

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 048

L'ANTIBIOGRAMME EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE RURALE : UTILE, INDISPENSABLE OU SUPERFLU ? LE GUIDE DU PRATICIEN EN MÉDECINE DES ANIMAUX DE PRODUCTION

Thèse réalisée en commun avec WALLIANG Maud

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 7 octobre 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

ZANAROTTI Vincent

CAMPUS VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2021 - Thèse n° 048

L'ANTIBIOGRAMME EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE RURALE : UTILE, INDISPENSABLE OU SUPERFLU ? LE GUIDE DU PRATICIEN EN MÉDECINE DES ANIMAUX DE PRODUCTION

Thèse réalisée en commun avec WALLIANG Maud

THESE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
(Médecine – Pharmacie)

Et soutenue publiquement le 7 octobre 2021
Pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

Par

ZANAROTTI Vincent

Liste des Enseignants du Campus Vétérinaire de Lyon (20-05-2021)

ABITBOL	Marie	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
ALVES-DE-OLIVEIRA	Laurent	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
ARCANGIOLI	Marie-Anne	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
AYRAL	Florence	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
BECKER	Claire	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
BELLUCO	Sara	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
BENAMOU-SMITH	Agnès	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
BENOIT	Etienne	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BERNY	Philippe	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BONNET - GARIN	Jeanne - Marie	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BOULOCHER	Caroline	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
BOURDOISEAU	Gilles	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur émérite
BOURGOIN	Gilles	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
BRUYERE	Pierre	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
BUFF	Samuel	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
BURONFOSSE	Thierry	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
CACHON	Thibaut	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
CADORÉ	Jean-Luc	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
CALLAIT - CARDINAL	Marie-Pierre	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
CAROZZO	Claude	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
CHABANNE	Luc	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
CHALVET - MONFRAY	Karine	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
DE BOYER DES ROCHES	Alice	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
DELIGNETTE - MULLER	Marie-Laure	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
DJELOUADJI	Zorée	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
ESCRIOU	Catherine	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
FRIKHA	Mohamed-Ridha	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
GALIA	Wessam	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
GILOT - FROMONT	Emmanuelle	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
GONTHIER	Alain	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
GRANCHER	Denis	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
GREZEL	Delphine	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
HUGONNARD	Marine	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
JUNOT	Stéphane	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
KODJO	Angeli	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
KRAFFT	Emilie	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
LAABERKI	Maria-Halima	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
LAMBERT	Véronique	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
LE GRAND	Dominique	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
LEBLOND	Agnès	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
LEDOUX	Dorothée	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
LEFEBVRE	Sébastien	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
LEFRANC - POHL	Anne - Cécile	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
LEGROS	Vincent	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
LEPAGE	Olivier	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
LOUZIER	Vanessa	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
MARCHAL	Thierry	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
MOISSONNIER	Pierre	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
MOSCA	Marion	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
MOUNIER	Luc	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
PEPIN	Michel	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
PIN	Didier	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
PONCE	Frédérique	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
PORTIER	Karine	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
POUZOT - NEVORET	Céline	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
PROUILLAC	Caroline	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
REMY	Denise	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
RENE MARTELLET	Magalie	DEPT - ELEVAGE - SPV	Maître de conférences
ROGER	Thierry	DEPT - BASIC - SCIENCES	Professeur
SAWAYA	Serge	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
SCHRAMME	Michael	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
SERGET ET	Delphine	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur
THIEBAULT	Jean-Jacques	DEPT - BASIC - SCIENCES	Maître de conférences
TORTEREAU	Antonin	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Maître de conférences
VIGUIER	Eric	DEPT - AC - LOISIR - SPORT	Professeur
ZENNER	Lionel	DEPT - ELEVAGE - SPV	Professeur

Au Professeur COLLARDEAU Sophie,

De l'Université Claude Bernard Lyon 1, Faculté de Médecine de Lyon, Pour m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de mon jury de thèse,

Hommages respectueux.

Au Professeur DJELOUADJI Zorée,

De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,

Merci de sa confiance lorsqu'elle m'a confié la réalisation de ce sujet.

Merci pour votre temps, votre implication, vos remarques et suggestions.

Au Professeur BECKER Claire,

De VetAgro Sup, Campus Vétérinaire de Lyon,

Merci d'avoir accepté d'être mon second assesseur sur ce sujet.

Merci pour votre temps et vos conseils judicieux.

Table des matières :

Introduction.....	19
I. L'antibiogramme, importance, principe, réalisation et interprétation (partie commune avec Walliang Maud)	24
a. Importance en pratique.....	24
b. Principe.....	25
c. Différentes méthodes.....	25
d. Réalisation de la méthode des disques.....	26
1. Matériel.....	26
2. Méthode.....	27
i. Préparation de la suspension bactérienne.....	27
ii. Choix de la gélose.....	27
iii. Inoculation de la gélose.....	28
iv. Critères de sélection des disques d'antibiotiques.....	29
v. Dépôt des disques d'antibiotiques et incubation.....	33
e. Analyse des résultats.....	34
i. Lecture.....	34
ii. Interprétation	35
f. Législation et réglementation encadrant l'utilisation de l'antibiogramme.....	37
II - Intérêt des antibiogrammes dans la détection des mécanismes de résistance des bactéries impliquées dans les infections chez l'animal (partie commune avec Walliang Maud).....	39
1. Mécanismes de résistance mis en évidence.....	39
2. Les mécanismes de résistance acquise.....	40
3. Mécanismes de résistances présents chez les pathogènes bactériens prévalent en médecine vétérinaires.....	40
a. Staphylocoques.....	40
1. Présentation.....	40
2. Mécanisme(s) de résistance(s).....	41
3. Les principaux profils de résistance chez les Staphylocoques.....	43
i. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la pénicilline.....	43
a. Présentation.....	43
b. Mécanisme(s) de résistance(s).....	43
c. Conséquences thérapeutiques.....	44
d. Détection du SARM.....	44
ii. <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> résistant à la pénicilline.....	44
a. Présentation.....	44
b. Mécanisme(s) de résistance(s).....	44
c. Conséquences thérapeutiques.....	45
d. Détection du SPRM.....	45
b. Streptocoques.....	46
1. Présentation.....	46
2. Mécanisme(s) de résistance(s).....	46
3. Conséquences thérapeutiques.....	48
c. <i>Escherichia coli</i>	48
1. Présentation.....	48
2. Mécanisme(s) de résistance(s).....	49
3. Conséquences thérapeutiques.....	52

4. Principaux profils de résistance chez les <i>E. coli</i>	53
d. <i>Pseudomonas</i>	57
1. Présentation.....	57
2. Mécanisme(s) de résistance(s).....	57
3. Conséquences thérapeutiques.....	61
e. Pasteurelles.....	61
1. Présentation.....	61
2. Mécanisme(s) de résistance(s).....	62
3. Conséquences thérapeutiques.....	65
f. Salmonelles.....	65
1. Présentation.....	65
2. Mécanisme(s) de résistance(s).....	65
3. Conséquences thérapeutiques.....	69
III – Les indications de l’antibiogramme en médecine rurale vétérinaire.....	69
a. L’évolution.....	69
1. Espèce bovine.....	70
2. Espèce ovine.....	71
3. Espèce caprine.....	72
b. Quand réaliser un antibiogramme.....	73
1. Antibiogramme indispensable.....	73
2. Antibiogramme utile.....	76
3. Quand se passer d’un antibiogramme ?.....	77
c. Bilan : Utilité de l’antibiogramme en médecine des animaux de production.....	77
IV- Usage de l’antibiogramme dans différents cas cliniques.....	80
1. Cas n°1 : Gastro-entérite néonatale dans un lot de veaux.....	80
a. Anamnèse et commémoratifs.....	80
b. Résultats de l’antibiogramme.....	80
c. Importance de la réalisation de l’antibiogramme.....	81
2. Cas n°2 : Broncho-pneumonie infectieuse dans un troupeau de chèvres.....	82
a. Anamnèse et commémoratifs.....	82
b. Résultats de l’antibiogramme.....	83
c. Importance de la réalisation de l’antibiogramme.....	84
3. Cas n° 3 : Mammite.....	84
a. Anamnèse et commémoratifs.....	84
b. Résultats de l’antibiogramme.....	85
c. Importance de la réalisation de l’antibiogramme.....	86
Conclusion.....	87
Bibliographie.....	89
Annexes.....	103

Table des annexes :

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques des autres techniques possible pour la réalisation d'un antibiogramme.....103

Annexe 2 : Décret no 2016-317 du 16 mars 2016 relatif à la prescription et à la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique. -Extrait du Journal Officiel de la République Française du 25 mars 2016.....104

Annexe 3 : Composition des différentes sortes de gélose.....105

Annexe 4 : tableau récapitulatif des disques antibiotiques à utiliser pour la réalisation d'un antibiogramme selon l'espèce bactérienne. Source : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, recommandations vétérinaires d'Avril 2020.....106

Table des figures :

<u>Figure 1</u> : Impact des infections à bactéries résistantes en santé humaine en 2015.....	19
<u>Figure 2</u> : Plans d'action de lutte contre l'antibiorésistance à l'échelle internationale.....	21
<u>Figure 3</u> : Plans d'action de lutte contre l'antibiorésistance à l'échelle européenne et nationale.....	23
<u>Figure 4</u> : Encensement dans 3 directions d'un inoculum sur une gélose.....	28
<u>Figure 5</u> : Exemples de géloses correctement ensemencées.....	29
<u>Figure 6</u> : Importance du nombre de disques sur la gélose (référence).....	33
<u>Figure 7</u> : Mesures du diamètre d'inhibition sur gélose MH (A) et MH-F (B).....	34
<u>Figure 8</u> : Mesures du diamètre d'inhibition sur gélose MH (A) et MH-F (B) avec présence de colonies isolées dans la zone d'inhibition.....	35
<u>Figure 9</u> : Mesures du diamètre d'inhibition sur gélose MH présentant des bordures floues.....	35
<u>Figure 10</u> : Exemple n°1 : Principe général de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes pour le cas où un seul antibiotique est testé.....	36
<u>Figure 11</u> : Exemple n°2 : Principe général des résultats obtenus après réalisation d'un antibiogramme par la méthode des « disques » pour trois antibiotiques testés.....	37
<u>Figure 12</u> : Mécanismes de résistance chez <i>Staphylococcus sp.</i>	45
<u>Figure 13</u> : Mécanismes de résistance de <i>Streptococcus sp.</i>	47
<u>Figure 14</u> : Mécanismes de résistance de <i>Escherichia coli.</i>	52
<u>Figure 15</u> : Antibiogramme typique d'une <i>Escherichia coli</i> productrice de BLSE (A) et synergie en « bouchon de champagne » (B-flèche rouge).....	54
<u>Figure 16</u> : Antibiogramme typique d'une <i>Escherichia coli</i> productrice de CHN.....	56
<u>Figure 17</u> : Mécanismes de résistance de <i>Pseudomonas sp.</i>	60
<u>Figure 18</u> : Mécanismes de résistance de <i>Pasteurella sp.</i>	64
<u>Figure 19</u> : Mécanismes de résistance de <i>Salmonella spp.</i>	68
<u>Figure 20</u> : Évolution du nombre d'antibiogrammes reçus par filière animale.....	69
<u>Figure 21</u> : Nombre d'antibiogrammes par classes d'âge et pathologies pour l'espèce bovine en 2019.....	70

<u>Figure 22</u> : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par pathologies pour l'espèce bovine en 2019.....	70
<u>Figure 23</u> : Nombre d'antibiogrammes par classes d'âge et pathologies pour l'espèce ovine en 2019.....	71
<u>Figure 24</u> : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par pathologies pour l'espèce ovine en 2019.....	71
<u>Figure 25</u> : Nombre d'antibiogrammes par classes d'âge et pathologies pour l'espèce caprine en 2019.....	72
<u>Figure 26</u> : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par pathologies pour l'espèce caprine en 2019.....	72
<u>Figure 27</u> : Evolution des proportions de souches de <i>E. coli</i> non sensibles (I+R) à sept antibiotiques chez les bovins (2006-2019).....	74
<u>Figure 28</u> : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par classes d'âge....	75
<u>Figure 29</u> : Arbre décisionnel pour la détermination de l'importance de l'utilisation d'un antibiogramme selon le type de pathologie en médecine des animaux de production.....	78
<u>Figure 30</u> : Arbre décisionnel de réalisation d'un antibiogramme en médecine vétérinaire....	79

Liste des tableaux :

<u>Tableau 1</u> : Liste de l'OMS des agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques.....	20
<u>Tableau 2</u> : Avantages et inconvénients des méthodes d'antibiogramme.....	26
<u>Tableau 3</u> : Liste des antibiotiques marqueurs de mécanismes de résistance bactérienne, utilisables pour la réalisation d'un antibiogramme, les mécanismes mis en évidence et leurs conséquences thérapeutiques en médecine vétérinaire.....	31
<u>Tableau 4</u> : Listes des antibiotiques « Equivalents » utilisables pour la réalisation d'un antibiogramme en médecine vétérinaire.....	30
<u>Tableau 5</u> : Liste des antibiotiques à tester, leurs concentrations et valeurs en médecine vétérinaire pour <i>Enterobacterales</i>	32
<u>Tableau 6</u> : conditions d'incubation des géloses pour l'antibiogramme.....	34
<u>Tableau 7</u> : Critères généraux de catégorisation selon les valeurs critiques.....	36
<u>Tableau 8</u> : Substances antibiotiques critiques en médecine vétérinaire selon la réglementation en vigueur.....	38
<u>Tableau 9</u> : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistance acquise aux macrolides et apparentés chez les cocci à Gram positif.....	42
<u>Tableau 10</u> : Antibiotiques marqueurs des profils de résistance des <i>Staphylococcus</i> résistant à la méticilline, et résultats de la mise en évidence de ce profil grâce à un antibiogramme.....	45
<u>Tableau 11</u> : Types d'infections provoquées par <i>Escherichia coli</i> chez différentes espèces.....	48
<u>Tableau 12</u> : Différentes pompes d'efflux rencontrées chez <i>E. coli</i>	51
<u>Tableau 13</u> : Antibiotiques marqueur du profil de résistance des E-BLSE, et résultats de la mise en évidence de ce profil grâce à un antibiogramme.....	54
<u>Tableau 14</u> : Antibiotiques marqueur du profil de résistance des <i>E.coli</i> produisant des CHN, et résultats de la mise en évidence de ce profil grâce à un antibiogramme.....	56
<u>Tableau 15</u> : Types d'infections provoquées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> chez différentes espèces.....	57
<u>Tableau 16</u> : Différentes pompes d'efflux rencontrées chez <i>Pseudomonas sp</i>	59
<u>Tableau 17</u> : Types d'infections provoquées par <i>Pasteurella multocida</i> chez différentes espèces.....	61
<u>Tableau 18</u> : Types d'infections provoquées par les bactéries du genre <i>Salmonella</i> chez différentes espèces.....	65

<u>Tableau 19</u> : Prévalence des pathogènes responsables de pathologies digestives chez les jeunes ruminants.....	74
<u>Tableau 20</u> : Proportions (en %) de souches de <i>E. coli</i> résistantes (R+I) en fonction du nombre de résistances identifiées parmi une liste de cinq antibiotiques en 2019.....	75
<u>Tableau 21</u> : Proportion de sensibilité pour les antibiotiques testés de <i>Salmonella Typhimurium</i> , toutes pathologies et classes d'âge confondues.....	76
<u>Tableau 22</u> : Résultat de l'antibiogramme réalisé sur fèces de veaux atteints de gastro-entérite néonatale.....	80
<u>Tableau 23</u> : Proportion de sensibilité de <i>E. coli</i> responsable de pathologies digestives chez les jeunes bovins pour les antibiotiques testés.....	81
<u>Tableau 24</u> : Résultat de l'antibiogramme réalisé sur poumons de chèvres atteintes de Broncho-pneumonie infectieuse.....	83
<u>Tableau 25</u> : Proportion de sensibilité pour les antibiotiques testés, pour toutes les <i>Pasteurella</i> toutes pathologies confondues chez les caprins.....	84
<u>Tableau 26</u> : Résultat de l'antibiogramme réalisé sur le lait d'une vache atteinte d'une mammite.....	85
<u>Tableau 27</u> : Proportion de sensibilité des principales souches bactériennes responsables de mammite chez les bovins pour les antibiotiques testés.....	86

Liste des abréviations :

ABC : ATP-Binding Cassette family
AFNOR : Association française de normalisation
ARNr : Acide Ribonucléique Ribosomal
BLSE : Bêta Lactamase à Spectre Étendu
 β -NAD : β -nicotinamide adénine dinucléotide
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme - Société Française de Microbiologie
CAT : Chlorampénicol Acétyl Transférase
CHN : Céphalosporinase de Haut Niveau
CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
DHFR : Dihydrofolate Réductase
DHPS : Dihydroptéroate Synthétase
EARS-Net : Réseau européen de surveillance de la résistance aux antimicrobiens
E-BLSE : Escherichia coli productrice de Bêta Lactamase à Spectre Étendu
ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control
EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FAO : Food and Agriculture Organisation
INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
MATE : Multidrug And Toxic compound Extrusion family
MFS : Major Facilitator Superfamily
MLSB : Macrolides, Lincosamides, Streptogramin B
NF : Norme Française
OIE : Office International des Epizooties-Organisation Mondiale de la Santé Animale
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAB : acide Para-Amino Benzoïque
PCR : Polymerase Chain reaction
RCP : Résumé des Caractéristiques du Produit
RND : Resistance-Nodulation cell Division family
SARM : Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline
SARM-C : Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline – Communautaire
SARM-H : Staphylococcus aureus Résistant à la Méricilline – Hospitalier
SFM : Société Française de Microbiologie
SMR : Small Multidrug Resistance
SPRM : Staphylococcus pseudintermedius Résistant à la Méricilline
VetCAST : Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Introduction

L'antibiorésistance est devenue ces dernières années un enjeu mondial majeur en santé publique. En effet, l'émergence et la diffusion croissante de bactéries résistantes aux antibiotiques remettent en question l'efficacité des traitements tant chez l'homme que chez l'animal. Ce phénomène est fortement corrélé au mauvais usage ainsi qu'à la surconsommation des antibiotiques, il est aggravé par l'absence d'innovation dans le domaine depuis deux décennies, ce qui a conduit à une réduction de l'arsenal thérapeutique [2].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), une résistance à un antibiotique apparaît lorsqu' « une bactérie ne réagit plus de la même façon lors de l'utilisation d'antibiotiques prescrits pour traiter des infections bactériennes (infections urinaires, pneumonie, infections sanguines) et qu'ils deviennent alors inefficaces » [4].

