicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, le ceftazidime, le ceftriaxone, le cefotaxime, le ceftiofur, la cefoxitine, la ciprofloxacine, le chloramphénicol, l'enrofloxacine, la gentamicine, l'acide nalidixique et la tétracycline). Le gène *bla-CTX-M-15* (ESBL) a également été retrouvé chez ces 2 souches. (Goldberg et al., 2019)

Des *Enterobacteriaceae* (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli*) porteuses du gène CTX-M-15 ont également été retrouvées chez des geckos (*Hemidactylus brooki*) dans un hôpital au Ghana porteuses du gène (ESBL). Des relations étroites au niveau génomique et des plasmides de résistance similaires ont été mis en évidence entre ces bactéries, des bactéries humaines et des bactéries provenant de poulets, suggérant une transmission possible de bactéries résistantes et de plasmides entre ces populations. (Eibach et al., 2019) Cela montre que l'impact humain sur les écosystèmes peut permettre le passage de bactéries multi-résistantes dans la faune sauvage ce qui peut mener à la mort de ces animaux et à la dissémination de ces résistances, en particulier dans le milieu marin. (Eibach et al., 2019 ; Goldberg et al., 2019 ; Pace et al., 2019)

8. Partie expérimentale : évaluation du profil de résistance d'*Escherichia coli* isolées de reptiles en Belgique.

8.1 Objectif

Cette étude a pour but de mettre en évidence le profil de résistance à différentes familles d'antibiotiques chez des souches *d'Escherichia coli* prélevées sur différents reptiles à la faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège en 2009 et de comparer les résultats obtenus avec ceux d'autres études analysées auparavant sur différentes bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* prélevées chez des reptiles.

8.2 Matériel et Méthode

8.2.1 Effectif étudié

Les recherches *d'Escherichia coli* résistantes ont été menées sur une population de 65 reptiles prélevés à la faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Liège en 2009. Parmi les 65 animaux prélevés, 49 animaux étaient des serpents de diverses espèces, comprenant des colubridés ainsi que des boïdés et 16 des 65 animaux étaient des lézards de différentes espèces. Des échantillons de matières fécales ont été prélevés via écouvillons cloacaux chez ces animaux et ceux-ci ont étéensemencés sur des géloses de McConkey qui est un milieu sélectif pour les bacilles Gram- non exigeantes.

Les bactéries capables de fermenter le lactose vont donner des colonies roses (cas *d'E. coli*) tandis que celles qui ne le peuvent pas vont donner des colonies jaunes. Après incubation à 37°C, les souches correspondantes à des colonies *d'Escherichia coli* ont été prélevées et congelées, 5 souches *d'Escherichia coli* présumées ont été collectées par animal prélevé.

8.2.2 Ensemencement des souches sur un milieu sélectif pour *Escherichia coli*

Une souche par animal a été sélectionnée pour êtreensemencée sur une gélose chromocult coliform agar ES (enhanced selectivity) afin de mettre en évidence les colonies *d'E. coli*. Chaque souche est décongelée à température ambiante et étalée sur la gélose sélective, lesensemencements des différentes souches sont placés à l'étuve à 37°C pendant une nuit. La sélection des colonies *d'E. coli* se fait par discrimination des colonies au niveau de la couleur, les colonies *d'E. coli* apparaissant bleu à bleu foncé tandis que les coliformes apparaissent en

rose. Certaines colonies obtenues étaient de couleur jaune (*Pseudomonas*) ou orange (*Proteus*), celles-ci étant des contaminants de notre souche ensemencée.



E. coli ATCC 11775



Citrobacter freundii ATCC 8090

Dans certains cas l'ensemencement de l'échantillon n'a pas permis de mettre en évidence la présence de colonies d'*E. coli*, ce qui a mené à la mise sur gélose des 4 autres échantillons provenant du même animal auquel appartenait la souche revenue négative à la présence d'*E. coli*.

8.2.3 Réalisation des antibiogrammes

Une colonie d'*Escherichia coli* est sélectionnée par boîte et dispersée dans un tube contenant 6 ml d'eau physiologique stérile (0,9% de NaCl). Un écouvillon stérile est utilisé pour prélever les *E. coli* en suspension dans le liquide et ensuite 3 étalements serrés (un horizontal, un vertical et un transverse) sont réalisés sur une gélose Mueller-Hinton agar (gélose qui permet la détection de la sensibilité de pathogènes aux antibiotiques via test par diffusion). Les disques d'antibiotiques sont ensuite déposés sur la gélose via un dispenseur, ceux-ci sont strictement dans le même ordre dans chaque boîte.

