

Escherichia coli* bovines β -lactames résistantes : gènes identifiés par *microarrays

Guérin V.¹, Thiry D.¹, Cawez F.², Mercuri P.², Saulmont M.³, Mainil J.¹

¹Bactériologie, Département des Maladies Infectieuses et Parasitaires, FARAH et Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Liège, Belgique ; ²Macromolécules Biologiques, Département des Sciences de la Vie, Centre d'Ingénierie des Protéines (CIP), Université de Liège, Liège, Belgique ; ³Association Régionale de Santé et d'Identification Animale (ARSIA), Ciney, Belgique.

Le mécanisme de résistance aux β -lactames le plus fréquent est la production de β -lactamases (BLA), enzymes qui inactivent ces antibiotiques. Leur classification actuelle est très complexe (Ambler, 1980 ; Bush et Jacoby, 2010), mais 4 classes peuvent être résumées : BLA classiques (C), BLA à spectre étendu (BLSE), céphalosporinases (AmpC) et carbapénémases (CPE). Une 5ème classe a été définie sur base des résultats des antibiogrammes réalisés à l'ARSIA, par la méthode de diffusion de disques sur gélose (DDA), avec 8 β -lactames : C associée à une résistance à la céfoxitine (C_FOX) (Tableau I).

Le but de cette étude est d'identifier les gènes encodant les BLA présents chez des *Escherichia* (*E.*) *coli* présentant différents profils de résistance aux β -lactames, isolées de jeunes veaux diarrhéiques ou septicémiques entre novembre 2017 et février 2018.

Tableau I – Phénotypes de résistance observés à l'antibiogramme pour les 8 β -lactames testées.

Antibiotiques	AMX	AMC	XNL	CFQ	CTX	CTC	FOX	MER
C	R	S/R	S	S	S	S	S	S
C_FOX	R	S/R	S	S	S	S	I/R	S
BLSE	R	S/I	R	R	R	S/I	S	S
AmpC	R	R	R	R	R	R	R	S
CPE	R	R	R	R	R	R	R	R

AMX: amoxicilline; AMC: amoxicilline + acide clavulanique; XNL: ceftiofur; CFQ: cefquinome; CTX: céfotaxime; CTC: céfotaxime + acide clavulanique; FOX: céfoxitine; MER: méropénème

Parmi les 607 isolats, 94 ont été choisis sur base de leurs profils de résistance (Tableau II) pour être testés par *microarrays* avec le kit Check-MDR CT103XL® (Check-points BV, Pays-Bas) (Cunningham et al., 2016). L'extraction de l'ADN total a été réalisée avec le "DNeasy Blood & Tissue Kit" (Qiagen BV Benelux, Belgique) et les échantillons ont été stockés à -20°C jusqu'à l'analyse par *microarrays*.

Tableau II – Profils de résistance et répartition des 94 isolats de bovin testés par *microarrays*.

Phénotypes obtenus à l'antibiogramme		
C 15	BLSE 40	AmpC 4
C_FOX 20	BLSE + C 5	AmpC-like 5
	BLSE + C_FOX 5	
Total nombre d'isolats		94

Dans les isolats de phénotype BLSE, seuls différents gènes blaCTX-M ont été détectés, faisant partie des groupes 1, 2 et 9, tandis que pour les phénotypes AmpC, deux gènes blaCMY-II et blaDHA ont été identifiés. Dans les isolats de phénotypes C, le gène blaTEM-WT, qui consiste en blaTEM-1 ou blaTEM-2, a été détecté. Les gènes détectés ont été confrontés au phénotype de résistance observé, et pour 9 isolats, il y a une discordance entre ces résultats. De plus, aucun gène n'a été détecté dans 17 isolats, dont 11 présentaient un phénotype C_FOX.