L'impact de l'antibiorésistance

En santé humaine

On estime que l'antibiorésistance est responsable de plus de 700 000 morts chaque année dans le monde [4]. En 2015, une étude du Centre Européen de Prévention et de Contrôle des Maladies (ECDC) estime que la résistance bactérienne aux antibiotiques est responsable en Europe d'environ 670 000 infections et de 33 000 décès au cours de l'année 2015 [28]. En France, cela représente 125 000 infections et près de 5 500 décès par an [111]. Ces estimations permettent d'ouvrir les yeux sur l'impact important de l'antibiorésistance sur la santé publique et la nécessité urgente d'agir dans la lutte contre l'antibiorésistance [31].



Figure 1 : Impact des infections à bactéries résistantes en santé humaine en 2015

En 2016, Jim O'Neill établit un constat alarmant sur la résistance antimicrobienne dans sa revue indépendante, mentionnant que : « d'ici 2050, 10 millions de personnes pourraient mourir des suites d'une infection liée à la résistance aux antibiotiques ». Il est donc essentiel de mettre en place une coalition mondiale afin de limiter les dégâts associés à l'antibiorésistance et réduire la consommation des antibiotiques pour un meilleur usage. Les coûts de ces actions sont estimés à 3-4 milliards de dollars annuels [4].

D'après les données du Réseau Européen de Surveillance aux Antimicrobien (réseau EARS-Net), les 8 espèces bactériennes les plus fréquemment isolées en médecine humaine dans le cadre des infections bactériennes sont : *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), et *Streptococcus pneumoniae* [28].

Les antibiotiques sont la catégorie de molécules la plus utilisée par les vétérinaires. C'est pourquoi la lutte contre l'antibiorésistance doit aussi être considérée comme globale dans le concept d'une santé unique « One Health ». Tout comme en santé humaine, les échecs thérapeutiques secondaires à des bactéries résistantes aux antibiotiques augmentent de façon considérable au cours des dernières décennies. De nouvelles souches bactériennes résistantes sont même une préoccupation quasi exclusive de la santé vétérinaire, comme c'est le cas de *Staphylococcus pseudintermedius* résistants à la méticilline [103][118][119].

La lutte contre l'antibiorésistance

Touchant aussi bien l'Homme que l'animal, l'antibiorésistance est considérée par l'OMS comme une des plus sérieuses menace pour la santé publique, imposant ainsi une approche globale de la Santé. Cette menace repose sur une diminution, voire une disparition de la sensibilité de certaines bactéries pathogènes vis-à-vis de molécules antibiotiques, limitant grandement leur efficacité et leur utilité dans la lutte contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, et conduisant ainsi souvent à des complications du fait de la réduction des options thérapeutiques possibles.

En 2017, l'OMS définit une liste d'agents pathogènes prioritaires dans la lutte contre l'antibiorésistance. Ces bactéries sont divisées en trois catégories selon l'urgence de développer de nouveaux antibiotiques et sont présentées dans le tableau ci-dessous.

En effet, « *la résistance aux antibiotiques augmente et nous épuisons rapidement nos options thérapeutiques. Si on laisse faire le marché, les nouveaux antibiotiques dont nous avons le besoin le plus urgent ne seront pas mis au point à temps* » remarque le Docteur Marie-Paule Kieny, Sous-Directeur général à l'OMS au cours d'une conférence de presse [124].

Tableau 1 : Liste de l'OMS des agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques [124]

Priorité 1 : CRITIQUE	Priorité 2 : ELEVÉE	Priorité 3 : MOYENNE
Acinetobacter baumannii Résistance aux carbapénèmes	Enterococcus faecium Résistance à la vancomycine	Streptococcus pneumoniae Insensible à la pénicilline
Pseudomonas aeruginosa Résistance aux carbapénèmes	Helicobacter pylori Résistance à la clarithromycine	Haemophilus influenzae Résistance à l'ampicilline
Enterobacteriaceae Résistance aux carbapénèmes, production de BLSE	Staphylococcus aureus Résistance à la méticilline, vancomycine	Shigella spp. Résistance aux fluoroquinolones
	Campylobacter spp. Résistance aux fluoroquinolones	
	Salmonellae Résistance aux fluoroquinolones	
	Neisseria gonorrhoeae Résistance aux céphalosporines, fluoroquinolones	

Différentes concertations entre l’OMS, l’Organisation mondiale de la santé animale (OIE), et l’Organisation pour l’alimentation et l’agriculture (FAO) ont permis de définir différents plans d’action.

A l’échelle **internationale**, en ce qui concerne l’OMS et l’OIE, un plan d’action a été établi en 2015, celui-ci se décline en 5 objectifs :

- Sensibiliser le personnel de santé et le public
- Renforcer la surveillance et la recherche
- Prendre des mesures d’assainissement, d’hygiène et de prévention des infections
- Optimiser l’usage des antimicrobiens en santé humaine et animale
- Soutenir des investissements durables pour la mise au point de nouveaux traitements, diagnostics ou vaccins.

L’OMS soutient également les états en suivant la mise en application de ces mesures et en coordonnant les investissements.

Sur les mêmes grandes lignes, « The OIE Strategy on Antimicrobial Resistance and the Prudent Use of Antimicrobials », présenté par l’OIE en novembre 2016 inclut des normes intergouvernementales portant sur le contrôle des quantités d’antibiotiques utilisés en production animale et les lignes directrices guidant les états vers des méthodes d’appréciation du risque d’émergence et de propagation de bactéries résistantes. De plus, l’OIE s’engage à fournir des publications et bases de données sur lesquelles s’appuyer pour s’assurer du bon usage des antibiotiques.

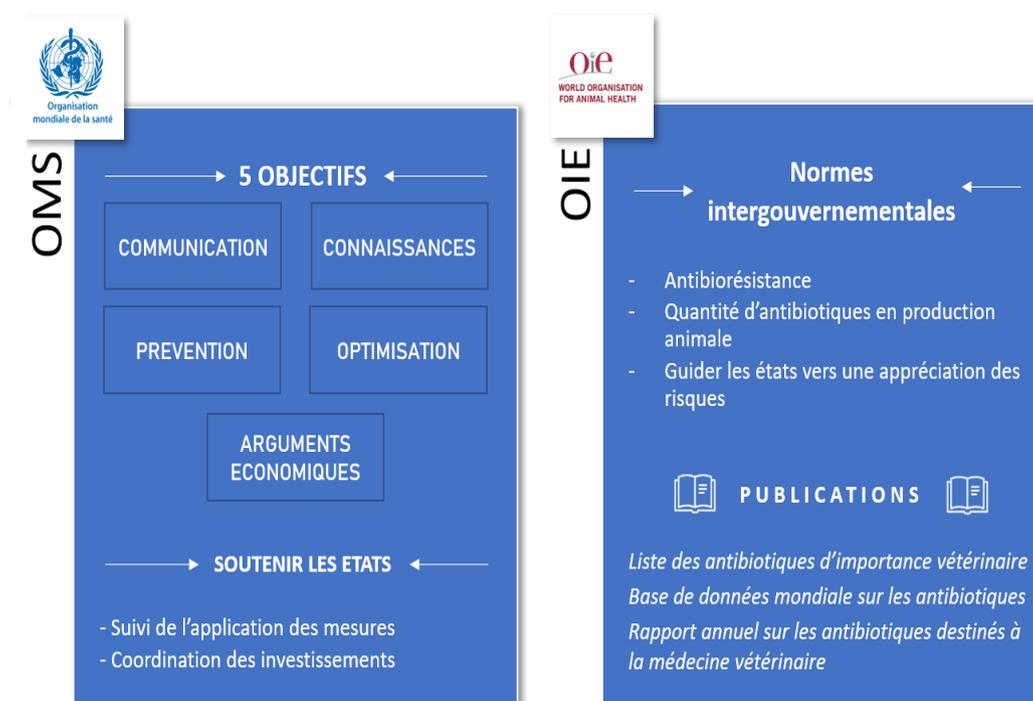


Figure 2 : Plans d’action de lutte contre l’antibiorésistance à l’échelle internationale.

Source : Auteur

Au niveau **Européen**, un plan d'action de l'Union Européenne a également vu le jour en 2017. Il repose sur 7 objectifs visant à renforcer les moyens de surveillance, de lutte, de recherche, de prévention, et de coordination internationale et nationale. Il comprend également la « *Joint Action on Antimicrobial Resistance & Healthcare - Associated Infections* » qui rassemble 44 partenaires institutionnels (ministères de la santé, instituts de recherche, instituts de santé publique) dans 27 pays membres. Celle-ci facilite les échanges entre les pays membres pour développer de nouveaux Plans d'Actions Nationaux et améliorer ceux déjà existant et ainsi permettre la mise en place d'actions concrètes.

Enfin, à l'échelle **nationale**, la France a commencé la lutte contre l'antibiorésistance dès les années 2000 en adoptant plusieurs plans ministériels en santé humaine et animale [34][11]. Par la suite, trois plans nationaux pour la préservation de l'efficacité des antibiotiques se sont succédés, deux entre 2001-2005 et 2007-2010, puis un plan national entre 2011-2016 d'alerte sur les antibiotiques. En 2016, une feuille de route interministérielle est adoptée et comporte un plan d'action en 13 mesures visant à renforcer la communication, la formation des professionnels de santé, la recherche, l'innovation, la surveillance, la coordination entre institutions [50]. Enfin, la stratégie nationale de santé pour 2018-2022 comporte un paragraphe sur la préservation de l'efficacité des antibiotiques confirmant l'engagement français dans la lutte contre l'antibiorésistance [91].

Parallèlement, en 2012, le plan Ecoantibio est lancé : il a eu notamment pour objectif la réduction quantitative de l'usage des antibiotiques en développant des alternatives à leur utilisation, en promouvant les bonnes pratiques de l'antibiothérapie raisonnée, en renforçant l'encadrement et la prescription et en améliorant le suivi de la consommation en antibiotiques [104]. Il prend fin en 2017 et s'est concrétisé par une baisse de l'exposition des animaux aux antibiotiques de 37% [105]. Il est succédé en 2017 par le plan Ecoantibio 2 qui devrait permettre de poursuivre les actions et de maintenir ces résultats dans la durée. Il devrait prendre fin en 2021 [73]. La plupart des actions concernant la santé humaine sont présentées dans le Programme national d'actions de Prévention des Infections Associées aux Soins dit « ProPIAS » [40].

Par ailleurs, des réseaux de surveillance de l'antibiorésistance existent en France ; c'est le cas des réseaux Salmonella et Résapath. Le réseau Salmonella permet le suivi des salmonelles d'origine animale présentes sur la chaîne alimentaire et de leur résistance aux antibiotiques [75]. Quant à lui, le réseau Résapath répertorie depuis 1982 les résultats des antibiogrammes réalisés par des laboratoires vétérinaires participants, les souches incriminées, les infections qu'elles provoquent ainsi que les espèces animales touchées par catégorie d'âge, réalisant ainsi chaque année un « état des lieux » de l'antibiorésistance en médecine animale en France [74].

Enfin, en 2016, la réglementation française établit une liste d'antibiotiques dits « critiques » en médecine vétérinaire, dont l'utilisation est conditionnée en amont par la réalisation d'un antibiogramme [39].

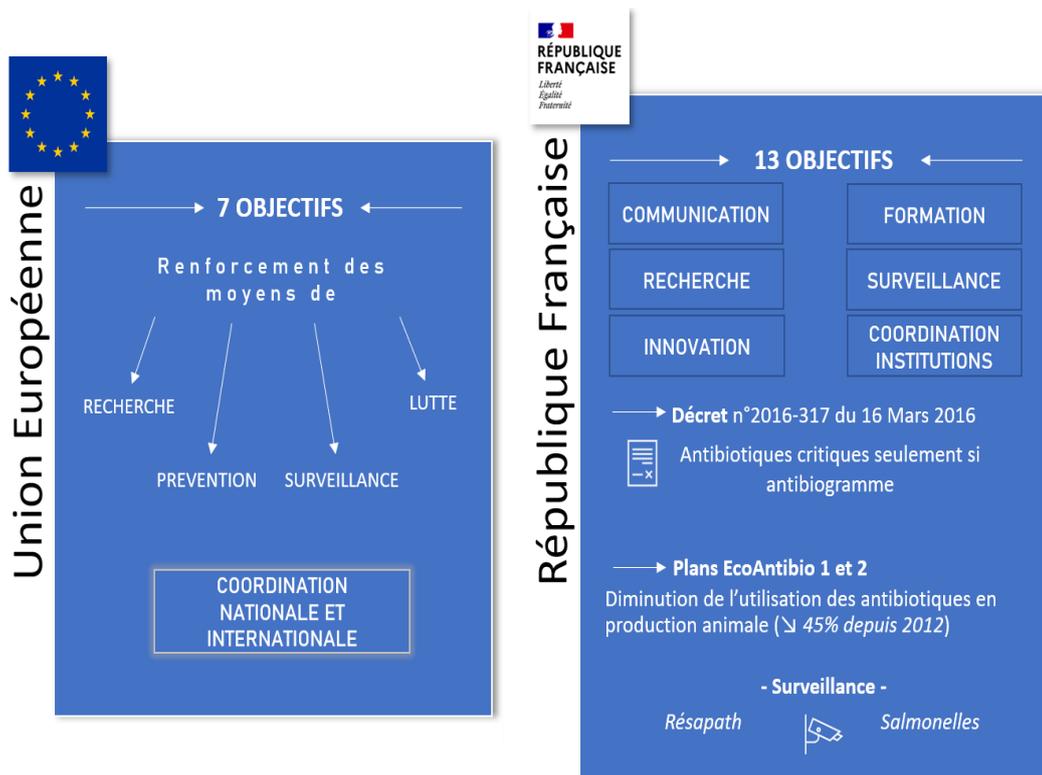


Figure 3 : Plans d'action de lutte contre l'antibiorésistance à l'échelle européenne et nationale. Source : Auteur

L'antibiogramme s'inscrit aujourd'hui pleinement dans cette logique de détection et de surveillance de la résistance bactérienne, en identifiant les résistances et sensibilités de souches bactériennes impliquées dans les infections, et permettant ainsi un choix raisonné des molécules ayant une réelle efficacité, tout en préservant l'arsenal thérapeutique.

L'objectif de cette thèse est d'établir un guide pratique, permettant au clinicien de prendre connaissance de la place de l'antibiogramme en médecine vétérinaire en lien avec la réglementation en vigueur, les méthodes de sa réalisation, l'interprétation de ses résultats et surtout de son utilité en pratique courante. Ainsi, dans une première partie, les étapes de la réalisation d'un antibiogramme seront détaillées en vue de permettre aux praticiens vétérinaires de les mettre en application dans leur pratique courante. La deuxième partie de la thèse sera consacrée à la description des mécanismes de résistances des bactéries couramment rencontrées dans le cadre d'infections chez l'animal. Une troisième partie portera sur la pertinence de l'antibiogramme dans les différentes situations courantes de la médecine vétérinaire rurale. Celle-ci sera illustrée en quatrième partie avec la présentation de différents cas cliniques de médecine rurale.

I. L'antibiogramme, importance, principe, réalisation et interprétation :

a. **Importance en pratique :**

L'antibiogramme est un outil de mesure de la résistance bactérienne à un ou plusieurs antibiotiques. L'utilisation d'un antibiogramme comme un outil diagnostique révèle plusieurs avantages. Il aide à orienter le choix des antibiotiques lors de prescription individuelle en mettant en évidence la sensibilité ou la résistance des souches bactériennes aux antibiotiques testés. Le but est donc d'extrapoler le résultat de sensibilité *in-vitro* à des fins de traitement *in-vivo* de l'infection chez l'animal. C'est un indicateur pour le bon usage du médicament, en permettant un choix raisonné des molécules sur la base des résultats de l'antibiogramme.

Dans la pratique courante, les antibiogrammes sont notamment indiqués dans le cadre d'infections dues à des bactéries connues pour présenter des résistances à des antibiotiques, dans le cadre d'un échec thérapeutique en permettant d'ajuster le traitement à la souche bactérienne en présence, ou bien dans le cadre d'infections bactériennes chroniques.

Au niveau réglementaire, l'antibiogramme est obligatoire lors de la prescription d'un antibiotique critique en médecine vétérinaire depuis la publication du décret n°2016-317 du 16 mars 2016. Au cours de cette année, le nombre d'antibiogrammes comptabilisé par le Résapath à partir des 74 laboratoires adhérents a augmenté d'environ 30 %, passant de 41298 en 2015 à 53691 en 2016. Cette augmentation est évaluée à 31 % pour les chiens, passant de 5602 en 2015 à 12132 en 2016, 55 % pour les chats, passant de 1553 en 2015 à 3768 en 2016, et 22 % pour les bovins, passant de 10399 à 12666 en 2016 [110]. En revanche, une augmentation plus discrète concerne les volailles, passant de 13190 en 2015 à 13480 en 2016, la filière porcine, passant de 3279 en 2015 à 3483 en 2016, les lapins, passant de 1493 en 2015 à 1494 en 2016, les ovins, passant de 813 en 2015 à 947 en 2016, les caprins, passant de 593 en 2015 à 716 en 2016, les chevaux, passant de 3468 en 2015 à 3655 en 2016, la catégorie « *Autres* » regroupant les oiseaux de volière, rongeurs de compagnie, poissons d'aquarium, singes, serpents, passe de 734 en 2015 à 1176 en 2016. Les antibiogrammes concernant la pisciculture sont restés stables à 174. Le dernier bilan Résapath concerne les résultats de l'année 2019, avec 71 laboratoires ayant transmis leurs résultats d'antibiogramme. En tout, 53469 antibiogrammes ont été collectés, 15046 pour les chiens (28,1%), 5310 pour les chats (9,9%), 10823 pour les bovins (20,2%), 1656 pour les volailles (19,9%), 3942 pour les chevaux (7,4%), 3461 pour la filière porcine (6,5%), 1147 pour les ovins (2,1%), 880 pour les lapins (1,7%), 877 pour les caprins (1,6%), 171 pour les poissons de pisciculture (0,3%), et enfin, 1156 pour la catégorie « *Autres* » (2,2%). Après la forte augmentation du nombre d'antibiogramme réalisés en 2016, les tendances se sont stabilisées.

Entre 2015 et 2016, avec l'application de la nouvelle réglementation, l'augmentation la plus forte a été pour le nombre d'antibiogrammes concernant l'espèce canine (de 5602 à 12132), puis pour les chats (de 1553 à 3768), et enfin pour les bovins (de 10399 à 12666) [110]. Ces différences d'augmentation peuvent être expliquées par plusieurs notions. La première est que, pour les animaux de compagnies la médecine est individuelle, que les propriétaires de chiens et de chats ont tendance à vouloir préciser au maximum le diagnostic du cas de leur animal, et que de fait, un antibiogramme n'est valable que pour un individu. En revanche, la médecine bovine est un domaine où tout un groupe est concerné. Les examens complémentaires ne se font donc pas pour chaque individu du lot ou du troupeau, mais pour tout le groupe, et donc, un antibiogramme est valable pour plusieurs individus. Par ailleurs, les infections bactériennes

chez les bovins étant plutôt communes, celles-ci ne sont pas forcément toutes suivies par un antibiogramme, les habitudes et l'expérience des praticiens étant efficaces en 1^{ère} intention.