Les antibiotiques testés sont la colistine (50µg), la ciprofloxacine (5µg), la céfoxidine (30µg), l'amoxicilline (20µg), l'amoxicilline + Acide clavulanique (20 + 10 µg), le céfuroxime (30µg), le céfotaxime (30µg), le céfotaxime + acide clavulanique (30 + 10µg), la gentamicine (30µg), le cefquinome (30µg), le triméthoprime-sulfamethoxazole (1,25 + 23,75 µg), le chloramphénicol (30µg), l'azithromycine (15µg), l'enrofloxacine (5µg), le méropénème (10µg) et la tétracycline (30µg). Les disques d'antibiotiques proviennent de la firme « i2a » basée à Montpellier. Les référentiels suivis pour l'analyse des résultats sont le CA SFM et le CA SFM-VET 2020. (www.sfm-microbiologie.org)

Ils ont été sélectionnés d'une part pour tester la sensibilité d'*E. coli* à différentes sortes de bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines de différentes générations, carbapénèmes) et d'autres parts pour tester la sensibilité de cette bactérie à d'autres classes d'antibiotiques: les

tétracyclines, les polymyxines (colistine), les fluoroquinolones (enrofloxacine et ciprofloxacine, les phénicolés (chloramphénicol), les aminoglycosides (gentamicine), les macrolides (azithromycine) et le triméthoprime-sulfamethoxazole (association entre le sulfaméthoxazole, de la famille des sulfamides, et le triméthoprime, de la famille des diaminopyrimidines) dont certains étant utilisés couramment chez les reptiles en médecine vétérinaire comme l'enrofloxacine, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la gentamicine, le chloramphénicol. (Gérard et al., 2009 ; Clancy et al., 2016)

Les résultats obtenus permettront une comparaison avec la littérature via ce qui a été décrit dans diverses études analysées dans la première partie du travail. Les géloses sont mises à l'étuve à 37°C pendant une nuit et analysées le lendemain à l'aide du SIRSCAN pour la mesure des différents diamètres d'inhibition, ces diamètres d'inhibition seront comparés aux valeurs décrites pour chaque antibiotique testé dans la littérature afin de pouvoir donner un statut soit sensible, soit intermédiaire, soit résistant à la souche de bactérie.

8.3 Résultats

Tableau V : Sensibilité des souches d'*E. coli* aux différents antibiotiques compris dans l'étude

Molécule	COL	CIP	FOX	AMO	CXM	AMC	COX	CCO	GEN	CFQ	TSU	CHL	AZM	ENR	MEM	TET
Resistant	0	4	4	12	0	2	0	0	0	0	5	3	0	4	0	8
Intermediaire	0	3	1	3	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Sensible	44	43	45	35	50	28	50	50	50	50	45	47	50	46	50	41
Total	44	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
% R	0	8	8	24	0	4	0	0	0	0	10	6	0	8	0	16
% I	0	6	2	6	0	40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
% S	100	86	90	70	100	56	100	100	100	100	90	94	100	92	100	82

COL : colistine ; CIP : ciprofloxacine ; FOX : céfoxitine ; AMO : amoxicilline ; CXM : céfuroxime ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; COX : céfotaxime ; CCO : céfotaxime + acide clavulanique ; GEN : gentamicine ; CFQ : cefquinome ; TSU : triméthoprime-sulfaméthoxazole ; CHL : chloramphénicol ; AZM : azithromycine ; ENR : enrofloxacine ; MEM : méropénème ; TET : tétracycline

