



Caractérisation des mécanismes de résistance aux antibiotiques et des gènes de virulence chez *Escherichia coli* isolées des lapereaux sains et malades en Tunisie

Ben Rhouma Raouia

Laboratoire d'épidémiologie et de microbiologie vétérinaire à l'Institut Pasteur de Tunis

1

Introduction



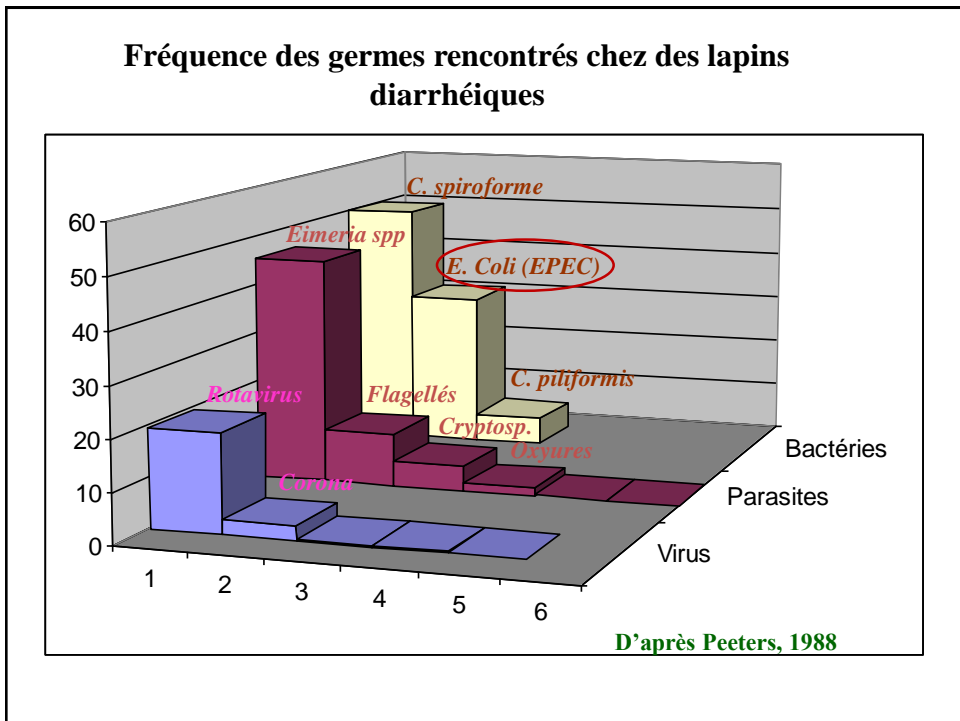
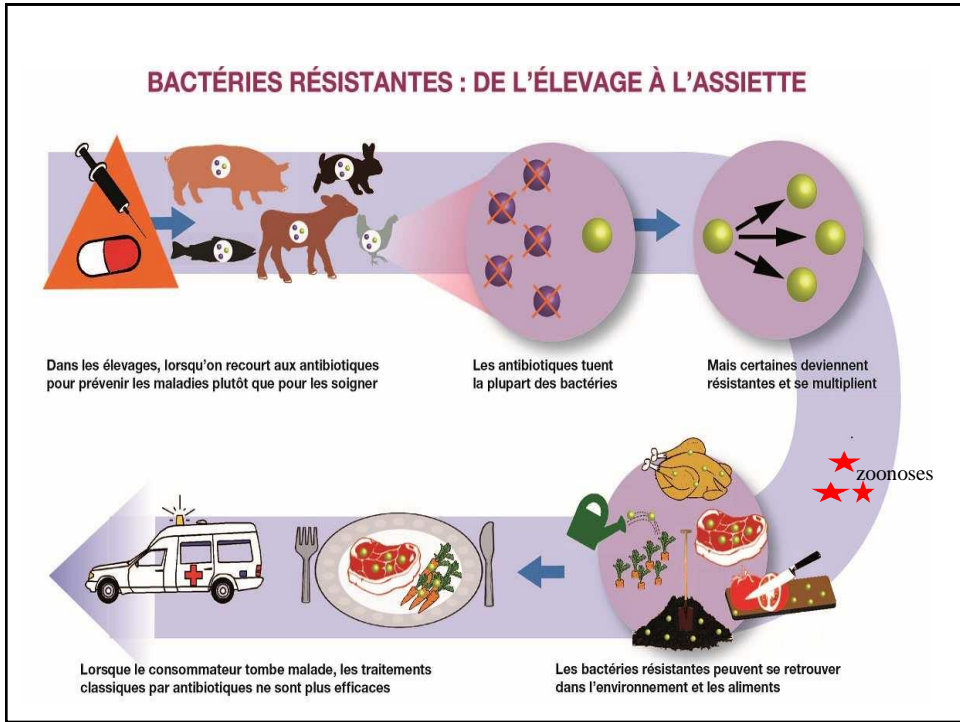
L'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire est deux fois plus importante qu'en médecine humaine,