Enfin, d'un point de vue épidémiologique, l'antibiogramme permet de suivre l'évolution de la résistance dans une population de souches d'une espèce bactérienne donnée vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques. Il permet ainsi d'identifier l'existence d'une sous-population résistante au sein d'une population de souches bactériennes qualifiée de sensible à ces mêmes antibiotiques, permettant ainsi de mettre en place une antibiothérapie probabiliste dans certains cas [7].

Les rapports du Résapath permettent donc de suivre les tendances d'évolution des résistances des souches bactériennes d'importance en médecine vétérinaire (*Escherichia coli*, Staphylocoques, Streptocoques, Salmonelles, Pasteurelles, et *Pseudomonas spp.*), et de présenter un état des lieux le plus récent possible des profils de résistance bactérienne. Ces bilans présentent les données brutes, issues des antibiogrammes recueillis, de différentes variables (pathologies, antibiotiques, souches bactériennes) pour en avoir une vision détaillée. Ces bilans présentent aussi des points d'informations sur des tendances d'évolution, ou bien sur l'émergence de résistances [110].

b. Principe :

L'antibiogramme a pour objectif de déterminer pour une souche d'une espèce bactérienne préalablement identifiée, sa sensibilité ou non à un ou plusieurs antibiotiques *in-vitro* [7].

Il permet d'obtenir une mesure précise du niveau de sensibilité de la souche bactérienne. Un référentiel permet dans un second lieu de convertir la mesure obtenue en catégorie (sensible (S), intermédiaire (I), résistant (R)), en vue de prédire le succès ou l'échec thérapeutique *in-vivo*. Plus précisément, l'antibiogramme permet la mesure d'une concentration minimale inhibitrice (CMI), c'est-à-dire la plus faible concentration en antibiotique inhibant la croissance bactérienne, ou d'un diamètre d'inhibition, puis leur interprétation sur la base des référentiels fournis par des organisations nationales (Société Française de Microbiologie - SFM) ou européennes (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing- EUCAST, Veterinary Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - VetCAST) ou américaines (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI) [7].

c. Différentes méthodes

Il existe différentes méthodes pour la réalisation d'un antibiogramme. Les méthodes basées sur la mesure de la CMI peuvent être déterminées en milieu solide (la suspension bactérienne est ensemencée sur des géloses nutritives) ou bien en milieu liquide (un milieu nutritif liquide contenant des concentrations croissantes d'antibiotiques). De manière générale, tous milieux confondus, la CMI est déterminée par la plus petite concentration en antibiotique pour laquelle la croissance bactérienne est inhibée, c'est-à-dire la concentration pour laquelle aucun développement bactérien n'est observable à l'œil nu. Par ailleurs, en utilisant les bandelettes Etest®, la CMI est déterminée, en milieu solide, par la concentration indiquée sur la bandelette au niveau du point où la zone d'inhibition recoupe la bandelette.

La seconde méthode est celle de la diffusion en gélose, appelée également méthode des « disques ». Elle consiste à mesurer le diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'une dose calibrée d'antibiotique après incubation. Plus le diamètre est grand, plus la concentration nécessaire pour inhiber la croissance de la bactérie est faible et inversement [7].

Les avantages et les inconvénients de chaque méthode sont présentés dans le tableau ci-après.

Tableau 2 : Avantages et inconvénients des méthodes d'antibiogramme. Source : Auteur.

Milieu	Méthode	Avantages	Inconvénients
Liquide	Macro-méthode	Résultats quantitatifs ou semi-quantitatifs Détermination de la CMI Possibilité de lecture automatisée	Coût élevé Temps de préparation long
	Micro-dilution	Détermination précise de la CMI Facile à réaliser et à interpréter	Coût élevé Temps de préparation long Matériel spécifique nécessaire
Solide	Disques	Détermination d'un diamètre d'inhibition Facile à réaliser et à interpréter Peu de matériel nécessaire Possibilité de lecture semi-automatisée Flexibilité des choix d'antibiotiques Peu coûteux	Choix des antibiotiques limité par gélose Lecture manuelle
	Bandelettes Etest®	Facile à réaliser et à interpréter Peu de matériel nécessaire Détermination précise de la CMI	Coût élevé Maximum de 4 antibiotiques par gélose

En médecine humaine, les deux méthodes cohabitent et sont couramment utilisées. En médecine vétérinaire cependant, la méthode des disques est la plus répandue car plus adaptée au diagnostic de routine. C'est par sa simplicité de réalisation, son adaptabilité et son faible coût que la méthode des disques est devenue la méthode de référence en médecine vétérinaire. C'est celle que nous détaillerons dans les parties suivantes.

d. Réalisation de la méthode des disques

Pour la validité des résultats, en particulier pour les molécules critiques, la méthode des disques doit être réalisée en suivant les normes AFNOR NF U47-106 et NF U47-107 (conformément à l'arrêté du 18 mars 2016, paru dans le Journal Officiel de la République Française le 25 mars 2016).

Pour réaliser l'antibiogramme par la méthode de diffusion par disques, la suspension bactérienne est ensemencée à la surface d'une gélose de culture (gélose de Mueller-Hinton, éventuellement complétée de sang). Des disques préalablement imprégnés d'une concentration donnée d'antibiotique sont déposés à la surface de la gélose. L'antibiotique diffuse dans la gélose à partir du disque, créant ainsi un gradient de concentration. Après un temps d'incubation, le diamètre de la zone d'inhibition défini autour du disque d'antibiotique permet, par comparaison à des valeurs de référence, de définir le statut sensible, intermédiaire ou résistant de la souche bactérienne [83][32].

1. Matériel

Pour réaliser un antibiogramme par la méthode des disques, il est nécessaire de disposer du matériel suivant [83][47] :

- Une souche bactérienne en culture pure obtenue après 18 à 24h d'incubation sur un milieu non-sélectif
- Un écouvillon stérile en coton
- Un tube à essai stérile de taille standard (Ø 16x160 mm - 18 mL) pour la réalisation de la suspension bactérienne et un support à tubes à essais

- Géloses adaptées à la souche bactérienne : Mueller-Hinton, simple (MH) ou enrichie au sang de cheval défibriné et au β -nicotinamide adénine dinucléotide (MH-F)
- Un agitateur Vortex
- Un ensemenceur rotatif
- Un photomètre, ou à défaut les étalons 0,5 et/ou 1 de la gamme de McFarland et une feuille à fond strié
- Disques imprégnés du(des) antibiotique(s) testé(s)
- Un incubateur à 35°C
- Un décimètre ou un pied à coulisse

2. Méthode

i. Préparation de la suspension bactérienne

La suspension bactérienne est préparée à partir d'une culture réalisée 18 à 24h précédemment sur un milieu non-sélectif. Un écouvillon stérile en coton est utilisé pour prélever des colonies bactériennes de même morphologie, évitant la sélection d'un variant atypique. Les colonies sont ensuite émulsionnées dans une solution saline (NaCl 0,9%) et mélangées jusqu'à la turbidité requise (gamme de McFarland) [32].

Un inoculum trop (excès de la concentration de l'inoculum) ou pas assez dense (faible concentration de l'inoculum) peut produire de faux diamètres d'inhibition et ainsi des résultats erronés [32].

Comment mesurer la densité de l'inoculum ?

Il est recommandé d'utiliser un photomètre. En l'absence de photomètre, la turbidité de l'inoculum est comparée visuellement à un étalon 0,5 de la gamme de MacFarland sur un fond en papier strié [83][47] :

- Si la densité est trop faible : des colonies bactériennes sont ajoutées jusqu'à obtention de la densité requise.
- Si la densité est trop forte : de la solution saline est ajoutée jusqu'à obtention de la densité requise.

Remarque : Dans le cas de *Streptococcus pneumoniae* prélevée d'une culture sur **gélose chocolat**, il est recommandé d'utiliser la densité de l'étalon standard 1 de la gamme de McFarland [45]. Il en est de même pour toutes bactéries anaérobies strictes (*Clostridies*, *Fusobacterium* notamment) [32].

L'inoculum est utilisé idéalement dans les 15 minutes, et impérativement dans les 60 minutes suivant sa préparation.

ii. Choix de la gélose

Le milieu standard Mueller-Hinton (MH) est recommandé pour la réalisation d'antibiogramme concernant des bactéries à croissance rapide. Ceci concerne notamment : les Enterobactéries, *Pseudomonas spp*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Acinetobacter spp*, *Stenotrophomonas maltophilia* [83][32].

Le milieu de Mueller-Hinton enrichi (MH-F) est quant à lui recommandé pour la réalisation d'antibiogrammes concernant des souches bactériennes à croissance lente. Ceci concerne notamment : Streptocoques des groupes A, B, C et G, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida*, *Campylobacter jejuni et coli*, *Corynebacterium spp*, *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, Streptocoques du groupe Viridans [83][32].

Le détail de la composition des géloses est disponible en Annexe 3.

iii. Inoculation de la gélose

L'ensemencement doit être réalisé sur des géloses ramenées à température ambiante et sèches. Si des gouttes d'eau sont visibles sur la gélose et/ou le couvercle de la boîte, il est nécessaire de les sécher soit une nuit dans une pièce à 20-25°C, soit 15 min à 35°C. Les conditions d'asepsie doivent être assurées tout au long de la manipulation [32][46].

L'écouvillon en coton stérile est immergé dans la suspension bactérienne. Il est important de retirer l'excès de liquide en tamponnant l'écouvillon sur les bords internes du tube stérile, ceci dans le but d'éviter une sur-inoculation de la gélose, surtout dans le cas des souches bactériennes à Gram négatif. L'ensemencement est réalisé par un écouvillonnage dans 3 directions différentes, décrit dans la figure suivante, ou bien à l'aide d'un ensemenceur rotatif. L'inoculum doit être réparti de façon homogène sur toute la surface de la gélose sans laisser d'espace entre les stries [32][46].

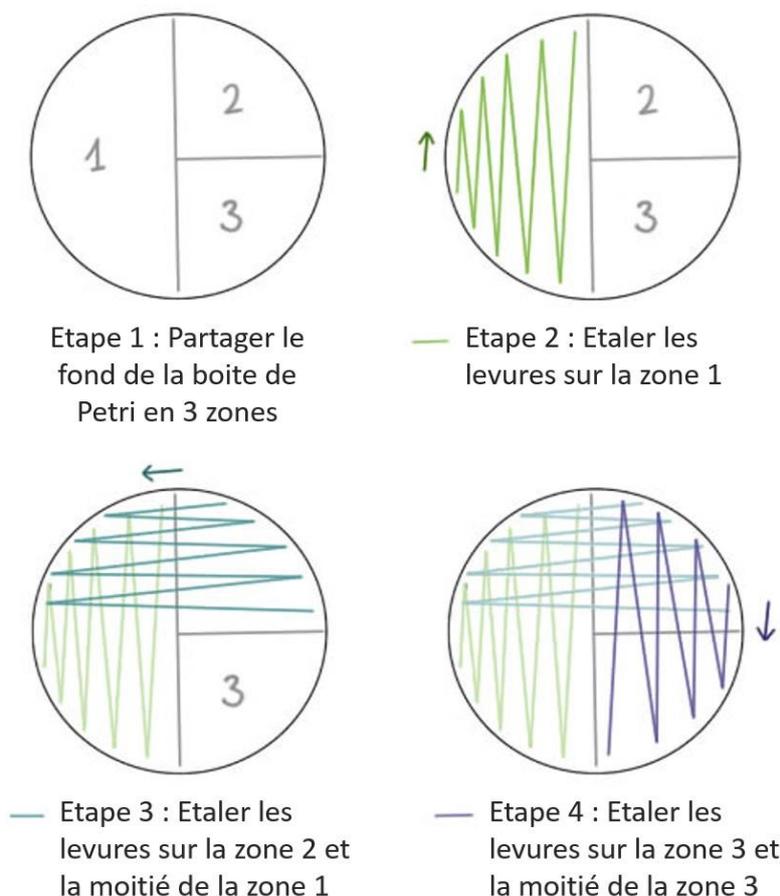


Figure 4 : Encensement dans 3 directions d'un inoculum sur une gélose. Source : Auteur.

Une gélose ensemencée avec un volume correct et homogène présente des cultures confluentes ainsi que des zones d'inhibition nettes et toutes circulaires. Dans le cas contraire, les zones d'inhibition sont déformées, ou bien superposées, entraînant ainsi des difficultés de lecture des résultats [32][46].

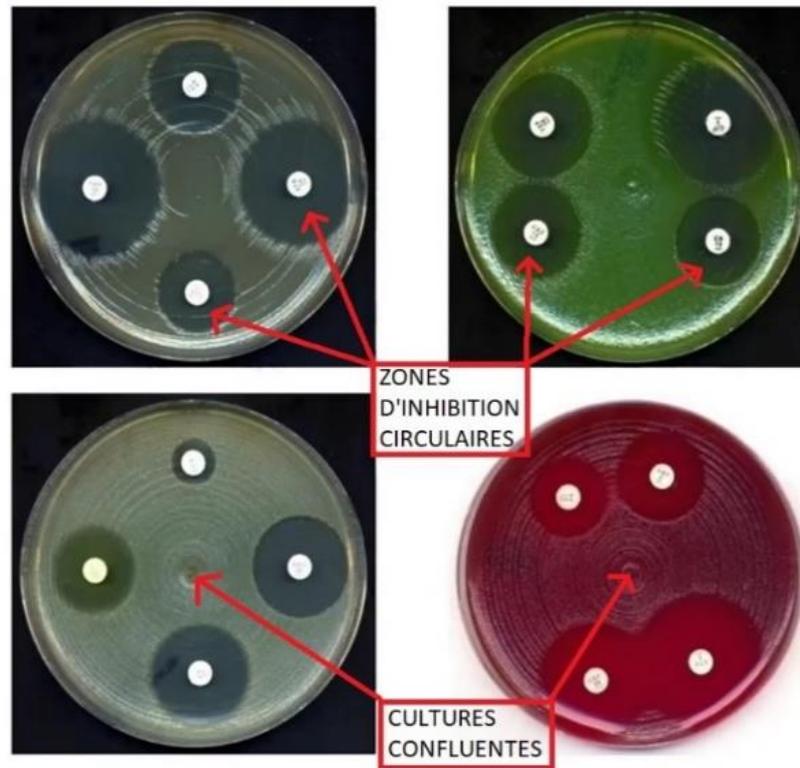


Figure 5 : Exemples de géloses correctement ensemencées. Source : Auteur.

iv. Critères de sélection des disques d'antibiotiques

Les recommandations de la CA-SFM établissent par espèce, ou groupe bactérien, deux listes d'antibiotiques à utiliser lors de la réalisation d'un antibiogramme [32].

La première de ces listes représente les antibiotiques à utiliser pour un antibiogramme dit « Standard ». Ces molécules dépendent du couple bactérie/molécule et correspondent aux antibiotiques naturellement efficaces contre la souche bactérienne, et ce, d'après les mécanismes de résistance naturelle de cette espèce bactérienne. Cette liste comprend aussi des antibiotiques à spectre large et des antibiotiques à spectre étroit ayant la souche bactérienne dans leur spectre.

La seconde liste représente des antibiotiques dits « Complémentaires ». Ceux-ci ont un intérêt épidémiologique, notamment celui de détecter des mécanismes de résistance.

Ces antibiotiques sont qualifiés de « Antibiotiques Marqueurs », ils permettent la détection de mécanismes de résistance plus ou moins marqués, car ce sont des molécules, qui, au sein d'un groupe d'antibiotiques, sont les plus affines pour ces mécanismes, et permettent donc leur mise en évidence.

L'ensemble de ces antibiotiques pour la médecine vétérinaire, d'après les recommandations vétérinaires de la CA-SFM d'Avril 2020, ainsi que les mécanismes qu'ils mettent en évidence et les conséquences thérapeutiques sont présentées dans le Tableau 3 ci-après [33]. Pour une espèce bactérienne non-couverte par les recommandations vétérinaires, se référer aux recommandations de la CA-SFM pour la médecine humaine. Faire donc attention aux

molécules antibiotiques qui y sont utilisées, et leur possibilité d'emploi en médecine vétérinaire (antibiotiques critiques, molécules disponibles en médecine vétérinaire, molécules autorisées pour les animaux de production).

D'autres antibiotiques sont qualifiés « d'Equivalent ». En effet, ces molécules permettent de représenter tout un groupe d'antibiotiques. Ces molécules mettent en évidence des mécanismes de résistance auxquels tous les antibiotiques d'un même groupe sont sensibles. Ceci permet de justifier l'utilisation d'un nombre restreint d'antibiotiques pour la réalisation d'un antibiogramme. Les résultats (Résistant, Intermédiaire, Sensible) peuvent être étendus à toutes les molécules du groupe auquel appartient la molécule antibiotique utilisée. En médecine vétérinaire, ces antibiotiques sont [33] :

Tableau 4 : Listes des antibiotiques « Equivalents » utilisables pour la réalisation d'un antibiogramme en médecine vétérinaire [33].

Antibiotique « Equivalent »	Interprétation
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole	Résultats valables pour toutes les associations de Sulfamides et Triméthoprim
Tétracyclines	<ul style="list-style-type: none"> ○ <u>Streptocoques et Staphylocoques</u> : interprétations valables pour oxytétracycline, chlortétracyclines, et doxycycline. ○ <u>Entérobactéries et Pasteurelles</u> : interprétations valables pour oxytétracycline et chlortétracyclines.
Acide oxolinique / Fluméquine	Les résultats pour l'un valent pour l'autre et inversement.
Fluoroquinolones	Interprétations croisées entre les molécules de ce groupe, les résultats pour l'une d'entre elles sont valables pour les autres.
Gentamicine	Une résistance détectée pour cette molécule équivaut à une résistance aux autres aminoglycosides (sauf Streptomycine et Néomycine).

Tableau 3 : Liste des antibiotiques marqueurs de mécanismes de résistance bactérienne, utilisables pour la réalisation d'un antibiogramme, les mécanismes mis en évidence et leurs conséquences thérapeutiques en médecine vétérinaire [33].