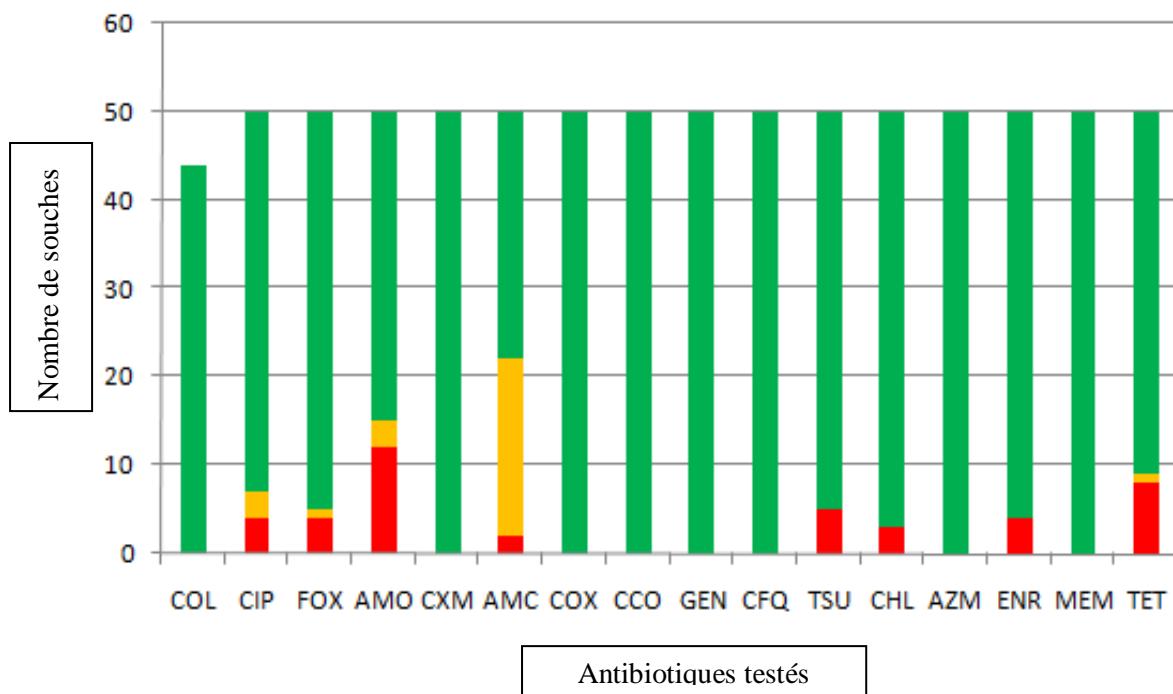


Fig.2. Représentation de la proportion de souches sensibles, intermédiaires et résistantes pour chaque antibiotique. Les souches sont classées selon trois catégories de couleurs pour chaque antibiotique. Vert= sensible. Jaune = intermédiaire. Rouge= résistant. Les différentes abréviations utilisées en abscisse pour les antibiotiques sont les mêmes que dans le tableau 8.