- L'usage massif des antibiotiques dans les élevages:
 - thérapeutique
 - prophylactique
 - prophylaxique



L'antibiorésistance chez les bactéries

- Les volailles, les cochons, les lapins et les veaux sont les plus gros consommateurs d'antibiotiques, en particulier avant le sevrage.



Les objectifs

- L'isolement et caractérisation des *E. coli* chez des lapins sains et malades
- La caractérisation des mécanismes de résistance aux antibiotiques et l'émergence des intégrons
- L'étude des facteurs de virulence

Prélèvement de mucus rectal



1^{er} échantillonnage : des lapereaux malades (INAT)

(10)

2^{ème} échantillonnage : des lapereaux sains (Slimen)

(10)

3^{ème} échantillonnage : des lapereaux sains (Sfax)

(30)

4^{ème} échantillonnage : des lapereaux malades (Monastir)

(10)

Protocole d'isolement d'E. coli

Enrichissement dans l'eau peptoné temponé



Incubation à 37°C pendant 24h



Suspension dans l'eau physiologique et ensemencement sur Mac conkey



Repiquages sur BHI: purification de souche

Identification morphologique et biochimique d'E. coli

Les 40 souches d'*E. coli*

Gram-
Oxydase +
Catalase +
Urée -
indol+
Glucose +
Lactose +
H2S-
Gaz+
Citrate-

Identification moléculaire d'*E. coli*

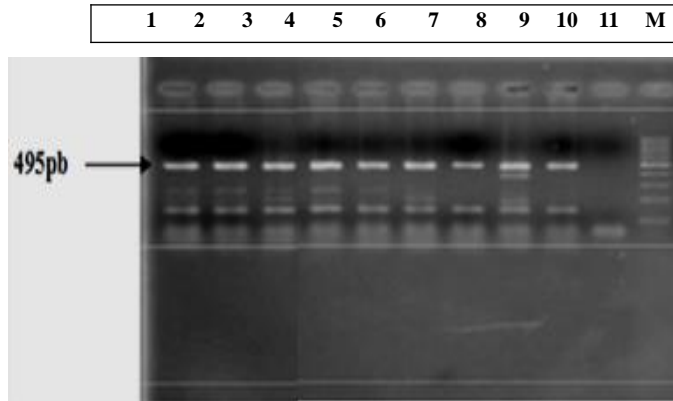


Figure 1 Observation sous UV du produit PCR du gène *uidA* après migration électrophorétique, puits 12 : un marqueur de taille (100pb), puits 10 : témoin positif, puits 11 : témoin négatif, les puits de 1 – 9 : souches à analyser