Antibiotiques marqueurs	Résistance mise en évidence	Interprétation
Amoxicilline, Amoxicilline et Acide Clavulanique, Céfoxitine, Cefquinome, Céfalexine, et Ceftiofur	<p>Selon le profil de résultats obtenus :</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>Bêta-Lactamase à Spectre Étendu (BLSE)</u> : Amoxicilline R, Amoxicilline + Acide Clavulanique S/I/R, Céfalexine (S/I)/R*, Céfoxitine S, Ceftiofur (S)/I/R*, Cefquinome (S)/I/R* - <u>Céphalosporinase de Haut Niveau (CHN)</u> : Amoxicilline R, Amoxicilline + Acide Clavulanique R, Céfalexine R, Céfoxitine R, Ceftiofur (S)/I/R*, Cefquinome S/I(R)* 	Résistance à toutes les bêtalactamines disponibles en médecine vétérinaire.
Acide nalidixique	Résistance de premier niveau aux Fluoroquinolones (détection d'une ADN gyrase bactérienne modifiée peu affine à cette classe de molécules).	Résistance à l'acide oxolinique et à la fluméquine.
Pénicilline G	Détection de la production de pénicillinases.	Résistance aux autres pénicillines hydrolysables (amino-, carboxy-, et uréido-pénicillines).
Céfoxitine	Recherche de résistance aux isoxazolyl-pénicillines (oxacilline, cloxacilline), résistance en lien avec la présence du gène <i>mecA</i> codant une protéine PLP2A (Protéine Liant la Pénicilline) moins affine aux bêtalactamines.	Une résistance détectée pour cet antibiotique, ou la détection du gène <i>mecA</i> avec ou sans détection de la PLP2A, implique une résistance aux pénicillines et aux céphalosporines.
Oxacilline	<ul style="list-style-type: none"> ○ Marqueur de résistance à la méticilline pour les Staphylocoques à coagulase négative et <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>. ○ Marqueur de résistance à la pénicilline G pour les Streptocoques (sauf <i>S.uberis</i>), avec un diamètre critique de 21mm. Au-delà de ce diamètre, la souche est sensible à la pénicilline G, et ce résultat est prédictif pour les autres bêta-lactamines ayant les Streptocoques dans leur spectre, en deçà de 21mm, les CMI de l'amoxicilline et de l'ampicilline sont à déterminer. 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Résistance à toutes les bêtalactamines. ○ Résistance aux autres pénicillines hydrolysables (amino-, carboxy-, et uréido-pénicillines).
Céfovécine	Marqueur de résistance à la méticilline pour <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> .	Résistance à toutes les bêtalactamines
Streptomycine ou Gentamicine (500 µg), Kanamycine (1000 µg)	Détection de résistance de haut niveau (HNR) aux aminoglycosides. Ce type de résistance est détecté avec des disques fortement chargés de l'un de ces 3 aminoglycosides, et pour lesquels, une HNR est mise en évidence si, associés à une pénicilline, il y a disparition de leur effet bactéricide <i>in vitro</i> .	Une HNR à la Gentamicine implique une HNR à la Kanamycine, à la Tobramycine, et à l'Amikacine.

*les phénotypes entre parenthèses sont peu fréquents.

L'ensemble des informations (molécules antibiotiques, charge des disques, diamètres critiques, et règles d'interprétation) sont regroupées, par la CA-SFM, sous formes de tableau par espèce bactérienne. Comme dans l'exemple suivant, extrait des recommandations vétérinaires 2020 de la CA-SFM, pour les *Enterobacterales* [33].

Tableau 5 : Liste des antibiotiques à tester, leurs concentrations et valeurs en médecine vétérinaire pour *Enterobacterales* [33].

Antibiotique	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Kanamycine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Néomycine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Streptomycine	10 µg	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13
Apramycine	15 µg	≤ 16	> 16	≥ 15	< 12
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21
Enrofloxacin	5 µg	≤ 2	> 2	≥ 19	< 19
Marbofloxacin	5 µg	≤ 2	> 2	≥ 19	< 19
Danofloxacin	5 µg	-	-	≥ 19	< 19
Difloxacin	10 µg	-	-	≥ 26	< 20
Pradofloxacin	5 µg	-	-	≥ 19	< 19
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12
Triméthoprime	5 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 12
Triméthoprime/ Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 8/152	≥ 16	< 10
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 16	≥ 21	< 14
Amoxicilline/ ac. clavulanique	20 /10 µg	≤ 4 /2	> 16/8	≥ 21	< 14
Céfalexine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Ceftiofur	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 18
Céfovécine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 18
Cefquinome	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 22	< 19
Céfopérazone	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 14
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 22	< 19
Florfénicol	30 µg	-	-	≥ 19	< 19
Tétracycline	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Doxycycline	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 18	< 15

L'ensemble des molécules et la charge en antibiotique à tester par espèce bactérienne, sont regroupées dans l'Annexe 4.

v. *Dépôt des disques d'antibiotiques et incubation*

Il est recommandé de laisser les disques atteindre la température ambiante de la pièce, à l'intérieur de leur cartouche ou conteneur de stockage afin d'éviter une condensation qui pourrait conduire à une détérioration des certaines molécules antibiotiques.

Le dépôt des disques se fait à la main à l'aide d'une pince, ou bien grâce à un distributeur automatique de disques. Les disques doivent être en contact ferme avec la gélose et ne doivent pas être déplacés par la suite. Pour contrôler cela, il est conseillé de retourner la gélose pour vérifier que les disques ne tombent pas [83].

Il est important de limiter le nombre de disques présents sur une gélose, ceci dans le but d'éviter que les zones d'inhibition de chaque disque ne se recoupent entre elles, ainsi que les interactions entre molécules antibiotiques. Il est recommandé de disposer 6 disques maximum pour une boîte de 90mm de diamètre, 12 pour une boîte de 150 mm de diamètre et 16 pour une boîte carrée de 120mm de côté. De manière générale, il est recommandé de les disposer à une distance de 60 mm les uns des autres. Cependant, les disques d'érythromycine et de clindamycine doivent être placés à une distance de 12-20 mm bord à bord afin de détecter la résistance inductible aux lincosamides chez les Staphylocoques et les Streptocoques [32].

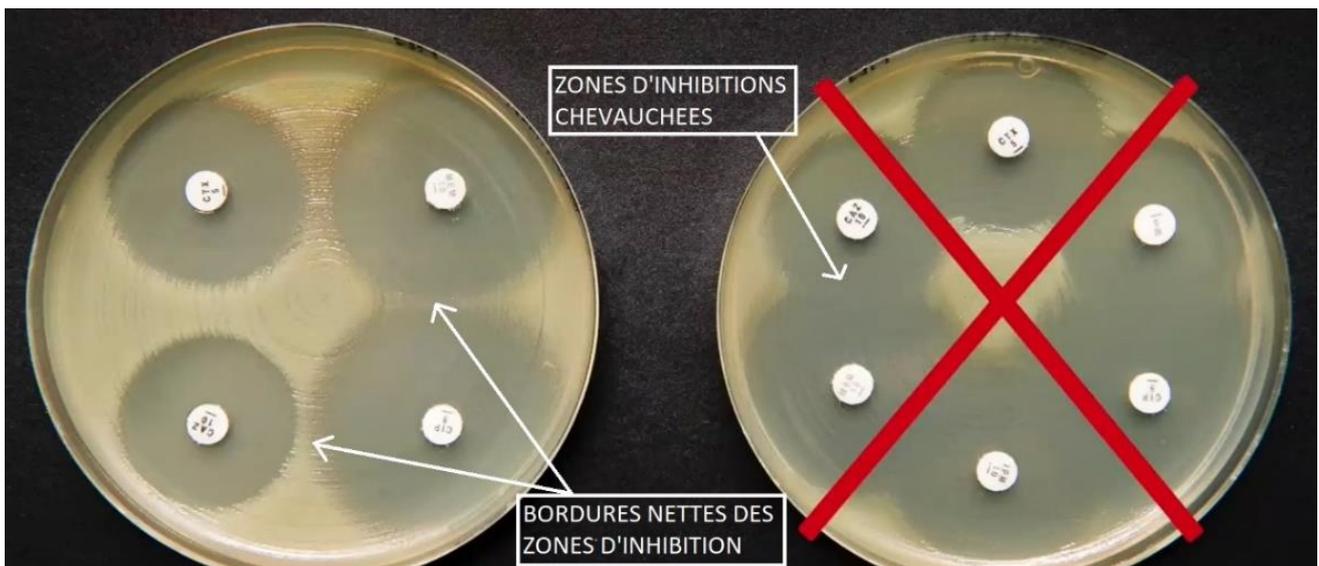


Figure 6 : Importance du nombre de disques sur la gélose (référence). Source : Auteur.

La mise en incubation doit se faire dans les 15 minutes suivant le dépôt des disques sur la gélose sans dépasser les 60 minutes. Il est recommandé de réaliser des empilements de boîtes les plus petits possibles pour éviter un chauffage inégal au cours de l'incubation. L'incubation doit durer de manière standard entre 16 et 24h. Cette durée peut être changée selon les agents bactériens étudiés, en suivant les recommandations du CA-SFM.

Il est nécessaire d'incuber les boîtes comme indiqué dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : conditions d'incubation des géloses pour l'antibiogramme [32].

Souche bactérienne	Milieu de croissance	Conditions d'incubation
<i>Enterobacterales</i> : <i>E.coli</i> et <i>Salmonella spp.</i>	Gélose Mueller-Hinton	35±2°C en aérobiose 16 à 24 h
<i>Pseudomonas spp.</i>	Gélose Mueller-Hinton	35±2°C en aérobiose 16 à 24 h
<i>Pasteurella spp.</i>	Gélose MH-F	35±2°C en présence de concentration proche de 5% CO ₂ en aérobiose 16 à 24 h
<i>Staphylococcus spp.</i>	Gélose Mueller-Hinton	35±2°C en aérobiose 16 à 24 h
<i>Streptococcus spp.</i>	Gélose MH-F	35±2°C en présence de concentration proche de 5% CO ₂ en aérobiose 16 à 24 h

e. Analyse des résultats

i. Lecture

La lecture de l'antibiogramme est effectuée après incubation de 16 à 24h. La lecture des zones d'inhibition est réalisée à complète inhibition de la culture à l'œil nu, la gélose placée à environ 30 cm de l'œil. Il est recommandé d'utiliser une lumière réfléchiée, et non une source lumineuse directement sur la boîte de Petri (sauf lampe spécifiquement recommandée par l'EUCAST/CASFM). La mesure précise du diamètre de la zone d'inhibition en millimètres est réalisée avec un décimètre ou un pied à coulisse, mais un lecteur automatique peut aussi être utilisé après calibrage de ce dernier [32].

Dans le cas d'une gélose MH, la lecture se fait sur le dos de la boîte, sur un fond noir. En revanche, pour une gélose MH-F, la lecture se fait face à la boîte de Petri, couvercle enlevé sur un fond clair comme présenté ci-dessus.

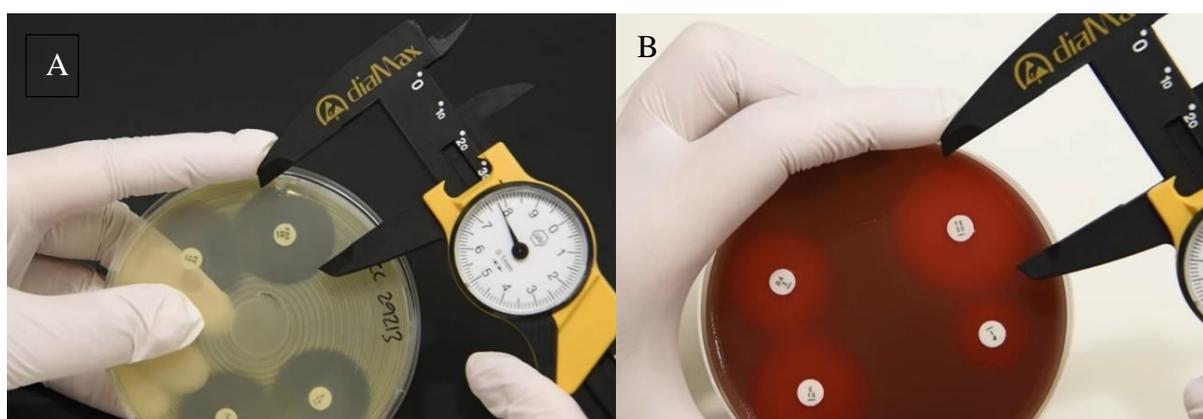


Figure 7 : Mesures du diamètre d'inhibition sur gélose MH (A) et MH-F (B) [48].

Il est possible que des colonies isolées puissent être observées au sein de la zone d'inhibition. Ceci peut provenir d'une contamination du milieu de culture, il est donc nécessaire d'en contrôler la pureté, le cas échéant, il faut refaire la suspension bactérienne au complet.

Cependant, si les cultures isolées sont apparues malgré la pureté de la suspension, il faut alors prendre en compte leur présence dans la mesure du diamètre de la zone d'inhibition.

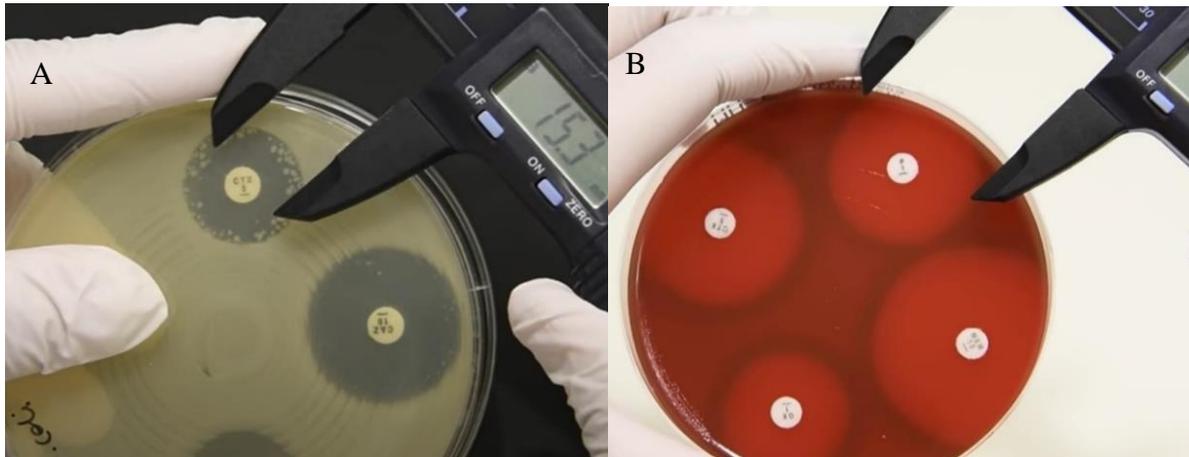


Figure 8 : Mesures du diamètre d'inhibition sur gélose MH (A) et MH-F (B) avec présence de colonies isolées dans la zone d'inhibition [48].

Par ailleurs, lorsque les bordures des zones d'inhibition sont floues, le lecteur doit suivre les instructions standard de lecture (*cf. ci-dessus*) et estimer les bords de la zone d'inhibition.



Figure 9 : Mesures du diamètre d'inhibition sur gélose MH présentant des bordures floues [48].

ii. Interprétation

Une fois le diamètre de la zone d'inhibition mesuré, celui-ci est reporté dans des abaques de valeurs de référence éditées par la CA-SFM. Ces tableaux regroupent les données permettant d'établir, à partir du diamètre de la zone d'inhibition, le statut d'une souche bactérienne vis-à-vis des antibiotiques testés [32].

Il existe trois catégories cliniques pour l'interprétation d'un antibiogramme [32] :

- Les souches dites « Sensibles », sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte en cas de traitement systémique avec une posologie recommandée par le résumé des caractéristiques du produit (RCP) [32].

- Les souches dites « résistantes » sont celles pour lesquelles un échec du traitement est fort probable [32].
- Les souches dites « Intermédiaires » sont les souches pour lesquelles le résultat in vitro n'est pas prédictible de l'évolution thérapeutique : le succès ou l'échec thérapeutique est imprévisible [32].

Ces concentrations critiques sont issues des concentrations sériques obtenues chez l'Homme à la suite d'un traitement antibiotique par voie systémique.

Le principe général de détermination de la catégorie clinique selon le diamètre d'inhibition mesuré est présenté dans les illustrations suivantes :

Tableau 7 : Critères généraux de catégorisation selon les valeurs critiques. Source : Auteur

	Diamètre \varnothing (mm)
Sensible	$\varnothing \geq D$
Résistant	$\varnothing < d$
Intermédiaire	$d \leq \varnothing < D$

En prenant des valeurs de $d = 20$ mm et de $D = 25$ mm, si le diamètre mesuré sur l'antibiogramme est supérieur à 25 mm, la souche est « Sensible » à l'antibiotique testé, si le diamètre mesuré est inférieur à 20 mm, la souche est « Résistante » à l'antibiotique testé, et si le diamètre mesuré est compris entre 20 et 24 mm, la souche est dite « Intermédiaire », le succès thérapeutique de l'antibiotique testé est imprévisible.

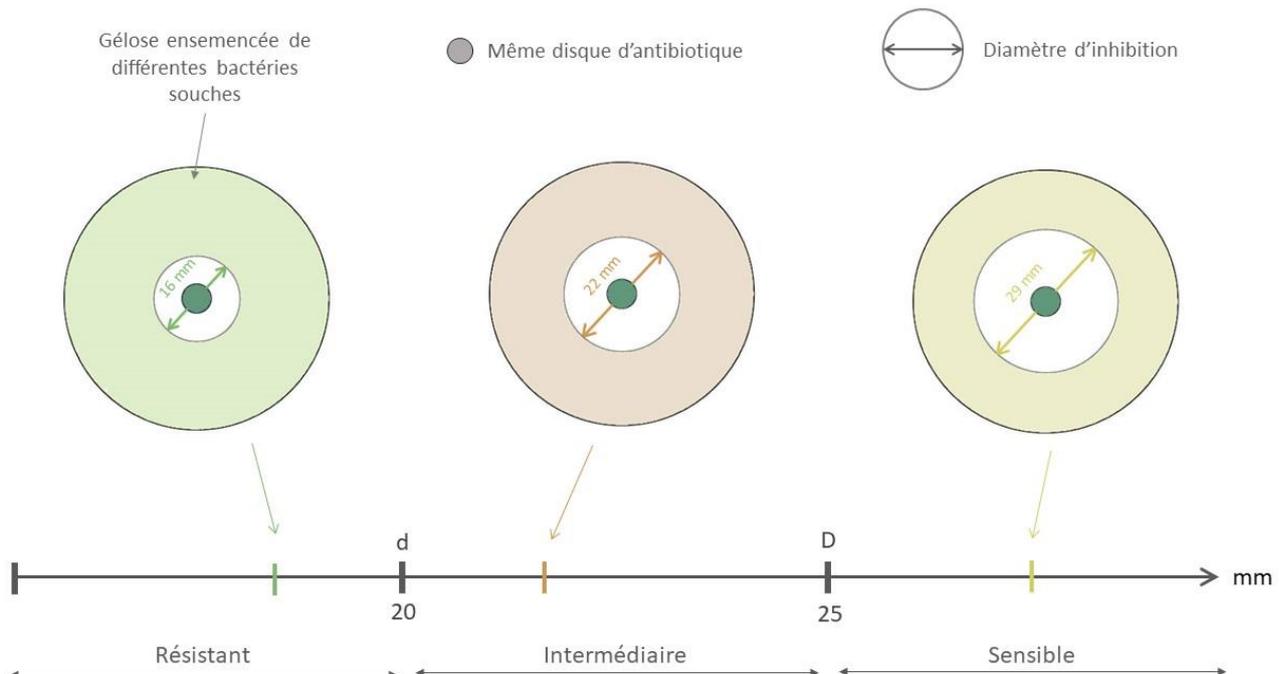


Figure 10 : Exemple n°1 : Principe général de lecture et d'interprétation d'antibiogrammes pour le cas où un seul antibiotique est testé. Source : Auteur.