Une concordance entre phénotype observé et gène détecté par *microarrays* a été observée pour 68 isolats (72%). D'autres études, notamment par séquençage complet du génome (Whole Genome Sequencing) sont en cours sur les isolats avec des résultats discordants. Des PCR spécifiques vont également être conçues et réalisées pour identifier les gènes bla présents dans la collection complète de 607 isolats.

Mots-clés :

Microarrays, *Escherichia coli*, β -lactames, veaux

Cette recherche est financée par le SPF Santé Publique, Sécurité de la chaîne alimentaire et Environnement sous la convention : RF 17/6317 RU-BLA-ESBL-CPE.

Référence:

[1] R.P. Ambler (1980). *Philos. Trans. R. Soc.* 289:321-33.

[2] K. Bush, G.A. Jacoby (2010). *Antimicrob. Agents Chemother.* 54:969-976.

[3] S.A. Cunningham, S. Vasoo, R. Patel (2016). *J. Clin. Microbiol.* 54:1368-1371.

• Objectif - Introduction

Le mécanisme de résistance aux β -lactames le plus fréquent est la production de β -lactamases (BLA), enzymes qui inactivent ces antibiotiques. Leur classification actuelle est très complexe (Ambler, 1980 ; Bush et Jacoby, 2010), mais 4 classes peuvent être résumées : BLA classiques (C), BLA à spectre étendu (BLSE), céphalosporinases (AmpC) et carbapénémases (CPE). Une 5^{ème} classe a été définie sur base des résultats des antibiogrammes réalisés à l'ARSIA, par la méthode de diffusion de disques sur gélose (DDA), avec 8 β -lactames : C associée à une résistance à la céfoxitine (C_FOX) (Tableau I).

Le but de cette étude est d'identifier les gènes encodant les BLA présents chez des *Escherichia (E.) coli* présentant différents profils de résistance aux β -lactames, isolées de veaux diarrhéiques et/ou septicémiques entre novembre 2017 et février 2018 en Wallonie.

• **Image** [17507-image.jpg](#)

• **Légende :** Tableau I – Phénotypes de résistance observés à l'antibiogramme pour les 8 bêta-lactames testées.

• Matériels (ou Patients) et méthodes

Parmi les 607 isolats collectés, 94 ont été choisis sur base de leurs profils de résistance (Tableau II). L'extraction de l'ADN total a été réalisée avec le "*DNeasy Blood & Tissue Kit*" (Qiagen BV Benelux, Belgique) et les échantillons ont été stockés à -20°C jusqu'à l'analyse par *microarrays* avec le kit Check-MDR CT103XL® (Check-points BV, Pays-Bas).

• **image matériels** [17507-supplement14.jpg](#)

• Légende

Tableau II – Profils de résistance et répartition des 94 isolats de bovin testés par *microarrays*.

• Résultats

Dans les isolats de phénotype BLSE, seuls différents gènes *bla*_{CTX-M} ont été détectés, faisant partie des groupes 1, 2 et 9, tandis que pour les phénotypes AmpC, deux gènes *bla*_{CMY-II} et *bla*_{DHA} ont été identifiés. Dans les isolats de phénotypes C, un gène *bla*_{TEM-WT}, qui consiste en *bla*_{TEM-1} ou *bla*_{TEM-2}, a été détecté. Les gènes détectés ont été confrontés au phénotype de résistance observé, et pour 5 isolats, il y a une discordance entre ces résultats. De plus, aucun gène n'a été détecté dans 16 isolats, dont 11 présentaient un phénotype C_FOX.

• Conclusion

Une concordance entre phénotype observé et gène(s) détecté(s) par *microarrays* a été observée pour 73 isolats. D'autres études, notamment par séquençage complet du génome (Whole Genome Sequencing) sont en cours sur les isolats avec des résultats discordants. Des PCR spécifiques vont également être conçues et réalisées pour identifier les gènes *bla* présents dans la collection complète de 607 isolats.

• Mots Clés

Escherichia coli, β -lactames, antibiorésistance, *microarrays*, veaux