Identification de 40 souches possédant le gène *uidA* de taille 495 pb

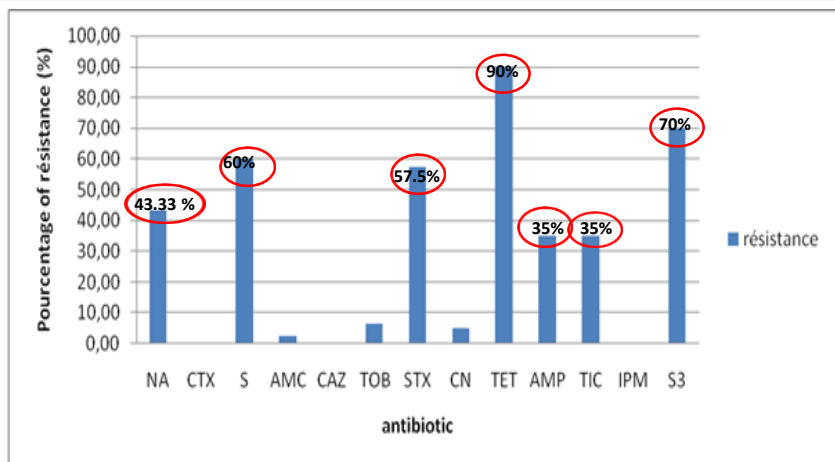


Figure 2. Répartition de pourcentage de résistance d'*E. coli* aux différentes classes d'antibiotiques : NA: acide Nalidixique, CTX: Céfotaxime, S: Streptomycine, AMP: Amoxicilline/acide clavulanique, CAZ: Ceftazidime, TOB: Tobramycine, STX: Sulfamethoxazole/trimethoprim, CN: Gentamicine, TET: Tetracycline, AMP: Ampicilline, TIC: Ticarcilline, IMP: Imipineme, S3: sulfamide

Tableau 1. Les phénotypes de résistance (malade)

Souches	Origine	Etat sanitaire	Phenotype de resistance
EC1	Monastir	Malade	[NA,S,SXT,TET,AMP,SUL]
EC2	Monastir	Malade	[NA,S,SXT,TET,SUL]
EC3	Monastir	Malade	[SXT, TET]
EC4	Monastir	Malade	[NA,S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC5	Monastir	Malade	[NA,S,SXT,TET,SUL]
EC6	Monastir	Malade	[NA,S,SXT,TET,SUL]
EC7	Monastir	Malade	[S,TET,AMP,TIC,SUL]
EC8	Monastir	Malade	[SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC9	Monastir	Malade	[S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC30	Tunis	Malade	[S, SXT, TET, SUL]
EC31	Tunis	Malade	[AMC]
EC32	Tunis	Malade	[TET]
EC33	Tunis	Malade	[S, SXT, TET, SUL]
EC34	Tunis	Malade	[S, SXT, TET, SUL]
EC35	Tunis	Malade	[S, SXT, TET, SUL]
EC36	Tunis	Malade	[NA,S,SXT,TET,SUL]
EC37	Tunis	Malade	[SXT,TET]
EC38	Tunis	Malade	[TET]

Tableau 2. Les phénotypes de résistance (sain)

Souches	Origine	Etat sanitaire	Phénotype de résistance
EC39	Nabeul	Sain	[TET, AMP, TIC]
EC40	nabeul	Sain	[TET]
EC10	Sfax	Sain	[NA,S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC11	Sfax	Sain	[NA,S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC12	Sfax	Sain	[S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC13	Sfax	Sain	[NA,S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC14	Sfax	Sain	[S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC15	Sfax	Sain	[NA,S,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC16	Sfax	Sain	[NA,S,TOB,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC17	Sfax	Sain	[S,TET,AMP,TIC,SUL]
EC18	Sfax	Sain	[NA,TET,SUL]
EC19	Sfax	Sain	[TET,SUL]
EC20	Sfax	Sain	[S, TET, SUL]
EC21	Sfax	Sain	[TET]
EC22	Sfax	Sain	[NA,S,TOB,SXT,TET,AMP,TIC,SUL]
EC23	Sfax	Sain	[CN]
EC24	Sfax	Sain	[S, TET, SUL]
EC25	Sfax	Sain	[S, SXT, TET, SUL]
EC26	Sfax	Sain	[TET]
EC27	Sfax	Sain	[S, TET, SUL]
EC28	Sfax	Sain	[TET, SUL]
EC29	Sfax	Sain	[TET]