Dans une représentation plus générale, et de la même manière que précédemment, la Figure 11 présente le résultat obtenu lorsque plusieurs antibiotiques sont testés pour une même souche bactérienne.

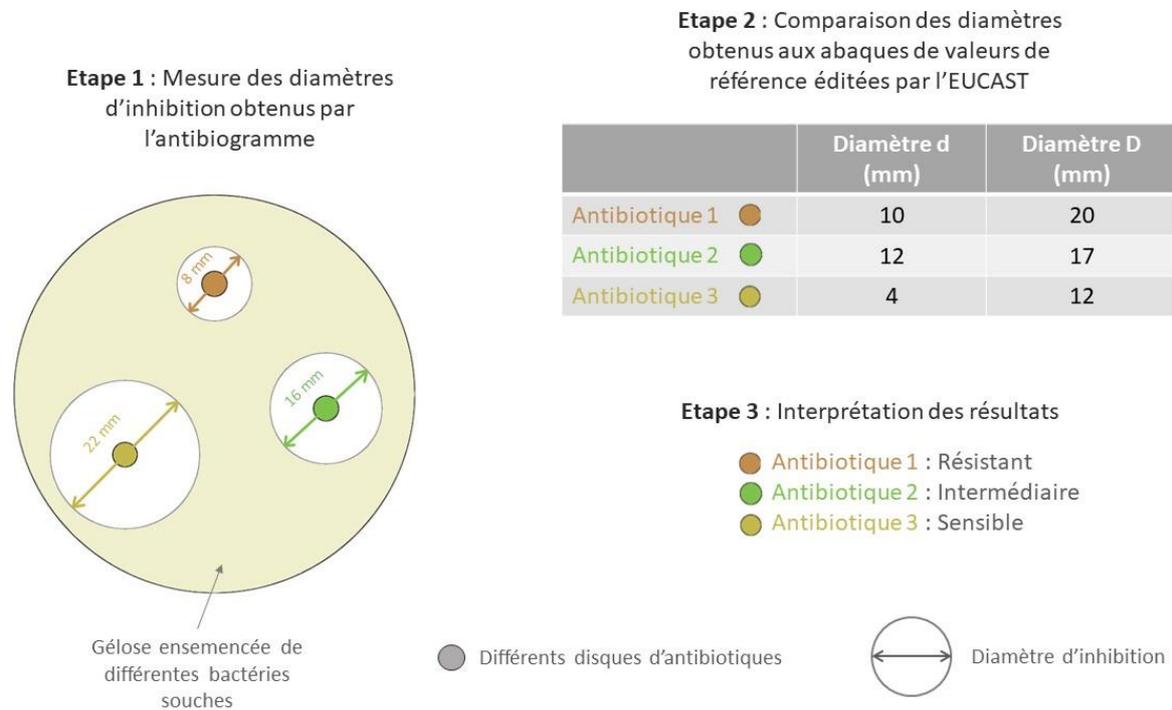


Figure 11 : Exemple n°2 : Principe général des résultats obtenus après réalisation d'un antibiogramme par la méthode des « disques » pour trois antibiotiques testés. Source : Auteur.

Pour la CA-SFM, la médecine vétérinaire représente une catégorie à part. En effet, pour ce domaine la CA-SFM a établi une liste de 5 genres bactériens : *Enterobacterales* (en particulier *Escherichia coli* et *Salmonella spp.*), *Pasteurellaceae*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.*, et *Streptococcus spp.* Pour chacun de ces genres bactériens, la CA-SFM a établi des tableaux regroupant les concentrations en antibiotique, les diamètres critiques et les règles de lecture. Toutes ces valeurs sont spécifiques à la médecine vétérinaire [33]. Celles-ci ont été établies par un groupe de travail vétérinaire de la CA-SFM, se basant sur un ensemble de données épidémiologiques propres à la médecine vétérinaire [33].

Cependant, dans le cas où un autre genre bactérien, que ceux cités ci-dessus, est détecté lors d'une infection chez un animal, le praticien vétérinaire doit se référer aux données de la CA-SFM pour la médecine humaine. Dès lors, les raisonnements se font par analogies, et l'inconvénient majeur réside dans le fait que la concentration plasmatique d'un antibiotique chez un humain, n'est pas la même pour une autre espèce. Ceci fait que l'antibiogramme réalisé perd alors de sa valeur prédictive.

f. Législation et réglementation encadrant l'utilisation de l'antibiogramme

En France, la législation encadrant l'utilisation de l'antibiogramme est intrinsèquement liée à celle des antibiotiques dits « critiques ». En effet, la réglementation a été établie par le décret n° 2016-317 du 16 mars 2016, paru au Journal Officiel de la République Française le 18 mars 2016 et entré en vigueur le 1^{er} avril 2016. Ce décret établit un cadre « relatif à la prescription et à la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs

substances antibiotiques d'importance critique », il concerne à la fois « vétérinaires ; pharmaciens d'officine ; fabricants d'aliments médicamenteux ; laboratoires d'analyses biologiques ». Les restrictions en vigueur du fait de ce décret sont disponibles en annexe (Annexe 2 - Extrait du JORF du 16 Mars 2016).

Les substances antibiotiques d'importance critique sont définies par une liste de substances actives, par les articles L.5144-1-1 et R.5141-117-2 de l'arrêté du 18 mars 2016 [39].

Ces substances sont définies comme des « *substances antibiotiques d'importance critique (...) dont l'utilisation doit être prioritairement préservée dans l'intérêt de la santé humaine et animale* » [39]. La liste de ces substances a été fixée par arrêté des ministres chargés de l'Agriculture de la Santé, après avis de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, et de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé [109].

Tableau 8 : Substances antibiotiques critiques en médecine vétérinaire selon la réglementation en vigueur [109].

Famille d'appartenance	Nom de la substance
Céphalosporines de 3^{ème} génération	Céfopérazone
	Céftiofur
	Céfovécine
Céphalosporines de 4^{ème} génération	Céfquinome
Fluoroquinolones	Danofloxacin
	Enrofloxacin
	Marbofloxacin
	Orbifloxacin
	Pradofloxacin

Ainsi, ces antibiotiques ne doivent pas être utilisés en première intention sauf en absence d'une autre molécule efficace pour la prise en charge thérapeutique de l'infection bactérienne. Cependant, leur prescription doit être subordonnée « à la réalisation préalable d'un examen clinique », « à la réalisation préalable d'un examen complémentaire visant à identifier la souche bactérienne » et « à la réalisation préalable d'un examen complémentaire visant à démontrer la sensibilité de la souche bactérienne identifiée à cet antibiotique au moyen d'un test de sensibilité réalisé selon une des méthodes fixées par arrêté conjoint des ministres chargés de la santé et de l'agriculture » selon les articles L.5144-1-1 et R.5141-117-2 de l'arrêté du 16 mars 2016 [39].

Néanmoins, en cas d'urgence (septicémie, choc toxique...), ceux-ci peuvent être prescrit en 1^{ère} intention selon le contexte clinique et épidémiologique, « lorsqu'il s'agit d'un cas aigu d'infection bactérienne pour laquelle un traitement avec d'autres familles d'antibiotiques serait insuffisamment efficace ». En parallèle, il a l'obligation de réaliser un antibiogramme. Toutefois, « dans un délai de quatre jours après la prescription, le vétérinaire adapte le traitement en fonction de l'évolution du contexte clinique et épidémiologique et des résultats des examens complémentaires portés à sa connaissance. » [39].

Ainsi, en fonction des résultats d'analyses et de l'évolution clinique, l'antibiothérapie devra être adaptée. Les résultats de l'antibiogramme sont valables 3 mois pour la même affection du même animal ou animal du même site, avec une ordonnance valable 1 mois. Après ce délai, et

en vue d'une prolongation du traitement, un examen clinique devra être fait. Les résultats de l'antibiogramme doivent être conservés pendant une durée de 5 ans [39].

Pour justifier la prescription d'un antibiotique critique, seul l'antibiogramme réalisé par la méthode des « disques » selon les normes NF U47-106 et NF U47-107 et la méthode de dilution en milieu liquide sont recevables par la réglementation, y compris pour les antibiogrammes réalisés en clinique vétérinaire par le praticien [24]. Les kits colorimétriques antibiogrammes, et tests rapides ne peuvent être utilisés pour justifier la prescription d'antibiotique critique.

Récemment, l'entreprise BIOMÉRIEUX (Marcy-L'Etoile, 69280 France) a développé un système automatisé réalisant l'identification et l'antibiogramme automatisé de bactéries, ainsi que des tests de CMI : le système VITEK®2. En 2019, l'utilisation de ce système a été validée par l'ANSES pour la réalisation de tests de sensibilité aux antibiotiques de souches bactériennes d'origine animale. De plus, conforme au cahier des charges du 28 mars 2019/norme NF EN ISO 20776-2, ce système est valide vis-à-vis de ses résultats par rapports aux antibiotiques critiques en médecine vétérinaire, et donc valide dans la prescription de ces antibiotiques. Ce système est donc valide pour les couples « Antibiotique/Souche bactérienne » suivants [6] :

- Céftiofur/ Entérobactéries
- Cefquinome/ Entérobactéries
- Enrofloxacin/ Entérobactéries
- Marbofloxacin/ Entérobactéries
- Marbofloxacin/ *Staphylococcus spp.*

II. Intérêt des antibiogrammes dans la détection des mécanismes de résistance des bactéries impliquées dans les infections chez l'animal :

1. Mécanismes de résistance mis en évidence :

L'antibiogramme est un outil diagnostique qui permet de mettre en évidence les mécanismes de résistance acquise par une souche bactérienne. D'après l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), la notion de résistance acquise se définit comme « *l'apparition, au sein d'une souche d'une espèce bactérienne, d'une résistance vis-à-vis d'une molécule antibiotique contre laquelle elle était sensible auparavant.* ». L'acquisition de ces mécanismes de résistance peut se faire de plusieurs manières : par mutation aléatoire du génome bactérien, ou bien par transmission par une autre bactérie de matériel génétique (plasmide, transposon) porteur d'un ou de plusieurs gènes de résistance.

Par ailleurs, il faut bien distinguer la résistance acquise d'un autre type de résistance, qu'est la résistance naturelle. Cette dernière apparaît lorsque toutes les souches d'une même espèce bactérienne sont résistantes à un antibiotique, elles sont connues par avance et ne sont donc pas mises en évidence par un antibiogramme. Ces résistances étant dues au principe même d'action des molécules antibiotiques, elles représentent leur spectre d'action et expliquent pourquoi certains antibiotiques sont sans effets sur certaines espèces bactériennes.

2. Les mécanismes de résistance acquise :

Il existe 4 grandes catégories de mécanisme de résistance acquise :

- Production d'enzymes : enzymes produites pas la souche bactérienne et qui vont modifier un ou plusieurs éléments du mécanisme d'action de la molécule antibiotique.
- Efflux actif : production d'enzymes agissant comme des pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques à l'extérieur de la bactérie.
- Modification de la cible : mutation du génome bactérien entraînant une altération de la cible de l'antibiotique, rendant sa reconnaissance difficile.
- Imperméabilité : modification des porines, canaux protéiques facilitant le transport des nutriments à travers la membrane externe des bactéries à Gram négatif. Elles sont soit spécialisées, soit de diffusion générale.

Ces mécanismes de résistance acquise se traduisent par des résistances croisées ou semi-croisées. Une résistance croisée correspond à une résistance à toutes les molécules antibiotiques de la même famille (il s'agit surtout des mécanismes de résistance par modification de la cible ou d'imperméabilité pour les molécules de haute masse moléculaire (supérieure à 1500 Da)). Une résistance semi-croisée, quant à elle, correspond à une résistance à certains antibiotiques d'une même famille (c'est le cas des résistances par mécanismes d'efflux actif, de production d'enzymes, et d'imperméabilité pour les molécules de masse moléculaire inférieure à 1500 Da). D'un point de vue clinique, les résistances croisées pour une souche bactérienne impliquent que tous les antibiotiques d'une même famille sont inutilisables contre cette bactérie.

Les résistances semi-croisées impliquent que pour une souche bactérienne, seules certaines molécules d'une famille d'antibiotiques seront efficaces.

3. Mécanismes de résistances présents chez les pathogènes bactériens prévalent en médecine vétérinaires :

Les mécanismes de résistance des principales bactéries pathogènes en médecine vétérinaire sont présentés ci-dessous :

a. Staphylocoques

1. Présentation

Les bactéries du genre Staphylocoques sont à Gram positif. Elles sont facilement cultivables sur les milieux de culture usuels tels que la gélose Mueller-Hinton à 35°C en aérobiose pendant 16 à 24 heures [33]. Elles sont aérobies-anaérobies facultatives donc à métabolisme mixte. Elles sont catalase positive et la présence ou l'absence de coagulase est utilisée pour les diviser en deux groupes. C'est une classification très utile puisque les Staphylocoques à coagulase négative sont moins virulents et sont la plupart du temps responsables d'infections opportunistes. Les Staphylocoques à coagulase positive sont potentiellement pathogènes. *S. aureus* sont les plus courants, ses colonies sont de couleur jaune à doré due à la présence de pigments caroténoïdes qui se forment au cours de leur croissance [85].

Ce sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses. Elles peuvent se transmettre de façon directe et indirecte : elles sont résistantes dans le milieu extérieur et résistantes aux agents physico-chimiques. Ce sont des bactéries pyogènes responsables de suppurations superficielles ou profondes et syndromes toxémiques. *S. aureus sp aureus* sont notamment

responsables de mammites et de métrites chez les bovins et de toxi-infection alimentaire chez l'Homme. *S. pseudintermedius* est très présent chez le chien et est à l'origine de pyodermites superficielles ou profondes [51].

2. Mécanisme(s) de résistance(s)

Résistances aux Bêtalactamines

La résistance aux bêtalactamines est conférée par deux mécanismes. L'un est extrinsèque et correspond à la production d'enzymes inactivant l'antibiotique. La seconde est intrinsèque et passe par la modification des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par l'acquisition de nouvelles protéines de liaison [107] :

- Production de bêta-lactamases : une bêta-lactamase est une enzyme qui hydrolyse le cycle bêta-lactame des pénicillines, ce qui les inactive. La production d'une pénicillinase entraîne une résistance à la pénicilline G et aux pénicillines A (ampicilline, amoxicilline, etc.). Le gène *blaZ* code pour les pénicillinases des staphylocoques, celui-ci peut être porté par un transposon ou par le chromosome. La sensibilité aux bêtalactamines est restaurée en présence d'un inhibiteur de type acide clavulanique [84].
- Production d'une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle (PLP2a) : les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) sont des protéines possédant une activité enzymatique impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les bêtalactamines. Les PLP sont une cible d'action des pénicillines. En produisant une PLP moins affine, les bêtalactamines n'ont plus de site de liaison possible avec les staphylocoques, ce qui confère alors une résistance à toute la famille des bêtalactamines.

Résistance aux Aminosides

La streptomycine et les autres aminosides sont issus de groupes chimiquement distincts et donc ne seront pas concernés par les mêmes mécanismes de résistance. La résistance aux aminosides, autres que la streptomycine, est due à la production d'enzymes codées par des gènes plasmidiques qui inactivent les aminosides en modifiant leurs sites de liaison. Trois grands phénotypes existent :

- Phénotype K : résistance de haut niveau à la Kanamycine, à l'Amikacine et à la Tobramycine, due à une phosphorylase (APH-3').
- Phénotype KT : résistance de haut niveau à la Kanamycine, à l'Amikacine et à la Tobramycine due à une adénylase (ANT-4').
- Phénotype KTG : résistance de haut niveau à Kanamycine, Amikacine, Tobramycine, Nétilmicine et Gentamicine, induite par la présence d'une enzyme bifonctionnelle ayant des activités de phosphorylation et d'acétylation (APH-2''-AAC-6').

La streptomycine n'est pas altérée par la présence des enzymes citées ci-dessus. Cependant, des mutations chromosomiques existent et provoquent l'altération du site de liaison ribosomal conférant une résistance à la streptomycine [107][90].

Résistance aux Macrolides

La résistance est due à une modification de la cible. Une enzyme méthylase réalise, en effet, la méthylation d'une adénine de la sous-unité 23S de l'ARN ribosomique (ARNr) diminuant l'affinité entre les macrolides et leur cible. La production de cette enzyme est sous le contrôle des gènes *erm* (erythromycin ribosome methylation). Ces méthylases sont codées par les gènes *erm* dont il existe un grand nombre de variant. Les variants *ermA* et *ermC* sont essentiellement présents chez les staphylocoques. Le support des gènes est chromosomique ou plasmidique. Cette résistance peut être constitutive, dans ce cas la bactérie est résistante d'emblée aux macrolides, lincosamides, et à la streptogramine B (MLSB). Elle peut également être inductible et nécessiter la présence d'inducteurs pour s'exprimer. Chez les staphylocoques, les inducteurs sont les macrolides en C14 et C15 (érythromycine notamment), la clindamycine et les lincosamides sont alors sensibles [54][120].

Une résistance par système d'efflux est également décrite. Le transporteur protéique empêche l'accumulation de l'antibiotique dans la cellule, celui-ci n'est alors plus présent en quantité suffisante pour être efficace. Les gènes *mrsA* et *mrsB* sont responsables d'une résistance vis-à-vis des macrolides en C14 et C15. Les gènes *vga*, *vgaB* codent pour des protéines d'efflux du composé A des synergistines.

Enfin, une résistance par la production d'enzymes inactivatrices qui modifient l'antibiotique et diminuent leur affinité pour le ribosome existe. Ces enzymes peuvent appartenir à la classe des hydrolases (gènes *vgb* et *vgbB* pour virginiamycine facteur B hydrolase), des acétyltransférases (gènes *linA* et *vat*) ou des phosphotransférases (gène *mphC*) est décrite [112][90].

Tableau 9 : Principaux mécanismes, supports et phénotypes de résistance acquise aux macrolides et apparentés chez les cocci à Gram positif [107].