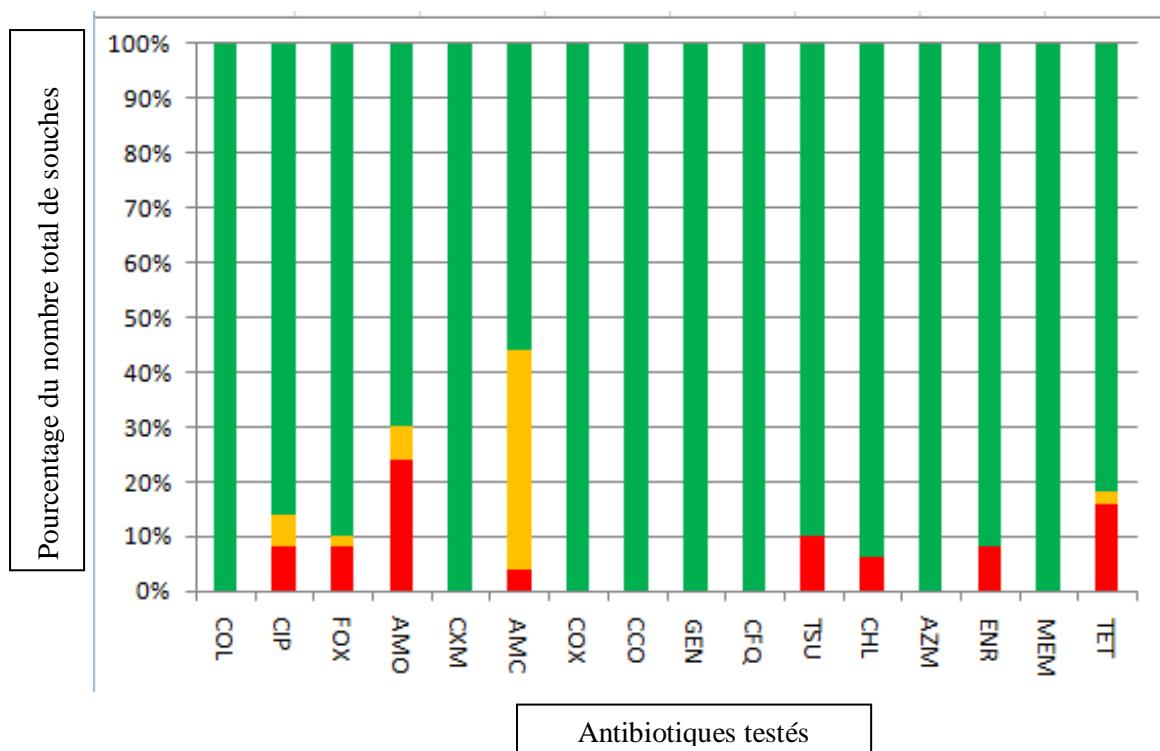


Fig.3. Représentation du statut de sensibilité des souches en pourcentage pour chaque antibiotique testé. Les souches sont classées selon trois catégories de couleurs pour chaque

antibiotique. Vert= sensible. Jaune = intermédiaire. Rouge= résistant. Les différentes abréviations utilisées en abscisse pour les antibiotiques sont les mêmes que dans le tableau 8.

La présence d'*E. coli* a été mise en évidence chez 50 animaux sur les 65 testés comprenant 50 serpents et 15 lézards, parmi ceux-ci 39 des serpents étaient porteurs d'*Escherichia coli* soit 78% des serpents compris dans l'étude alors que 11 lézards étaient porteurs d'*Escherichia coli* soit 73% des 15 lézards compris dans l'étude. Les 50 souches sont sensibles à l'azithromycine, au méropénème, à la gentamicine, au cefquinome, au céfotaxime et au céfotaxime + acide clavulanique. (Voir figure 2 et 3) Pour la colistine, 44 souches sont comptabilisées comme sensibles car chez *Escherichia coli*, les souches qui ont obtenus les valeurs de 15, 16 et 17 mm sont jugés ininterprétables (diamètres critiques étant < 15 et > ou = à 18 mm). Il serait nécessaire d'avoir recours à la mesure de la concentration minimale inhibitrice en milieu liquide pour pouvoir avoir des données interprétables pour ces 6 souches. (Voir tableau V) Des taux de résistances ont été obtenus pour l'amoxicilline (24%), la tétracycline (16%), le triméthoprime-sulfaméthoxazole (10%), la ciprofloxacine (8%), l'enrofloxacine (8%), la céfoxitine (8%), le chloramphénicol (6%) et l'amoxicilline + acide clavulanique (4%). (Voir figure 3) Certaines souches ont mis en évidence des résultats intermédiaires pour certains antibiotiques : l'amoxicilline + acide clavulanique (40%), la ciprofloxacine (6%), l'amoxicilline (6%), la tétracycline (2%) et la céfoxitine (2%). (Voir figure 3) D'après les résultats de sensibilités obtenus, aucune des souches ne présente de BLSE étant donné que l'on a une sensibilité de 100 % pour le cefquinome, le céfotaxime et pour le céfotaxime + acide clavulanique.

Douze antibiogrammes des 50 animaux mettent en évidence des résistances, parmi ceux-ci, 4 sont des lézards (3 *Pogona vitticeps* et 1 *Iguana Iguana*) et 8 sont des serpents (1 *Corallus hortulanus*, 1 *Liasis olivaceus*, 2 *Python molurus*, 1 *Boa constrictor*, 1 *Pantherophis obsoletus*, 1 *Orthriophis taeniuria friesei*, 1 *Lampropeltis getulus nigritus*), ce qui veut dire que 36 % des isolats d'*Escherichia coli* des lézards testés sont porteurs de résistances alors que 21 % des isolats d'*Escherichia coli* des serpents testés sont porteurs de résistances. Quatre isolats sont porteurs de 5 résistances, pour 2 d'entre eux, ils sont résistants à l'enrofloxacine, à la ciprofloxacine, à l'amoxicilline, à la tétracycline et au triméthoprime-sulfaméthoxazole et pour les 2 autres, à l'enrofloxacine, à la ciprofloxacine, à l'amoxicilline, au chloramphénicol et à la tétracycline.