Tableau 3. Caractérisation des gènes de résistance et des intégrons (malade)

Souche	Origine	Clapier	Etat sanitaire	Gene de Resistance	Class 1 integron	
					Int1/qac-sul1	Gènes cassettes
EC1	Monastir	F1	Malade	<i>tet A, blatem-1b</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC2	Monastir	F1	Malade	<i>tet B</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC3	Monastir	F1	Malade	<i>tet A</i>	-/-	
EC4	Monastir	F1	Malade	<i>tet A- blatem-1b, qnrB</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA1</i>
EC5	Monastir	F1	Malade	<i>tet B</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC6	Monastir	F1	Malade	<i>tet A, qnrB</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC7	Monastir	F1	Malade	<i>tetB- blatem-1b, sul1, sul2</i>	-/-	
EC8	Monastir	F1	Malade	<i>tetB- blatem-1b, sul2</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC9	Monastir	F1	Malade	<i>tetA- blatem-1b, sul2</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA1</i>
EC30	Tunis	F2	Malade	<i>tetA, sul1, sul2</i>	-/-	
EC31	Tunis	F2	Malade	-	-/-	
EC32	Tunis	F2	Malade	<i>tetB</i>	-/-	
EC33	Tunis	F2	Malade	<i>tetB</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA1</i>
EC34	Tunis	F2	Malade	<i>tetA</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA1</i>
EC35	Tunis	F2	Malade	<i>tetA</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC36	Tunis	F2	Malade	<i>tetB</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC37	Tunis	F2	Malade	<i>tetA</i>	-/-	
EC38	Tunis	F2	Malade	<i>tetA</i>	-/-	

Tableau 4. Caractérisation des gènes de résistance et des intégrons (sain)

Souche	Origine	Clapier	Etat sanitaire	Gene de Resistance	Class 1 integron	
					Int1/qac-sul1	Gènes cassettes
EC39	Nabeul	F3	Sain	<i>tetB- blatem-1b</i>	-/-	
EC40	nabeul	F3	Sain	<i>tetA</i>	-/-	
EC10	Sfax	F4	Sain	<i>tetA- blatem-1b</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC11	Sfax	F4	Sain	<i>tetA- blatem-1b, qnrB</i>	+/+	<i>dfrA17+aadA5</i>
EC12	Sfax	F4	Sain	<i>tetB- blatem-1b</i>	-/-	
EC13	Sfax	F4	Sain	<i>tetA- blatem-1b, qnrB</i>	+/+	<i>dfrA12+aadA2</i>
EC14	Sfax	F4	Sain	<i>tetA- blatem-1b, sul1, sul2</i>	-/-	
EC15	Sfax	F4	Sain	<i>tetB- blatem-1b, qnrB, sul1, sul2</i>	-/-	
EC16	Sfax	F4	Sain	<i>tetA- blatem-1b</i>	+/+	<i>dfrA12+orfF+aadA2</i>
EC17	Sfax	F4	Sain	<i>tetB- blatem-1b, sul2</i>	-/-	
EC18	Sfax	F5	Sain	<i>tetA, sul2</i>	-/-	
EC19	Sfax	F5	Sain	<i>tetA, sul3</i>	-/-	
EC20	Sfax	F5	Sain	<i>tetA, sul3</i>	-/-	
EC21	Sfax	F5	Sain	<i>tetA</i>	-/-	
EC22	Sfax	F5	Sain	<i>tetA- blatem-1b, qnrB, sul1, sul2</i>	-/-	
EC23	Sfax	F5	Sain	-	-/-	
EC24	Sfax	F6	Sain	<i>tetB, sul1, sul2</i>	-/-	
EC25	Sfax	F6	Sain	<i>tetA, sul3</i>	-/-	
EC26	Sfax	F6	Sain	<i>tetA</i>	-/-	
EC27	Sfax	F6	Sain	<i>tetA, sul 3</i>	-/-	
EC28	Sfax	F6	Sain	<i>tetB, sul3</i>	-/-	
EC29	Sfax	F6	Sain	<i>tetA</i>	-/-	