Mécanisme	Support de résistance	Rôle	Macr. (C14)	Macr. (C15)	Macr. (C16)	Linco.	Clinda.	Strept. B	Strept. A	SgA + SgB
Modification de la cible	<i>erm</i> inductible	Méthylase	R	R	S	S	S	S	S	S
	<i>erm</i> constitutif	Méthylase	R	R	R	R	R	R	S	S/I
Inactivation	<i>lin A</i>	Acétase	S	S	S	R	S/I	S	S	S
	<i>Vat</i>	Acétase	S	S	S	S	S	S	R	I/R
	<i>Vgb</i>	Hydrolase	S	S	S	S	S	R	S	R
Efflux	<i>Vga</i>	Pompe	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>Mef</i>	Pompe	R	R	S	S	S	S	S	S
	<i>Msr</i>	Pompe	R	R	S	S	S	R	S	S/I

Résistance aux fluoroquinolones

Les principales résistances aux fluoroquinolones sont des modifications de la cible. Des mutations des gènes *gyrA* et *gyrB* codant pour une des cibles des fluoroquinolones : une sous-unité de l'ADN gyrase, confèrent une résistance à ces antibiotiques.

La seconde concerne des mutations au niveau des gènes *grlA* ou *grlB* qui codent la sous-unité de la topo-isomérase IV qui est également une cible des fluoroquinolones [123].

Il existe également un mécanisme de résistance dû à la surexpression du gène *norA*. Ce gène est responsable de la production d'une protéine transmembranaire d'efflux qui transporte activement les fluoroquinolones en dehors de la bactérie [52].

3. Les principaux profils de résistance chez les Staphylocoques

On retrouve chez les staphylocoques plusieurs profils de résistance.

i. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

a. Présentation

Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline ou « SARM », en anglais : Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) est un staphylocoque qui présente une résistance à toute la famille des bêtalactamines associées ou non à un inhibiteur de bêta-lactamases.

Cette résistance a été découverte en 1961, en Grande-Bretagne, deux ans après le début de l'utilisation de la méticilline. Cependant, elle a également été identifiée dans des pays n'utilisant pas la méticilline probablement par acquisition d'une résistance croisée aux bêtalactamines [35].

Chez l'Homme, on différencie les SARM dits « hospitaliers » (SARM-H) responsables d'infections nosocomiales dans les milieux médicaux des SARM dits « communautaires » (SARM-C). Ces derniers présentent un profil de résistance aux antibiotiques caractéristique qui facilite leur identification (résistant à la pénicilline, à l'oxacilline, à la kanamycine, aux tétracyclines et une sensibilité intermédiaire à l'acide fusidique) [129]. Les infections à SARM chez les animaux de compagnie sont de plus en plus fréquentes. On les retrouve notamment le plus souvent dans des infections de la peau, de plaies chirurgicales, d'otites ou du tractus urinaire [131]. Ils peuvent également être porteurs sains de souches de SARM [79][44]. Les souches responsables de l'infection de ces animaux sont souvent les mêmes que celles fréquemment rencontrées dans les hôpitaux de la même région géographique. Les êtres humains sont donc susceptibles de transmettre les SARM aux animaux de compagnie et ceux-ci peuvent être un réservoir pour l'homme [10][121][21][20]. En effet, l'étroite relation entre les animaux de compagnie et leur foyer offre des conditions idéales pour la transmission bactérienne à travers le contact direct ou indirect (via l'environnement) [97][98].

b. Mécanisme(s) de résistance(s)

La résistance à la méticilline entraîne une résistance à toutes les bêtalactamines. Celle-ci est déterminée par la présence d'un gène chromosomique *mecA*, qui code pour la transpeptidase PLP2a. Celle-ci a moins d'affinité pour les bêtalactamines, en particulier la méticilline. La présence de cette PLP2a modifiée empêche la fixation des bêtalactamines et présente comme résultat une résistance à toutes les molécules de cette famille.

Ce gène est porté par un élément mobile nommé « cassette staphylococcique ». Celle-ci est composée de deux complexes ; le premier est le complexe du gène *mecA* [84]. L'expression du gène *mecA* est principalement sous le contrôle de deux gènes régulateurs : *mecI* (répresseur transcriptionnel de *mecA*) et *mecR1*. Le gène *mecR1* détecte les bêtalactamines et une fois liées, le répresseur *mecI* est dégradé, favorisant l'expression de *mecA*. Les mutations au niveau de ces gènes peuvent affecter le niveau de résistance à la méticilline. Il existe 5 classes de ce complexe ayant été décrites chez les staphylocoques [90][112].

Le second complexe est le complexe des gènes recombinants *ccr* qui sont responsables de la mobilité de la cassette. Le complexe est soit composé d'une paire de gènes *ccrA* et *ccrB* (ayant 4 allotypes) soit d'un gène unique *ccrC*. Il existe également cinq classes de complexes des recombinases [54][120][112].

La combinaison des différentes classes de complexes permet de déterminer treize types de cassettes à l'heure actuelle [41][92].

De plus, cette résistance peut être homogène, donc exprimée par toutes les souches, ou hétérogène. Dans ce dernier cas, la résistance est exprimée seulement par une proportion de colonies filles issues d'une colonie mère. Chez les souches présentant une résistance hétérogène à la méticilline, le niveau de résistance n'est pas corrélé à la quantité de PLP2a mais est sous la dépendance de quatre gènes *A*, *B*, *C* et *D* chromosomiques impliqués dans la formation du pont inter-peptidique pentaglycine du peptidoglycane [42].

c. Conséquences thérapeutiques

Les SARM sont résistants à toutes les bêtalactamines. Ils peuvent cumuler en plus des résistances à d'autres familles d'antibiotiques comme les aminosides, quinolones, macrolides, tétracyclines, la tobramycine ou l'acide fusidique.

d. Détection du SARM

La détection de la résistance à la méticilline peut être difficile compte tenu de son expression hétérogène. Néanmoins, le SARM peut être mis en évidence classiquement par la réalisation d'un antibiogramme ou par l'identification du gène *mecA* par la méthode basée sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR).

L'identification d'un SARM à l'aide d'un antibiogramme standard, par diffusion sur un milieu de Mueller-Hinton et incubé 18 heures à 37 °, se fait à l'aide d'un disque de céfoxitine à 30 µg (cf. Tableau 10).

ii. Staphylococcus pseudintermedius résistant à la méticilline

a. Présentation

Tout comme le SARM, le *Staphylococcus pseudintermedius* résistant à la méticilline est dit « SPRM » ou encore « MRSP » en anglais. Le staphylocoque *pseudintermedius* est considéré comme un pathogène majeur en médecine vétérinaire, notamment en médecine canine, où il est responsable d'infections dermatologiques, d'otites ou encore d'infections de l'appareil urinaire. Cependant, on le retrouve régulièrement dans la flore commensale d'animaux sains. Plusieurs études ont pu mettre en évidence la présence de cette bactérie chez 69% [101] de chiens sains voire 87,4% au Canada [114]. Le potentiel zoonotique de *S. pseudintermedius* n'est pas aussi évident que pour les *S. aureus* mais la bactérie a été isolée chez des propriétaires et des vétérinaires sans signes cliniques [70].

b. Mécanisme(s) de résistance(s)

Le mécanisme de résistance des SPRM est semblable à celui des SARM. Cependant, si pour les *S. aureus* la structure de la cassette *SCCmec* est relativement stable, dans le cas des SPRM, celle-ci présente une plus grande diversité génétique [92][53].

c. Conséquences thérapeutiques

Les SPRM sont résistants à toutes les molécules de la famille des bêta-lactamines [52].

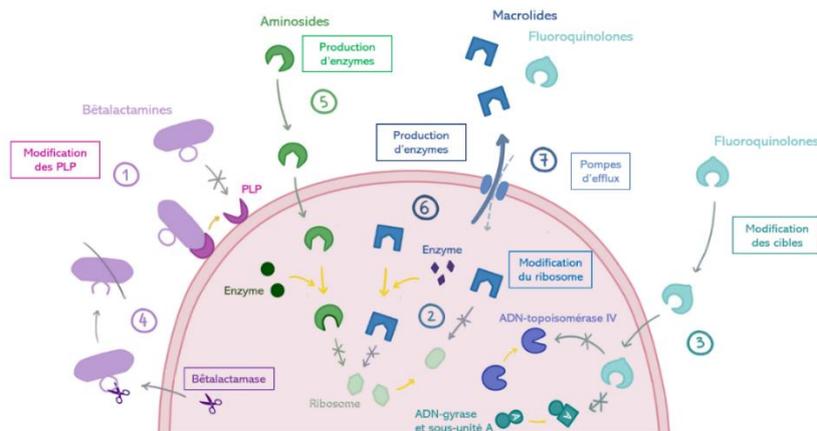
d. Détection du SPRM

Alors qu'il faut utiliser un disque de céfoxitine pour mettre en évidence les SARM la détection des SPRM nécessite l'emploi d'un disque de céfovécine (cf. *Tableau 10*) [13][14].

Tableau 10 : Antibiotiques marqueurs des profils de résistance des *Staphylococcus* résistant à la méticilline, et résultats de la mise en évidence de ce profil grâce à un antibiogramme [33].

Profil de résistance	Antibiotique	Concentration	Diamètre critique (d)
SARM	Céfoxitine	30 µg	R si d < 25 mm S si d ≥ 25 mm
SPRM	Céfovécine	30 µg	R si d < 24 mm S si d ≥ 24 mm

Les mécanismes de résistances de *Staphylococcus sp.*



Modification de la cible

- ① Production d'une Protéine de Liaison aux Pénicillines (PLP) dite additionnelle PLPLa qui confère une diminution de l'affinité aux bêta-lactamines.
- ② Production d'une enzyme méthylase codée par les gènes *erm* qui modifie les ribosomes et empêche ainsi la fixation des macrolides.
- ③ Modification de l'ADN gyrase ou de l'ADN topoisomérase IV qui deviennent insensibles aux fluoroquinolones

Production d'enzymes modificatrices

- ④ Production de bêta-lactamase hydrolysant le cycle bêta-lactame et inactivant la molécule
- ⑤ Production d'enzymes codées par des gènes plasmidiques inactivant les aminocyclitolés
- ⑥ Production d'enzymes inactivatrices de la classe des hydrolase, acétyltransférase ou phosphotransférase modifiant les macrolides.

Production de pompes d'efflux

- ⑦ - Présence de gènes codant pour les systèmes d'efflux (*mrsA*, *mrsB*, *vga* et *vgaB*) empêchant l'accumulation de macrolides dans la cellule
- Efflux de fluoroquinolones grâce à une protéine transmembranaire codée par le gène *norA* chromosomique.

Figure 12 : Mécanismes de résistance chez *Staphylococcus sp.* Source : Auteur.

b. Streptocoques

1. Présentation

Les bactéries du genre *Streptococcus* sont des bactéries à Gram positif. Elles sont catalase négative [85]. Elles sont anaérobies strictes, mais tolèrent de faibles concentrations en oxygène. Leur métabolisme est fermentaire. Leur culture nécessite un milieu Mueller-Hinton enrichi (MH-F), une température de $35\pm 2^\circ\text{C}$ ainsi qu'une concentration proche de 5% de CO_2 en aérobiose pendant 16 à 24 h [33]. Les Streptocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses des mammifères dont l'Homme. Elles sont fréquemment responsables d'infections bénignes comme l'angine chez l'Homme mais peuvent également être responsables d'infections graves comme des bactériémies ou des chocs toxiques [62]. Dans l'espèce animale, *Streptococcus pyogenes* est rencontré lors de suppurations superficielles ou profondes et de septicémies souvent lors d'affections de la peau ou d'otite chez les carnivores domestiques. *S. agalactiae* et *S. dysgalactiae* sont responsables de mammites chez les ruminants.

2. Mécanisme(s) de résistance(s)

Résistance aux Bêtalactamines

Des mutations au niveau des PLP1a, 2x et 2b confèrent une diminution de l'affinité des PLP aux pénicillines G et des mutations au niveau des PLP1a et PLP2x confèrent une résistance aux céphalosporines [78][77].

Les bêtalactamines nécessitent la présence de porines pour passer la membrane externe des bactéries. La modification dans le nombre, la taille ou la sélectivité des porines entrainera une résistance contre l'antibiotique.

Résistance aux Fluoroquinolones

Des mutations des cibles des fluoroquinolones comme l'ADN gyrase et la topoisomérase IV sont décrites. En addition de ces mutations, la surexpression de pompe d'efflux empêchant l'accumulation de fluoroquinolones dans la bactérie est rapportée [36][133].

Résistance aux Aminosides

Une résistance naturelle de bas niveau vis à vis des aminosides est connue. Dès lors, l'association d'une bêtalactamine et d'un aminoside est efficace. Cependant, une résistance de haut niveau peut apparaître par l'acquisition d'un gène codant pour une enzyme modificatrice, il y a alors perte de la synergie citée précédemment.

Résistance aux Sulfamides et Triméthoprime

Des mutations du gène codant la dihydrofolate réductase ont pour conséquence une diminution de l'affinité du triméthoprime pour son enzyme cible.

Résistance aux Macrolides

Le mécanisme de résistance aux macrolides le plus rencontré est dû à la production d'une méthylase codée par les gènes *erm* (au moins 12 classes ont été identifiées) conférant une

résistance par modification de la cible. Celle-ci réalise la méthylation de l'ARNr 23S de la sous-unité 50S des ribosomes et empêche ainsi la fixation des macrolides, lincosamides et des streptogramines B. Ainsi, le gène *ermB* confère une résistance aux macrolides en C14 (érythromycine, clarithromycine), C15 (azythromycine) et C16 avec un niveau de résistance élevé [17][77][108].

Une résistance par efflux est connue par la présence du gène *mefA* ou *mefB* codant une protéine hydrophobe comportant une homologie avec une pompe protéique cytoplasmique. Cette mutation confère une mutation aux macrolides en C14 et C15. [77] [36]

Résistance aux Tétracyclines

La résistance aux tétracyclines est principalement due à une modification du ribosome, l'une des cibles des tétracyclines, via le gène *tetM* [61]. Un mécanisme par pompe d'efflux codé par les gènes *tetK*, *tetL* est également rapporté [8].

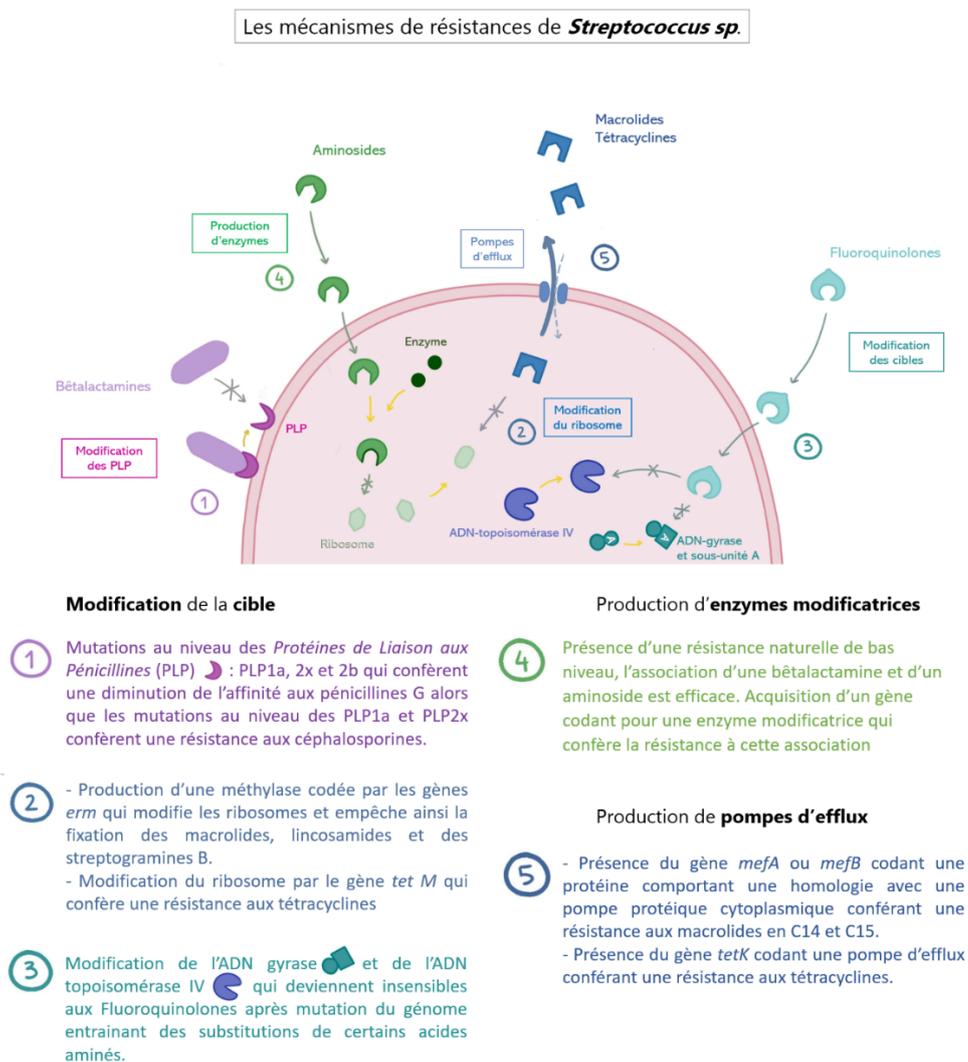


Figure 13 : Mécanismes de résistance de *Streptococcus sp.* Source : Auteur.

3. Conséquences thérapeutiques

Les Streptocoques possèdent des résistances connues pour de nombreuses familles d'antibiotiques telles que les bêtalactamines, les aminosides, les fluoroquinolones, la colistine, les aminosides, les macrolides, les tétracyclines... Cependant, la sensibilité des Streptocoques aux antibiotiques reste globalement élevée. Les deux points à considérer sont les faibles taux de sensibilité à la tétracycline, qui sont seulement de 37 % et 30 % pour les souches isolées d'otites et de pathologies de la peau et des muqueuses respectivement, 84% et 83 % pour les macrolides (érythromycine) et 82% et 78 % pour la lincomycine [110].

Dans le cas des otites, les proportions de sensibilité sont de 56 % à l'enrofloxacin (n=442) et de 86 % à la marbofloxacin (n=422). Dans le cas des pathologies de la peau et des muqueuses on relève des proportions de sensibilité de 53 % à l'enrofloxacin (n=99) et de 83 % à la marbofloxacin [110].

c. *Escherichia coli*

1. Présentation

Escherichia coli est un bacille, mobile ou immobile, capsulé ou non, Gram négatif. Elle est aérobic-anaérobic facultatif. Elle possède une lactase, une catalase, mais pas d'oxydase. Elle appartient à la famille des Entérobactéries (*Enterobacteriaceae*) qui colonisent le tube digestif de l'Homme et des animaux. Leur culture se réalise facilement sur un milieu gélosé classique (type Mueller-Hinton), l'incubation se fait sur 24h à 25°C (température ambiante) [16]. Bactéries à la fois commensales et pathogènes, elles sont responsables des infections suivantes :

Tableau 11 : Types d'infections provoquées par *Escherichia coli* chez différentes espèces [49][56][23].