Six isolats sont résistants à 3 antibiotiques, les 6 isolats sont résistants à l'amoxicilline, 3 sont résistants au triméthoprime-sulfaméthoxazole, 3 sont résistants à la tétracycline, 3 sont résistants à la céfoxidine, 2 sont résistants à l'amoxicilline + acide clavulanique et 1 isolat est résistant au chloramphénicol. Un isolat est résistant seulement à l'amoxicilline tandis qu'un autre est résistant à l'amoxicilline et à la tétracycline. Trois des 6 isolats pour lesquels le diamètre d'inhibition à la colistine ne permet pas une interprétation sont associés à d'autres résistances chez cet isolat.

9. Discussion générale

Il a été possible de mettre en évidence la présence *d'Escherichia coli* chez 50 animaux sur les 65 animaux testés (77% des animaux) et sur ces 50 souches, des résistances ont été mises en évidence chez 12 d'entre elles ce qui représente 24% du nombre d'isolats. Parmi les 65 animaux à la base (50 serpents et 15 lézards), le pourcentage d'isolation de souches *d'E. coli* parmi le groupe des serpents (78%) a été supérieur par rapport au groupe des lézards (73%), ce qui tend à rejoindre les conclusions d'autres études chez lesquelles les reptiles carnivores tel que les serpents présentaient un taux d'isolation *d'Enterobacteriaceae* supérieur. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Whitten et al., 2015 ; Ramos et al., 2019) Les souches testées étaient toutes sensibles à l'azithromycine, au méropénème, à la gentamicine, au cefquinome, au céfotaxime et au céfotaxime + acide clavulanique. L'azithromycine est un antibiotique de la famille des macrolides, il est étonnant de voir que 100% des souches *d'Escherichia coli* soit revenues comme sensibles étant donné que les entérobactéries sont normalement résistantes à cette famille d'antibiotique. Dans la majeure partie des cas, Les souches résistantes étaient résistantes à plusieurs antibiotiques à la fois, en particulier, 4 souches qui présentaient des résistances à 5 antibiotiques en même temps alors que 6 autres étaient résistantes à 3 antibiotiques. On remarque aussi que toutes les souches qui sont résistantes le sont pour l'amoxicilline, en effet, c'est la molécule qui a présenté le plus grand taux de résistance dans cette étude, par contre les autres bêta-lactamines ont rencontré un taux de sensibilité satisfaisant et seules 2 autres bêta-lactamines ont mis en évidence des résistances (résistances chez 8% des isolats pour céfoxidine et 4% pour amoxicilline + acide clavulanique), parmi les autres familles, on remarque que les plus haut taux de résistances, après l'amoxicilline, sont obtenus pour la tétracycline (16%), le triméthoprime-sulfaméthoxazole (10%), la ciprofloxacine (8%), l'enrofloxacine (8%).

En médecine vétérinaire, les antibiotiques les plus utilisés chez les reptiles sont : le ceftazidime, l'amikacine, l'enrofloxacine, la carbénicilline, le chloramphénicol, la ciprofloxacine, la gentamicine, le métronidazole, la pipéracilline, le triméthoprime-sulfaméthoxazole et la tylosine, les résultats obtenus nous démontrent donc que certaines souches sont résistantes à des molécules utilisées couramment pour le traitement de pathologies chez les reptiles notamment le triméthoprime-sulfaméthoxazole (10% de résistances), les quinolones : enrofloxacine (8%) et ciprofloxacine (8% de souches résistantes + 6% d'intermédiaires) et également le chloramphénicol qui rencontre 6% de souches résistantes dans cette étude alors que la gentamicine est sensible chez 100% des souches testées dans cette étude. (Gérard et al., 2009 ; Clancy et al., 2016) Six souches ont obtenu des résultats nébuleux au test de sensibilité pour la colistine alors que les 44 autres sont sensibles à cet antibiotique, il faudrait déterminer la CMI chez ces souches en milieu liquide (qui est le test de référence pour la colistine) afin de connaître le statut de sensibilité de celles-ci et si les résultats sont suggestifs d'une résistance à cet antibiotique, il pourrait être intéressant d'essayer d'identifier un gène de résistance (*mcr*) chez ces souches. Le profil de sensibilité aux antibiotiques testés ne permet pas de démontrer de BLSE chez les souches reprises dans cette étude, en effet, selon le statut de sensibilité à différentes bêta-lactamines il est possible de suspecter qu'une souche soit porteuse de gène BLSE mais ici, on observe un pourcentage de sensibilité de 100% pour le cefquinome et le céfotaxime alors que pour suspecter un profil de BLSE il aurait fallu obtenir des résistances à ces antibiotiques.

