

**Titre : Prévalence, caractérisation et liens génétiques entre les *Escherichia coli* producteurs de BLSE isolés chez l'homme, les animaux d'élevage et l'environnement à Madagascar**

**Résumé:** La résistance bactérienne aux antibiotiques est progressivement devenue un problème majeur de santé publique. Aujourd'hui elle n'est plus considérée comme une menace pour la santé humaine uniquement, son impact pour la santé animale et environnementale est également pris en compte. Cependant les études de surveillance trans-sectorielle de la résistance sont rares, particulièrement dans les pays en voie de développement. Dans ce contexte, l'Organisation Mondiale de la Santé a élaboré un protocole de surveillance « One-Health », simplifié et intégré, appelé Tricycle qui se concentre sur un seul indicateur clé, la prévalence d'*Escherichia coli* producteur de bêta-lactamase à spectre étendu (*E. coli*-BLSE) chez l'homme (portage digestif chez des femmes enceintes), dans la chaîne alimentaire (portage digestif chez des poulets d'élevage) et dans l'environnement (eaux de surface en amont et en aval de la capitale, effluents d'abattoir et eaux usées). Ce travail de thèse s'inscrit dans la mise en place du projet Tricycle en 2018, à Madagascar. Nos objectifs étaient (i) d'évaluer la prévalence d'*E. coli*-BLSE dans les trois secteurs à Madagascar, (ii) de caractériser, par séquençage de génome complet, les souches isolées et les éléments génétiques supports de la résistance et (iii) d'étudier les voies de circulation de la résistance bactérienne.

Dans une première étude, nous nous sommes intéressés au portage digestif de 492 femmes enceintes de la capitale et de trois villes de province. Nous avons observé une prévalence d'*E. coli*-BLSE de 34% et identifié que la saison chaude était un facteur de risque de portage (OR = 3.3, 95% CI 2.2-4.9). Les gènes codant les BLSE étaient tous des blaCTX-M dont 85% de blaCTX-M-15. Nous avons observé une grande diversité génétique des isolats, avec 63 séquences types (ST) différents, appartenant principalement au phylogroupe A. Une dissémination clonale, à travers l'île, de souches de différents ST dont ST450, ST361 et ST542, a été mise en évidence ainsi que la circulation d'un plasmide IncY présent chez 23% des isolats. Dans une deuxième étude, nous avons analysé les *E. coli*-BLSE isolés des trois secteurs dans la capitale. Les prévalences étaient de 30% (86/289) chez les femmes enceintes, 57% (140/246) chez les poulets et 100% (28/28) dans les prélèvements environnementaux. Nous avons observé une importante diversité génétique avec 73 ST différents identifiés parmi les 277 isolats. Nous avons identifié une dissémination intra et intersectorielle de 44 clusters de 2 à 12 isolats génétiquement proches (<40 SNPs). Plus de la moitié (57%) des gènes blaCTX-M, étaient intégrés au sein du chromosome et les blaCTX-M plasmidiques étaient portés pour 57% et 35% par des plasmides de types IncF et IncY respectivement. Les plasmides IncF étaient répartis en 20 ST et portaient différents types de CTX-M. Près de la moitié des ST plasmidiques IncF étaient retrouvés dans au moins deux secteurs au sein de souches de fonds génétiques différents, parmi lesquels les plasmides [F31/36:A4:B1] et [F-A-B53], retrouvés dans les trois secteurs. A contrario, les plasmides IncY étaient hautement conservés, portaient exclusivement blaCTX-M-15 et étaient distribués dans tous les secteurs au sein de 34 *E. coli* génétiquement différents.