Animaux de compagnie	Animaux de production	Homme
Gastro-entérite / Gastro-entérite néonatale		
Infection de plaies, d'escarre		
Colites		
Cystites		
Pyélonéphrites		
Endométrites		
Mammites		Appendicite
Septicémies, et infections secondaires dues à la septicémie selon les organes atteints lors de la dissémination bactérienne		
Pyomètres		Pneumonie
Prostatites	Pancréatite	Prostatite
Infection aigue ou chronique des voies respiratoires supérieures	Méningite et méningo-encéphalite	

Les *E. coli* sont un des agents responsables de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) chez l'Homme après ingestion d'aliments contaminés

2. Mécanisme(s) de résistance(s)

Un mécanisme de résistance naturelle de toutes les bactéries Gram négatif existe. La membrane externe, composée de lipopolysaccharides, constitue une barrière naturelle aux molécules hydrophiles chargées et aux molécules ayant un poids moléculaire supérieur à 1500 Da [55]. Cette structure est complétée par l'existence de protéines canalaires, les porines, qui ont pour but d'assurer la pénétration de nutriments.

Trois types de porines existent :

- Porines non-spécifiques : OmpF, OmpC, OmpD, OmpK36, et Omp36.
- Porines plus sélective, impliquées dans la diffusion des sucres et des métaux : LamB, ScrY, et FhuA
- Porines formant des canaux pour l'entrée ou la sortie de molécules comme TolC pour l'hémolysine, ou OmpA pour les antibiotiques.

Or, en présence d'antibiotiques, leur nombre et leur synthèse diminuent. Cette diminution est en lien direct avec une augmentation de la résistance aux antibiotiques. Ce phénomène est régulé chez *Escherichia coli* par un couple de gène (*ompR-envZ*), dont l'expression réduit la synthèse des porines OmpC et OmpF, et également par une protéine, OmpX qui provoque une réduction de la synthèse de porines [99]. L'expression des porines OmpC et OmpF se fait aussi via de petits ARN non-codants, respectivement MicC et MicF, bloquant la synthèse de ces porines en empêchant l'ARN messager responsable de leur synthèse de se lier au ribosome. MicC agit aussi conjointement avec un facteur de transcription spécifique d'un stress de membrane, σ_E , dans la transcription de OmpC [122]. Ces mécanismes participent notamment à la résistance de *Escherichia coli* aux Bêtalactamines et aux Fluoroquinolones [122].

Résistance aux Bêtalactamines

La résistance de *Escherichia coli* aux Bêtalactamines repose notamment sur 3 mécanismes enzymatiques [55] :

- La production d'une protéine constitutive de la paroi externe mutée : Protéine Liant les Pénicillines 5 (PLP5) [117][116]. Celle-ci entre dans la structure du peptidoglycane de la paroi externe de la bactérie, structurant sa forme [94]. Cependant, cette protéine est peu affine aux bêtalactamines, ceci fait que ces molécules antibiotiques s'y fixent moins, réduisant ainsi leur effet déstructurant de la paroi bactérienne et donc leur effet bactéricide [117][116].
- La production d'enzymes dégradant les bêtalactamines (bêta-lactamases) : ces enzymes hydrolysent le noyau bêta-lactame des bêtalactamines (noyau Péname pour les Pénicillines, noyau Céphème pour les Céphalosporines). L'hydrolyse de cette structure modifie directement la molécule antibiotique, inhibant ainsi son action bactéricide [81]. Plusieurs classes de bêta-lactamases sont produites par les *Escherichia coli*, notamment des bêta-lactamases de Classe A dans la classification Ambler : les Bêta-Lactamases à Spectre Etendu (BLSE), et les Céphalosporinases de Haut Niveau (CHN), et des bêta-lactamases de Classe D dans cette même classification : des Oxacillinases (OXA-1) [59]. Ces deux classes d'enzymes appartiennent au groupe des bêta-lactamases à Sérine (acide aminés impliqué dans l'hydrolyse enzymatique des noyaux bêta-lactames) [59].
- Présence de pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques du milieu intracellulaire bactérien (cf. *Tableau 12 ci-dessous*) [83].

Résistance aux Sulfamides et Triméthoprim

Le mécanisme de résistance aux associations de Sulfamides et Triméthoprim repose l'apparition de mutations de gènes codant deux protéines : Dihydroptéroate Synthétase (DHPS) et Dihydrofolate Réductase (DHFR), et/ou l'acquisition de gènes (via transmission de plasmides) codant pour ces mêmes protéines mais ayant une affinité diminuée pour cette famille d'antibiotique [134]. Une dernière mutation est à noter, celle-ci concerne une modification du promoteur des gènes (*dhfr I* et *dhfr II*) codant pour la DHFR, conduisant à une surproduction de cette dernière [134].

Les enzymes DHPS et DHFR sont essentielles à la synthèse bactérienne de folates à partir d'acide para-aminobenzoïque (PAB) pour la production d'acides aminés, en catalysant cette réaction. Les Sulfamides inhibent la DHPS, et le Triméthoprim inhibe la DHFR. Les mutations entraînent une modification de l'affinité de ces enzymes pour ces antibiotiques, empêchant ainsi l'action de ces derniers [82].

Résistance aux Aminosides

La résistance aux Aminoglycosides (Gentamicine, Streptomycine, Néomycine, etc.) est due à des enzymes modificatrices agissant directement sur les molécules antibiotiques. Chez *Escherichia coli*, ces enzymes sont des adényltransférases, acétyltransférases, et des phosphotransférases. Ces enzymes modifient les aminoglycosides, respectivement, en leur ajoutant un groupement adényl, un groupement acétyl, et en phosphorylant la molécule antibiotique. Ces modifications empêchent ainsi ces antibiotiques de se fixer sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi leur action bactéricide [55][96].

La résistance aux Aminosides des *E. coli* comprend également l'existence de pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien (cf. *Tableau 12 ci-dessous*) [29].

Depuis le début des années 2000, on note l'apparition fréquente de protéines : les méthylases RmtA et RmtD. Ces deux protéines ajoutent un groupement méthyl (-CH₃) à l'ARN 16 S bactérien, le rendant ainsi inaccessible aux Aminosides, inhibant ainsi leur effet bactéricide [86].

Résistance aux Quinolones

La résistance aux antibiotiques de la famille des Quinolones chez les *E. coli* repose sur des modifications des protéines sur lesquelles ces antibiotiques agissent. Les cibles des Quinolones sont les protéines ADN Gyrase et Topoisomérase II et IV [55]. Or, chez les *E. coli*, une mutation au sein des gènes codant pour ces protéines, respectivement *gyrA* et *parC* induit des substitutions d'acides aminés dans les protéines qu'ils permettent de produire. Dans le cas des *E. coli*, c'est l'ADN Gyrase qui est la plus impliquée, et en particulier sa sous-unité A. En effet, la mutation responsable de la résistance aux Quinolones induit une substitution des acides aminés 83 et/ou 87. Ceci provoque une plus faible affinité des Quinolones pour leur cible, et donc inhibe leur effet bactéricide [132].

La résistance aux Quinolones des *E. coli* comprend également l'existence de pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien (cf. *Tableau 12 ci-dessous*) [29].

Autres résistances

De nombreuses résistances à plusieurs antibiotiques sont possibles par la production de pompes d'efflux chez les *Escherichia coli* [55]. Ces protéines transmembranaires évacuent les molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien, les empêchant ainsi d'y agir.

Ce type de mécanisme peut s'ajouter aux autres mécanismes, présentés plus haut, pour une famille d'antibiotiques.

Il existe un grand nombre de pompes d'efflux possibles secondaires à des mutations du génome bactérien ou à la transmission d'opérons possédants des gènes responsables de la production de ces pompes d'efflux [29].

Il existe 3 types de pompes d'efflux selon la source d'énergie utilisée pour leur fonctionnement [29] :

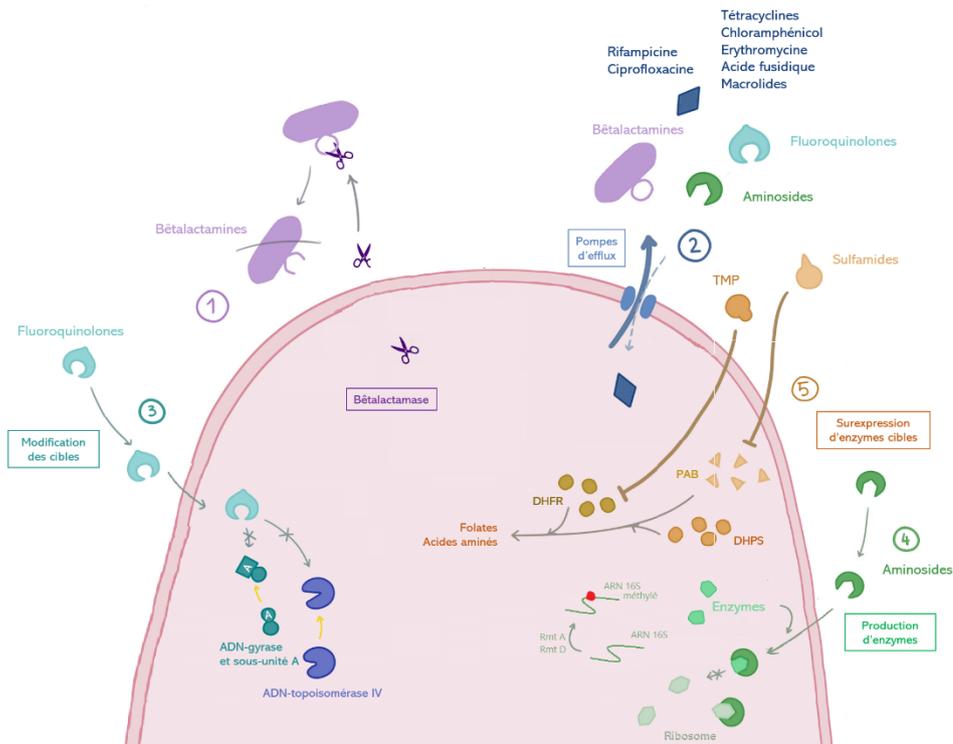
- RND, SMR et MFS : énergie fournie par la dissipation d'un gradient de protons.
- MATE : énergie fournie par la dissipation d'un gradient d'ions sodium.
- ABC : énergie fournie par l'hydrolyse de molécules d'ATP.

L'ensemble des pompes d'efflux rencontrées pour les *E. coli* sont répertoriées dans le tableau suivant :

Tableau 12 : Différentes pompes d'efflux rencontrées chez *E. coli* [29].

Antibiotique cible	Type de pompe d'efflux				
	RND	MFS	SMR	MATE	ABC
Tétracyclines	AcrA/TolC AcrE/TolC	MdfA Tet A-E	EmrE	X	X
Chloramphénicol	AcrA/TolC	MdfA	X	X	X
Quinolone	AcrA/TolC	MdfA	X	X	McbF
Bêtalactamines	AcrA/TolC MdtA/MdtC AcrE/TolC	X	X	X	
Erythromycine	AcrA/TolC AcrE/TolC	MdfA	X	X	X
Acide Fusidique	AcrA/TolC AcrE/TolC	X	X	X	X
Rifampicine	AcrA/TolC AcrE/TolC	MdfA	X	X	X
Aminosides	AcrD	X	X	YdhE	X
Ciprofloxacine	X	X	X	YdhE	X
Macrolides	X	X	X	X	MacA/TolC

Les mécanismes de résistances de *Escherichia Coli*



Production d'enzymes

① Production de bêta-lactamase ✂ : enzymes hydrolysant le cycle bêta-lactame et inactivant la molécule.

④ Production d'enzymes stéréospécifiques 🟢 modifiant des fonctions -NH₂ ou -OH des molécules d'aminosides les empêchant de se fixer aux ribosomes
Production d'enzymes ajoutant un groupement méthyle à l'ARN 16 S bactérien empêchant les molécules d'aminosides de s'y fixer

Production de pompes d'efflux

③ Modification du codon Aspartate 87 codant pour la synthèse de la sous-unité A de l'ADN-gyrase (responsable du super enroulement de l'ADN bactérien) la rendant moins affine aux molécules de la famille des Quinolones

⑤ Surexpression des enzymes DHFR ou DHPS ou du précurseur PAB (acide para-aminobenzoïque) intervenant dans le cycle de production des folates et réduisant ainsi l'inhibition compétitrice des sulfamides et du triméthoprime sur ces molécules

② Production de pompes d'efflux multi-drogues : ces systèmes enzymatiques peuvent être produits à la suite d'une mutation survenue sur les gènes responsable de leur régulation.
Celles-ci agissent sur les antibiotiques suivants :
Tétracyclines, Chloramphénicol, Bêta-lactamines, Erythromycine, Acide fusidique, Rifampicine, Aminosides, Ciprofloxacine, Fluoroquinolones et Macrolides.

Figure 14 : Mécanismes de résistance de *Escherichia coli*. Source : Auteur.

3. Conséquences thérapeutiques

L'ensemble des mécanismes de défense cités ci-dessus confère aux *E. coli* une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques : β -lactamines, Aminosides, Chloramphénicol, Quinolones, Tétracyclines, Erythromycine, Acide fusidique, Rifampicine, Ciprofloxacine, Macrolides, Sulfamides-Triméthoprime.

4. Principaux profils de résistance chez les *E. coli*

- *Escherichia coli* productrices de Bêta -Lactamases à Spectre Etendu (BLSE) :

D'après les recommandations vétérinaires de la CA-SFM d'avril 2020, ce profil de résistance pour un *E. coli* implique une résistance à toutes les bêtalactamines disponibles en médecine vétérinaire, à l'exception de l'association Amoxicilline et Acide Clavulanique [33].

Une étude rétrospective conduite entre l'année 2000 et avril 2020, visant les publications caractérisant les prévalences et les caractéristiques moléculaires des *E. coli* productrices de BLSE (E-BLSE), a été réalisée chez des chiens et des chats. Celle-ci a montré que sur les 128 publications vérifiant leurs critères, la prévalence en Europe des E-BLSE chez les chiens était de 6,21% et de 2,48% chez les chats (tous types de prélèvements confondus) [115]. Une autre étude menée sur 12 abattoirs en France en 2012, montre une prévalence de E-BLSE de 29,4% au sein de la flore digestive de veaux de boucherie représentant ainsi « *un réservoir majeur de BLSE chez les animaux* » destinés à la consommation [57]. Une étude réalisée en 2012, dans le cadre d'une thèse vétérinaire, a montré une prévalence de *E. coli* produisant une BLSE de 2,15% chez 186 vaches Prim'Holstein testées, tous stades confondus [100].

En médecine, humaine, l'augmentation des E-BLSE est un phénomène prenant de l'ampleur. En effet, une étude rétrospective menée sur des articles publiés entre le 1^{er} Janvier 2000 et le 13 Février 2020, et concernant la population mondiale, montre que le portage fécal de *E. coli* productrices de BLSE est en moyenne de 16,5%. Cette valeur est à mettre en perspective de celles obtenues par régions du monde. Par exemple, le portage moyen de E-BLSE en Europe est de 6%, contre 27% en Asie [15]. Ces valeurs sont corroborées par une étude réalisée entre 2014 et 2016 sur 4177 citoyens des Pays-Bas et pour lesquels la prévalence du portage de E-BLSE est de 5% [129].

En France, deux études réalisées entre 2014 et 2017, concernant des isolats d'*E. coli* issus d'infections urinaires, montrent une prévalence de E-BLSE allant de 3,30% [71] à 4,85% [18] des isolats étudiés.

Ces études montrent que la prévalence de ce profil de résistance est en constante augmentation depuis les dernières années.

Comme toutes les bêta-lactamases, les BLSE hydrolysent le noyau bêta-lactame des bêta-lactamines, les empêchant ainsi de se fixer aux Protéines de Liaison des Pénicillines. Ceci a pour conséquence que l'antibiotique ne peut plus inhiber la synthèse du peptidoglycane, composant structurel essentiel de la paroi bactérienne [81].

Ce profil de résistance confère aux *Escherichia coli* une résistance aux Pénicillines et aux Céphalosporines de 1^{ère} et 3^{ème} génération [87].

Cependant, la sensibilité aux Pénicillines peut être rétablie en les associant à un inhibiteur de bêta-lactamases. Ceci fait qu'un traitement employant l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique est possible [87]. Les autres familles d'antibiotiques ayant une action thérapeutique sur les *E. coli* peuvent être utilisés (dans la mesure où la souche n'est pas multirésistante).

La détection de ce profil de résistance est possible grâce à l'utilisation d'un antibiogramme. En effet, les recommandations vétérinaires d'avril 2020 de la CA-SFM établissent un profil de résultat mettant en évidence les *E. coli* productrices de BLSE [33] :

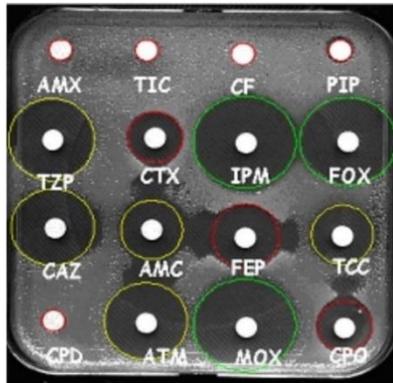
Tableau 13 : Antibiotiques marqueur du profil de résistance des E-BLSE, et résultats de la mise en évidence de ce profil grâce à un antibiogramme [33].

Antibiotique	Concentration du disque (µg)	Résultat pour un profil de E-BLSE	Diamètre critique (d)
Amoxicilline	25	R	R si d < 14 mm
Amoxicilline + Acide Clavulanique	20 (Amox.) 10 (Ac.Clav.)	S – I – R	S si d >= 21 mm R si d < 14 mm
Ceftiofur	30	(S) – I – R*	R si d < 18 mm I si 18 <= d < 21 mm
Cefquinome	30	(S) – I – R*	R si d < 19 mm I si 19 <= d < 22 mm
Cefalexine	30	(S – I) – R*	R si d < 12 mm
Cefoxitine	30	S	S si d >= 22 mm

*les phénotypes entre parenthèses sont rares

Remarque : Une synergie dite en « bouchon de champagne » est observable sur l'antibiogramme entre les disques de l'association Amoxicilline + Acide Clavulanique et celui de Ceftiofur (ou autre Céphalosporine de 3^{ème} ou 4^{ème} génération).

A



Légende :

AMX, amoxicilline ; TIC, ticarcilline ; PIP, pipéracilline ; FEP, céfépime ; CF, céfalotine ; TZP, pipéracilline + tazobactam ; CTX, céfotaxime ; IPM, imipénème ; FOX, céfoxitine ; TCC, ticarcilline + acide clavulanique ; ATM, aztréonam ; CAZ, ceftazidime ; AMC, amoxicilline + acide clavulanique ; CPD, cefpodoxime-proxétile ; CPO, céfiprome ; MOX, métronidazole .