En comparaison avec les autres études abordées plus haut, la prévalence d'*E. coli* chez les reptiles de cette étude semble être dans certains cas assez proche de ce qui a été démontré mais plus fréquente dans d'autre cas. (Hacioglu et al., 2014 ; Ramos et al., 2019) Les antibiotiques les plus souvent confrontés à des résistances, dans les autres études, étaient différentes bêta-lactamines, le triméthoprime-sulfaméthoxazole, la tétracycline, le chloramphénicol et différentes quinolones (ciprofloxacine, enrofloxacine, marbofloxacine) ce qui est relativement comparable avec le profil de sensibilité rencontré chez les souches résistantes venant des reptiles prélevés en Belgique. (Waturangi et al., 2003 ; Hacioglu et al., 2014 ; Unger et al., 2016 ; Eibach et al., 2019) La gentamicine était l'antibiotique avec le meilleur taux de sensibilité dans les résultats d'une étude en particulier ce qui correspond aux résultats obtenus ici où 100 % des souches étaient sensibles à la gentamicine malgré cela d'autres études ont démontré des souches résistantes à cet antibiotique ou à d'autres antibiotiques de cette famille. (Waturangi et al., 2003 ;Unger et al., 2016 ; Ramos et al., 2019)

On remarque que les reptiles sont souvent porteurs de *Salmonella* sp. bien que les pourcentages d'isolation entre études différent parfois du fait de l'excrétion intermittente de cette bactérie, ceux-ci pouvant être également porteurs de *Salmonella enterica enterica*, traditionnellement rencontrée chez les mammifères, en plus des autres sous-espèces plus typiques des reptiles. On remarque des résultats différents au niveau de la sensibilité des bactéries du genre *Salmonella* parmi les différentes études, malgré cela de nombreuses souches résistantes sont mises en évidence y compris aux fluoroquinolones et différents gènes de résistance ont également été mis en évidence chez des bactéries du genre *Salmonella*. (Seepersadsingh et Adesiyun, 2003 ; Barbour et al., 2007 ; Guerra et al., 2010 ; Maciel et al., 2010 ; Smith et al, 2012 ; Bertelloni et al., 2016 ; Clancy et al., 2016 ; Ramos et al., 2019) De plus, on observe une augmentation des cas de salmonelloses associées aux reptiles dans différents pays du monde. (Smith et al, 2012 ; Whitten et al., 2015 ; Mughini-Gras et al., 2016)

On remarque également une apparition de bactéries multi résistantes chez d'autres genres d'*Enterobacteriaceae* notamment chez le genre *Klebsiella* où des résistances à certaines bêta-lactamines ont été mises en évidence (ampicilline, céfalotine) et à d'autres familles d'antibiotiques comme chez les quinolones (acide nalidixique et ciprofloxacin), à la tétracycline, au triméthoprime-sulfaméthoxazole ce profil étant relativement similaire aux résultats obtenus chez les 50 isolats d'*Escherichia coli* de reptiles précédemment analysés. (Hossain et al., 2020)

Dans famille des *Morganellaceae*, on a pu démontrer une bonne sensibilité aux quinolones et aux macrolides alors qu'au contraire, de hauts taux de résistance ont été obtenus pour le nitrofurane (87%) , les bêta-lactamines (81,25%), les tétracyclines (56,25%) et les aminoglycosides (39,06%).(Pathirana et al., 2018 ; Wimalasena et al., 2019)

On peut remarquer également que même parmi les espèces sauvages prélevées en milieu naturel, il est possible de retrouver des résistances aux antibiotiques chez les bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* alors que ces animaux ne sont, à priori, pas en contact avec des antibiotiques. Ceci pourrait être expliqué par l'impact qu'à l'homme sur l'écosystème via rejet de déchets divers (déchets hospitaliers, eaux souillées, etc,...) dans l'environnement. (Eibach et al., 2019 ; Goldberg et al., 2019 ; Pace et al., 2019)

Les recherches effectuées ont permis de mettre en évidence que, d'une part, les reptiles sont porteurs de bactéries potentiellement pathogènes pour l'homme dont l'incidence des

pathologies issues de celles-ci chez l'homme a tendance à augmenter en particulier pour la salmonellose. D'autre part, des résistances aux antibiotiques sont également mises en évidence à travers le monde chez des *Enterobacteriaceae* isolées de reptiles sauvages ou captifs. Les résultats des antibiogrammes effectués dans la partie pratique de ce travail sont relativement rassurants par rapport à certains résultats obtenus dans d'autres études. Les souches sont globalement sensibles aux antibiotiques testés, des résistances sont observées pour 8 antibiotiques mais les pourcentages de souches résistantes sont assez faibles, les plus élevés étant obtenus pour l'amoxicilline (24%), la tétracycline (16%) et le triméthoprime-sulfaméthoxazole (10%). Les souches ayant été prélevées en 2009, il serait intéressant de comparer ces observations avec des résultats provenant d'*E. coli* isolées plus récemment chez des reptiles en Belgique.