Ce travail de thèse a permis de mettre en évidence une prévalence élevée d'*E. coli*-BLSE dans les trois secteurs à Madagascar. Grâce à la mise en place d'une surveillance épidémiologique de qualité sur une échelle temporo-spatiale réduite, nous avons pu observer une importante dissémination intra et intersectorielle d'*E. coli*-BLSE mais également de plasmides de type IncF et IncY circulant au sein d'isolats de fonds génétiques différents. Nos résultats confirment l'importance des études de surveillance dans une approche One Health qui sont un des points clés pour lutter contre la dissémination de la résistance et évaluer l'efficacité des mesures de lutte mises en place par les pouvoirs publics.

**Mots clefs :** Résistance aux antimicrobiens, *Escherichia coli*, BLSE, One-Health, Madagascar

**Title: Prevalence, characterization and genetic links among ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from humans, livestock and the environment in Madagascar**

**Abstract:** Bacterial resistance to antibiotics has progressively become a major public health problem. Today it is no longer considered only as a threat to human health, its impact on animal and environmental health is also taken into account. However, cross-sectoral surveillance studies on resistance are still rare, especially in developing countries. In this context, the World Health Organization has developed a simplified and integrated "One-Health" surveillance protocol, called Tricycle, which focuses on a single key indicator, the prevalence of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (ESBL-*E. coli*) in humans (digestive carriage in pregnant women), in the food chain (digestive carriage in farm chickens) and in the environment (surface water upstream and downstream of the capital city, slaughterhouse). This thesis work is part of the implementation of the Tricycle project in 2018, in Madagascar. Our objectives were (i) to assess the prevalence of ESBL-*E. coli* in the three sectors in Madagascar, (ii) to characterize, by whole genome sequencing, the isolated strains and the genetic elements supporting resistance and (iii) to study the dissemination pathways of bacterial resistance.

In a first study, we focused on the digestive ESBL-*E. coli* carriage of 492 pregnant women from the capital and three provincial towns. We observed a prevalence of ESBL *E. coli* of 34% and identified the warm season as a risk factor for carriage (OR = 3.3, 95% CI 2.2-4.9). ESBL encoding genes belonged all to the blaCTX-M group, 85% of which were blaCTX-M-15. We observed a high genetic diversity of the isolates, with 63 different sequence types (ST), belonging mainly to phylogroup A. A clonal dissemination of strains of different ST including ST450, ST361 and ST542, across the island, was demonstrated as well as the circulation of an IncY plasmid, found in 23% of the isolates. In a second study, we analyzed the ESBL-*E. coli* isolated from the three sectors in the capital. The prevalence was 30% (86/289) in pregnant women, 57% (140/246) in chickens and 100% (28/28) in environmental samples. We observed a high genetic diversity with 73 different STs identified among the 277 isolates. We observed intra- and inter-sectoral dissemination of 44 clusters composed of 2 to 12 genetically close isolates (<40 SNPs). More than half (57%) of the blaCTX-M genes were integrated within the chromosome and the blaCTX-M plasmids were carried for 57% and 35% by IncF and IncY type plasmids respectively. The IncF plasmids were distributed into 20 STs and carried different types of CTX-M genes. Nearly half of the IncF plasmid STs were found in at least two sectors within strains of different genetic backgrounds, including the plasmids [F31/36:A4:B1] and [F-A:B53], found in all three sectors. In contrast, IncY plasmids were highly conserved, carried exclusively blaCTX-M-15 and were distributed in all sectors within 34 genetically different *E. coli*.

This thesis work showed a high prevalence of ESBL-*E. coli* in all three sectors in Madagascar. Thanks to the implementation of a high-quality epidemiological surveillance on a reduced temporal and spatial scale, we were able to observe significant intra- and inter-sectoral dissemination of ESBL-*E. coli* but also of IncF and IncY type plasmids circulating within isolates from different genetic backgrounds. Our results confirm the importance of surveillance studies in a One Health approach, which are one of the key points to fight against resistance spread and to evaluate the effectiveness of control measures implemented by public health authorities.

**Key words:** Antimicrobial resistance, *Escherichia coli*, ESBL, One-Health, Madagascar