Tableau5. Caractérisation des gènes de virulences et des groupes phylogénétiques des souches d' *E.coli* (malade)

Souche	Origine	Clapier	Etat sanitaire	Gene de virulence	Groupes phylogenetiques
EC1	Monastir	F1	Malade	<i>aer-fimA,hly, eae</i>	B2
EC2	Monastir	F1	Malade	<i>aer-fimA,hly, eae</i>	D
EC3	Monastir	F1	Malade	<i>aer, papGIII,eae</i>	B2
EC4	Monastir	F1	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	D
EC5	Monastir	F1	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	D
EC6	Monastir	F1	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	B2
EC7	Monastir	F1	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	D
EC8	Monastir	F1	Malade	<i>eae, cnf1, fimA</i>	D
EC9	Monastir	F1	Malade	<i>eae, cnf1, fimA</i>	D
EC30	Tunis	F2	Malade	<i>eae, cnf1, fimA</i>	B2
EC31	Tunis	F2	Malade	-	A
EC32	Tunis	F2	Malade	<i>aer-fimA,hly, eae</i>	D
EC33	Tunis	F2	Malade	<i>aer-fimA,hly, eae</i>	B2
EC34	Tunis	F2	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	B2
EC35	Tunis	F2	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	B2
EC36	Tunis	F2	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	D
EC37	Tunis	F2	Malade	<i>cnf1, aer, fimA, eae</i>	B2
EC38	Tunis	F2	Malade	<i>aer, papGIII,eae</i>	D

Tableau6. Caractérisation des gènes de virulences et des groupes phylogénétiques des souches d' *E.coli* (sain)

Souche	Origine	Clapier	Etat sanitaire	Gene de virulence	Groupes phylogenetiques
EC39	Nabeul	F3	Sain	<i>aer, papGIII,eae</i>	B1
EC40	nabeul	F3	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	B1
EC10	Sfax	F4	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	B1
EC11	Sfax	F4	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	B1
EC12	Sfax	F4	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	B1
EC13	Sfax	F4	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	B1
EC14	Sfax	F4	Sain	<i>fimA</i>	B1
EC15	Sfax	F4	Sain	<i>fimA</i>	B1
EC16	Sfax	F4	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	B1
EC17	Sfax	F4	Sain	<i>cnf1, fimA</i>	A
EC18	Sfax	F5	Sain	<i>fimA</i>	A
EC19	Sfax	F5	Sain	<i>fimA</i>	A
EC20	Sfax	F5	Sain	<i>fimA</i>	B1
EC21	Sfax	F5	Sain	<i>fimA</i>	A
EC22	Sfax	F5	Sain	<i>cnf1</i>	A
EC23	Sfax	F5	Sain	-	B1
EC24	Sfax	F6	Sain	<i>cnf1</i>	A
EC25	Sfax	F6	Sain	<i>cnf1</i>	B1
EC26	Sfax	F6	Sain	<i>cnf1</i>	B1
EC27	Sfax	F6	Sain	<i>cnf1</i>	A
EC28	Sfax	F6	Sain	<i>fimA</i>	A
EC29	Sfax	F6	Sain	<i>fimA</i>	A

Conclusion

- Une fréquence élevée des souches d'E. coli isolés des matières fécales des lapins sains et malades en Tunisie
- Résistance à la majorité des antibiotiques testés avec un pourcentage élevé pour la tétracycline, sulfamide
- Les lapins constituent un réservoir des gènes de résistance portés par des intégrons et de plasmide (qnr)
- Les souches malades hébergent des gènes de virulence dont le plus important eae et semble être lié au groupe phylogénétique le plus virulent B2 et D.

**Fin de la
présentation**



**Merci pour
votre attention**