Bibliographie:

Articles scientifiques :

- 1) Adeolu, M., Alnajar, S., Naushad, S., & Gupta, R. S. (2016). Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(12), 5575-5599.
- 2) Barbour, E. K., Chacra, N. A., Gali-Mouhtaseb, H., Jaber, L., Nehme, P., Shaib, H., ... & Usayran, U. (2007). Performance, bacterial shedding and microbial drug resistance in two tortoise species. *The Veterinary Record*, 161(2), 62.
- 3) Bertelloni, F., Chemaly, M., Cerri, D., Gall, F. L., & Ebani, V. V. (2016). Salmonella infection in healthy pet reptiles: Bacteriological isolation and study of some pathogenic characters. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 63(2), 203-216.
- 4) Clancy, M. M., Davis, M., Valitutto, M. T., Nelson, K., & Sykes IV, J. M. (2016). Salmonella infection and carriage in reptiles in a zoological collection. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 248(9), 1050-1059.
- 5) Díaz, M. A., Cooper, R. K., Cloeckaert, A., & Siebeling, R. J. (2006). Plasmid-mediated high-level gentamicin resistance among enteric bacteria isolated from pet turtles in Louisiana. *Applied and environmental microbiology*, 72(1), 306-312.
- 6) Eibach, D., Nagel, M., Lorenzen, S., Hogan, B., Campos, C. B., Aepfelbacher, M., ... & May, J. (2019). Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae among geckos (*Hemidactylus brookii*) in a Ghanaian hospital. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(8), 1048-1050.
- 7) Goldberg, D. W., Fernandes, M. R., Sellera, F. P., Costa, D. G., Loureiro Bracarense, A. P., & Lincopan, N. (2019). Genetic background of CTX-M-15-producing *Enterobacter hormaechei* ST114 and *Citrobacter freundii* ST265 co-infecting a free-living green turtle (*Chelonia mydas*). *Zoonoses and public health*, 66(5), 540-545.
- 8) Guerra, B., Helmuth, R., Thomas, K., Beutlich, J., Jahn, S., & Schroeter, A. (2010). Plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Salmonella* spp. isolates from reptiles in Germany. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(9), 2043-2045.

- 9) Hacioglu, N., & Tosunoglu, M. (2014). Determination of antimicrobial and heavy metal resistance profiles of some bacteria isolated from aquatic amphibian and reptile species. *Environmental monitoring and assessment*, 186(1), 407-413.
- 10) Hossain, S., De Silva, B. C. J., Dahanayake, P. S., & Heo, G. J. (2020). Phylogenetic relationships, virulence and antimicrobial resistance properties of Klebsiella sp. isolated from pet turtles in Korea. *Letters in applied microbiology*, 70(2), 71-78.
- 11) Maciel, B. M., Argôlo Filho, R. C., Nogueira, S. S. C., Dias, J. C. T., & Rezende, R. P. (2010). High prevalence of Salmonella in tegu lizards (*Tupinambis merianae*), and susceptibility of the serotypes to antibiotics. *Zoonoses and public health*, 57(7-8), e26-e32.
- 12) Mariani-Kurkdjian, P., Doit, C., & Bingen, E. (2012). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu en pédiatrie. *Archives de pédiatrie*, 19, S93-S96.
- 13) Mughini-Gras, L., Heck, M., & van Pelt, W. (2016). Increase in reptile-associated human salmonellosis and shift toward adulthood in the age groups at risk, the Netherlands, 1985 to 2014. *Eurosurveillance*, 21(34), 30324.
- 14) Pace, A., Dipineto, L., Fioretti, A., & Hochscheid, S. (2019). Loggerhead sea turtles as sentinels in the western mediterranean: Antibiotic resistance and environment-related modifications of gram-negative bacteria. *Marine pollution bulletin*, 149, 110575.
- 15) Park, S. H., Kim, H. J., Cho, W. H., Kim, J. H., Oh, M. H., Kim, S. H., ... & Kim, H. Y. (2009). Identification of *Salmonella enterica* subspecies I, *Salmonella enterica* serovars Typhimurium, Enteritidis and Typhi using multiplex PCR. *FEMS microbiology letters*, 301(1), 137-146.
- 16) Pathirana, H. N. K. S., Shin, G. W., Wimalasena, S. H. M. P., Hossain, S., De Silva, B. C. J., Dahanayake, P. S., & Heo, G. J. (2018). Incidence of antibiogram, antibiotic resistance genes and class 1 and 2 integrons in tribe Proteaceae with IMP 27 gene for the first time in *Providencia* sp. isolated from pet turtles. *Letters in applied microbiology*, 67(6), 620-627.
- 17) Philippon, A., & Arlet, G. (2012). Entérobactéries et bêta-lactamines: phénotypes de résistance naturelle. *Pathologie Biologie*, 60(2), 112-126.
- 18) Ramos, C. P., Santana, J. A., Morcatti Coura, F., Xavier, R. G. C., Leal, C. A. G., Oliveira Junior, C. A., ... & Silva, R. O. S. (2019). Identification and characterization of *escherichia coli*, *salmonella* spp., *clostridium perfringens*, and *c. difficile* isolates from reptiles in brazil. *BioMed research international*, 2019.

- 19) Seepersadsingh, N., & Adesiyun, A. A. (2003). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. in pet mammals, reptiles, fish aquarium water, and birds in Trinidad. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(10), 488-493.
- 20) Smith, K. F., Yabsley, M. J., Sanchez, S., Casey, C. L., Behrens, M. D., & Hernandez, S. M. (2012). *Salmonella* isolates from wild-caught Tokay geckos (*Gekko gecko*) imported to the US from Indonesia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(7), 575-582.
- 21) Unger, F., Eisenberg, T., Prenger-Berninghoff, E., Leidner, U., Ludwig, M. L., Rothe, M., ... & Ewers, C. (2016). Imported reptiles as a risk factor for the global distribution of *Escherichia coli* harbouring the colistin resistance gene mcr-1. *International journal of antimicrobial agents*, 49(1), 122-123.
- 22) Waturangi, D. E., Schwarz, S., Suwanto, A., Kehrenberg, C., & Erdelen, W. (2003). Identification of a Truncated Tn1721-like Transposon Located on a Small Plasmid of *Escherichia coli* Isolated from *Varanus indicus*. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 50(2), 86-89.
- 23) Whitten, T., Bender, J. B., Smith, K., Leano, F., & Scheftel, J. (2015). Reptile-associated salmonellosis in Minnesota, 1996–2011. *Zoonoses and public health*, 62(3), 199-208.
- 24) Wimalasena, S. H. M. P., Pathirana, H. N. K. S., Shin, G. W., De Silva, B. C. J., Hossain, S., & Heo, G. J. (2019). Characterization of Quinolone-Resistant Determinants in Tribe Proteeae Isolated from Pet Turtles with High Prevalence of qnrD and Novel gyrB Mutations. *Microbial Drug Resistance*, 25(4), 611-618.

Livre :

- 1) Gérard, P., Hussard, N., Rosselle, S., Savarin, P., Schilliger, L. (2009). *Atlas de la terrariophilie : Vol.1. Les serpents*. Animalia Editions.

Sites internet :

- 1) Médecine Sorbonne Université. ; s.d. Chapitre 7- Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants.
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.1.2.html>, consulté le 15 mars 2021
- 2) Cours de microbiologie médicale ; s.d. Les entérobactéries.<http://www.microbes-edu.org/etudiant/entero.html>, consulté le 15 mars 2021

- 3) Université Grenoble Alpes ; 2021. Caspar. Y. Les résistances des bactéries Gram négatif.
<https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/du/grenoble/dutai-grenoble-2019-2020-ycaspar-resistance-bgn.pdf> consulté le 15 mars
- 4) Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ; (2020). Recommandations 2020 V1.2. Octobre
https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/10/CASF2020_Octobre2020_V1.2.pdf consulté le 5 Avril 2021
- 5) Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie ; (2020). Recommandations Vétérinaires 2020
https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/09/CASF2020_VET2020.pdf, consulté le 5 avril 2021 31