○ Sensible ○ Intermédiaire ○ Résistante

B

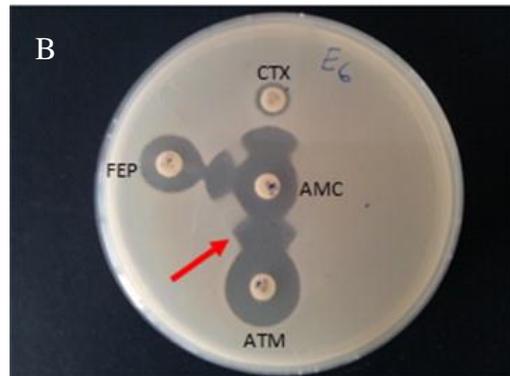


Figure 15 : Antibiogramme typique d'une *Escherichia coli* productrice de BLSE (A) [69] et synergie en « bouchon de champagne » (B-flèche rouge) [43].

- *Escherichia coli* productrices de Céphalosporinases de Haut Niveau (CHN) :

D'après les recommandations vétérinaires de la CA-SFM d'avril 2020, ce profil de résistance pour un *E. coli* implique une résistance à toutes les bêtalactamines disponibles en médecine vétérinaire [33].

En médecine vétérinaire, une étude réalisée en 2012, dans le cadre d'une thèse vétérinaire, a montré une prévalence de *E. coli* produisant des CHN de 5,38% chez 186 vaches Prim'Holstein testées, tous stades confondus [100]. En 2011, une étude réalisée sur 368 prélèvements fécaux, de chiens d'une même clientèle d'un cabinet vétérinaire de région Parisienne, a mis en évidence une prévalence de 18,5% d'individus porteurs de souches *E. coli* produisant des CHN [58]. Une étude plus large réalisée sur 842 échantillons issus de chiens et chats de 12 pays d'Europe (Belgique, République Tchèque, France, Allemagne, Hongrie, Italie, Pays-Bas, Pologne, Espagne, Suède, Suisse, et Royaume-Unis), a mis en évidence des prévalences de *E. coli* productrices de CHN de 17,5% pour les chats, et de 82,6% pour les chiens [102].

En médecine humaine, différentes études ont montré que le plasmide CMY-2 est le plus fréquent chez les *E. coli* produisant des CHN [63][93]. Une étude conduite au CHU de Nantes, entre 2004 et 2008, a montré que ce plasmide était présent chez 0,09% des 25861 isolats de *E. coli* testés, et dans 6% des 378 isolats résistants à la Céfoxitine [37]. Une étude conduite en France par le réseau de laboratoires MedQual en milieu communautaire entre 2008 et 2013, indique que sur les 397032 antibiogrammes recueillis, la prévalence de souches de *E. coli* produisant des CHN avait augmentée, passant de 0,6% en 2008 et 0,7% en 2013 [126]. Ces études montrent que la prévalence de ce profil de résistance est en constante augmentation depuis les dernières années.

Comme toutes les bêta-lactamases, les BLSE hydrolysent le noyau bêta-lactame des bêta-lactamines, les empêchant ainsi de se fixer aux Protéines de Liaison des Pénicillines. Ceci a pour conséquence que l'antibiotique ne peut plus inhiber la synthèse du peptidoglycane, composant structurel essentiel de la paroi bactérienne [81].

Ce profil de résistance confère aux *Escherichia coli* une résistance aux Pénicillines (Amoxicilline, association Amoxicilline et Acide Clavulanique, aminopénicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines) et aux Céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème} et 3^{ème} génération, ainsi qu'à l'Aztréonam [87].

En médecine vétérinaire, ce profil de résistance fait que pour les *E. coli*, les bêtalactamines disponibles sont inutilisables [33]. Cependant, les autres familles d'antibiotiques ayant une action thérapeutique sur les *E. coli* peuvent être utilisés (dans la mesure où la souche n'est pas multirésistante).

La détection de ce profil de résistance est possible grâce à l'utilisation d'un antibiogramme. En effet, les recommandations vétérinaires d'avril 2020 de la CA-SFM établissent un profil de résultat mettant en évidence les *E. coli* productrices de CHN [33] :

Tableau 14 : Antibiotiques marqueur du profil de résistance des *E. coli* produisant des CHN, et résultats de la mise en évidence de ce profil grâce à un antibiogramme [33].

Antibiotique	Concentration du disque (µg)	Résultat pour un profil de CHN	Diamètre critique (d)
Amoxicilline	25	R	R si d < 14 mm
Amoxicilline + Acide Clavulanique	20 (Amox.) 10 (Ac.Clav.)	R	R si d < 14 mm
Ceftiofur	30	(S) – I – R*	R si d < 18 mm I si 18 ≤ d < 21 mm
Cefquinome	30	S – I – (R) *	S si d ≥ 22 mm I si 19 ≤ d < 22 mm
Cefalexine	30	R	R si d < 12 mm
Cefoxitine	30	R	R si d < 15 mm

*les phénotypes entre parenthèses sont rares

Remarque : Aucune synergie dite en « bouchon de champagne » n'est observable sur l'antibiogramme.



Légende :

AMX, amoxicilline ; TIC, ticarcilline ; PIP, pipéracilline ; FEP, céfépime ; CF, céfalotine ; TCC, ticarcilline + acide clavulanique ; ATM, aztréonam ; TZP, pipéracilline + tazobactam ; MA, céfamandole ; CFM, céfixime ; CTX, céfotaxime ; IPM, imipénème ; FOX, céfoxitine ; AMC, amoxicilline + acide clavulanique ; CAZ, ceftazidime ; CXM, céfuroxime .

○ Sensible ○ Intermédiaire ○ Résistante

Les disques à observer sont ceux de : Céfoxitine (FOX), Céfalotine (CF), Céfépime (FEP), Céfixime (CFM), Céfotaxime (CTX), Céftazidime (CAZ).

Figure 16 : Antibiogramme typique d'une *Escherichia coli* productrice de CHN [3]

d. *Pseudomonas*

1. Présentation

Pseudomonas aeruginosa est un bacille Gram négatif, non sporulé, fin, mobile grâce à une ciliature lophotriche (plusieurs flagelles regroupés sur un pôle bactérien). Cette bactérie est aérobic stricte dégradant le glucose par respiration, elle possède une oxydase et une catalase. Sa culture se réalise facilement sur un milieu gélosé classique (type Mueller-Hinton), l'incubation se fait sur 18h à 25°C (température ambiante) [65].

Bactérie saprophyte, elle est présente dans l'environnement, les denrées alimentaires, et parfois la flore digestive. Celle-ci peut être pathogène à la fois pour l'Homme et l'animal par transmission de l'un à l'autre, ou bien via une source commune de contamination. Opportuniste, son caractère pathogène se révèle lors d'une faiblesse de l'organisme, une autre infection ou une immunodéficience.

Pseudomonas aeruginosa est responsable de différents types d'infections décrites ci-dessus :

Tableau 15 : Types d'infections provoquées par *Pseudomonas aeruginosa* chez différentes espèces [49][56][24].

Animaux de compagnie	Animaux de production	Homme
Surinfection de plaies		
Septicémie		
Otite externe et profonde	Mammite	Otite externe
Cystites	Broncho-pneumonie	Folliculite
Cholécystites		Infection de tissus mous (secondaire à un traumatisme perforant)
Prostatites		Pneumonie
Pyodermites de surface		Ecthyma gangrenosum (secondaire en cas de neutropénie)
Pyothorax (secondaire à une morsure le plus souvent)		Cystite
Conjonctivite		Pyélonéphrite
		Prostatite
		Urétrite

2. Mécanisme(s) de résistance(s)

Chez *Pseudomonas aeruginosa*, l'imperméabilité de sa membrane externe peut être augmentée soit à la suite de mutations du génome bactérien, soit grâce à l'activation de systèmes membranaires complexes appelés « systèmes de régulation à deux composants » notamment ParRS [86]. De plus, cette bactérie possède une porine, la porine D, dont la baisse d'expression conduit à une résistance à l'imipénème [99]. De la même manière que dans le cas des *Escherichia coli*, les porines participent notamment à la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux Bêtalactamines et aux Fluoroquinolones [99].

Résistance aux Bêtalactamines

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêtalactamines repose notamment sur la production d'enzymes dégradant les bêtalactamines (bêta-lactamases) [55]. Ces enzymes hydrolysent le noyau bêta-lactame des bêtalactamines (noyau Péname pour les Pénicillines, noyau Céphème pour les Céphalosporines). L'hydrolyse de cette structure modifie directement la molécule antibiotique, inhibant ainsi son action bactéricide [81].

Plusieurs classes de bêta-lactamases sont produites par *Pseudomonas aeruginosa*, notamment des bêta-lactamases de Classe A dans la classification Amber : les Bêta-Lactamases à Spectre Etendu (BLSE), et les Céphalosporinases de Haut Niveau (CHN), et des bêta-lactamases de Classe D dans cette même classification : des Métallo-Pénicillinases (Métallo-bêta-lactamases (MBL)) [12]. Ces deux classes d'enzymes appartiennent au groupe des bêta-lactamases à Sérine (acide aminé impliqué dans l'hydrolyse enzymatique des noyaux bêta-lactames) [59].

La résistance aux bêtalactamines de *Pseudomonas aeruginosa* comprend également l'existence de pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien (cf. Tableau 16 ci-dessous) [29].

Résistance aux Aminosides

La résistance aux Aminoglycosides (Gentamicine, Streptomycine, Néomycine, etc.) est due à des enzymes modificatrices agissant directement sur les molécules antibiotiques. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, ces enzymes sont des adényltransférases, acétyltransférases, et des phosphotransférases. Ces enzymes modifient les aminoglycosides en leur ajoutant, respectivement, un groupement adényl, un groupement acétyl, et en phosphorylant la molécule antibiotique [55]. Ces modifications empêchent ainsi l'antibiotique de se fixer sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi son action bactéricide.

La résistance aux Aminosides de *Pseudomonas aeruginosa* repose également sur l'existence de pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien (cf. Tableau 16 ci-dessous) [29].

Depuis le début des années 2000, on note l'apparition de plus en plus fréquente de protéines : les méthylases RmtA et RmtD. Ces deux protéines ajoutent un groupement méthyl (-CH₃) à l'ARN 16 S bactérien, le rendant ainsi inaccessible aux Aminosides, inhibant ainsi leur effet bactéricide [86].

Résistance aux Quinolones

La résistance aux antibiotiques de la famille des Quinolones chez *Pseudomonas aeruginosa* repose sur des modifications des protéines sur lesquelles ces antibiotiques agissent. Les cibles des Quinolones sont les protéines ADN Gyrase et Topoisomérase II et IV. Or, chez *Pseudomonas aeruginosa*, une mutation au sein des gènes codant pour ces protéines, respectivement *gyrA* et *parC* induit des substitutions d'acides aminés dans les protéines qu'elles permettent de produire. De même que dans le cas des *E. coli*, c'est l'ADN Gyrase qui est la plus impliquée, et en particulier sa sous-unité A. En effet, la mutation responsable de la résistance aux Quinolones induit une substitution au niveau des acides aminés Sérine 83 et/ou Aspartate 87. Ceci provoque une plus faible affinité des Quinolones pour leur cible, et donc inhibe leur effet bactéricide [12].

La résistance aux Quinolones de *Pseudomonas aeruginosa* repose également sur l'existence de pompes d'efflux, évacuant les molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien (cf. Tableau 16 ci-dessous) [29].

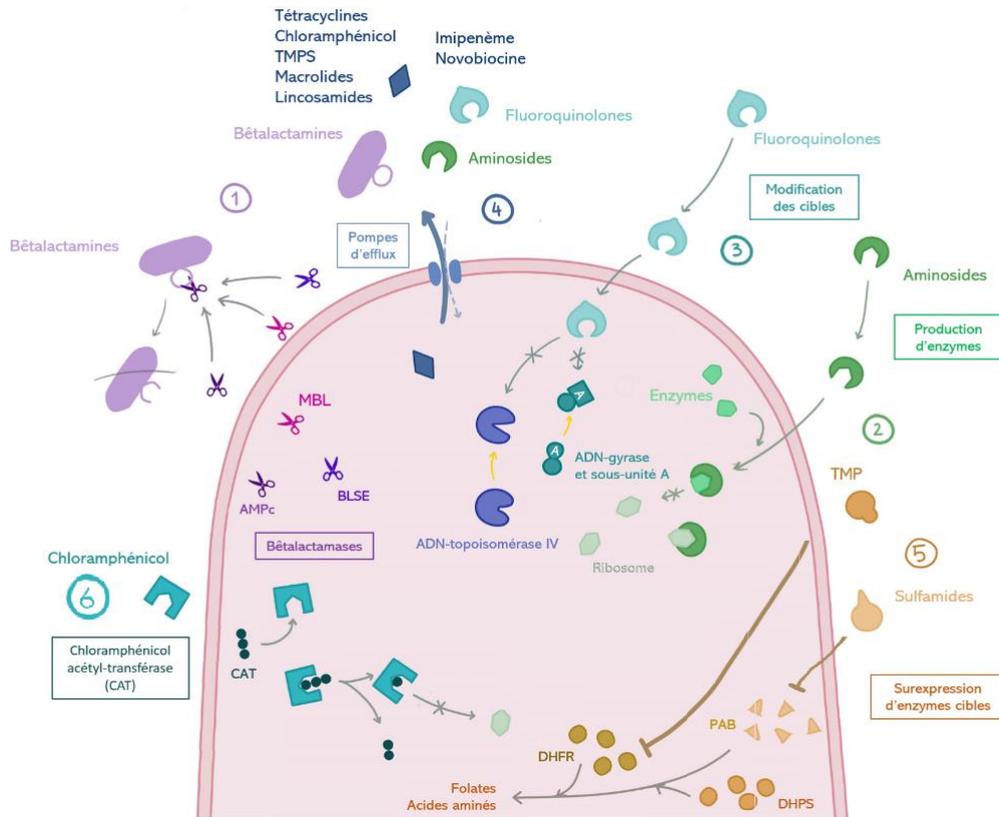
Autres résistances

Des pompes d'efflux multi-drogues sont rapportées. Ces systèmes enzymatiques peuvent être produits de façon importante à la suite d'une mutation survenue sur les gènes responsables de leur régulation [29]. L'ensemble des pompes d'efflux rencontrées pour les bactéries du genre *Pseudomonas* sont répertoriées dans le tableau suivant :

Tableau 16 : Différentes pompes d'efflux rencontrées chez *Pseudomonas sp.* [29]

Antibiotique cible	Type de pompe d'efflux		
	RND	MFS	SMR
Tétracyclines	MexA/OprM, MexC/OprJ, MexJ/OprM, MexX/OprM	CmlA Tet A-E	X
Chloramphénicol	MexA/OprM, MexC/OprJ, MexE/OprN	CmlA	X
Fluoroquinolone	MexA/OprM, MexC/OprJ, MexE/OprN	X	X
Bêtalactamines	MexA/OprM, MexXY/OprM, MexCD/OprF	X	X
Céphalosporine 4 ^{ème} génération	MexC/OprJ	X	X
Sulfamides	MexA/OprM	X	X
Triméthoprim	MexA/OprM, MexC/OprJ, MexE/OprN	X	X
Aminosides	MexX/OprM	X	EmrE
Imipenème	MexE/OprN	X	X
Macrolides-Lincosamides	MexA/OprM, MexC/OprJ, MexJ/OprM, MexX/OprM	X	X
Novobiocine	MexA/OprM, MexC/OprJ	X	X

Les mécanismes de résistances de *Pseudomonas sp.*



Production d'enzymes modificatrices

- ① Production de bêta-lactamase : enzymes hydrolysant le cycle bêta-lactame et inactivant la molécule. *Pseudomonas aeruginosa* produit des céphalosporinases AMPc, les β -lactamase à spectre élargit (BLSE) et les métallo- β -lactamase (MBL).
- ② Production d'enzymes stéréospécifiques modifiant des fonctions -NH₂ ou -OH des molécules d'aminosides les empêchant de se fixer aux ribosomes.
- ⑥ Production de chloramphénicol acétyl-transférase enzyme ajoutant un groupement acétyl sur l'antibiotique empêchant sa fixation sur les ribosomes bactériens.

Modification de la cible

- ③ Modification de l'ADN gyrase et de l'ADN topoisomérase IV qui deviennent insensibles aux Fluoroquinolones après mutation du génome entraînant des substitutions de certains acides aminés.
- ⑤ Surexpression des enzymes DHFR ou DHPS ou du précurseur PAB (acide para-aminobenzoïque) intervenant dans le cycle de production des folates et réduisant ainsi l'inhibition compétitive des sulfamides et du triméthoprime sur ces molécules.

Production de pompes d'efflux

- ④ Production de pompes d'efflux multi-drogues : ces systèmes enzymatiques peuvent être produits de façon importante suite à une mutation survenue sur les gènes responsable de leur régulation.

Celles-ci agissent sur les antibiotiques suivants : Tétracyclines, Chloramphénicol, Bêta-lactamines, Céphalosporines de 4^{ème} génération, Sulfamides, Triméthoprime, Aminoglycosides, Imipénème, Fluoroquinolones, Macrolides, Lincosamides et Novobiocine.

Figure 17 : Mécanismes de résistance de *Pseudomonas sp.* Source : Auteur.

3. Conséquences thérapeutiques

L'ensemble des mécanismes de défense cités ci-dessus confère à *Pseudomonas aeruginosa*, une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques : β -lactamines, Aminosides, Colistine, Fluoroquinolones, Tétracyclines, Chloramphénicol, Céphalosporine de 4^{ème} génération, Sulfamides-Triméthoprime, Macrolides-Lincosamides, Imipenème, Novobiocine.

D'après le bilan Résapath de 2019, l'évolution des proportions de sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* est faible et stabilisée sur les dernières années. Cette souche bactérienne est rarement rencontrée en médecine vétérinaire, avec 0,48% des cas de mammites chez les bovins, 2% des pathologies respiratoires et de la reproduction chez les chevaux, 8% des otites chez le chien, et moins de 2% des pathologies respiratoires, urinaires et rénales chez le chat [110].

e. Pasteurelles

1. Présentation

Les Pasteurelles sont de petits bacilles, à Gram négatif, immobiles, aéro-anaérobie facultatifs, possédant une catalase et une oxydase. Leur culture se réalise facilement sur un milieu gélosé classique (type Mueller-Hinton), l'incubation se fait sur 48h à 37°C. Ce sont des bactéries isolées à la fois chez l'Homme et l'animal, elles sont commensales du tractus respiratoire supérieur, que pathogènes opportuniste et responsables d'infections graves [26].

Les Pasteurelles sont responsables des infections décrites ci-dessus :

Tableau 17 : Types d'infections provoquées par *Pasteurella multocida* chez différentes espèces [49][56][72].

Animaux de compagnie	Animaux de production	Homme
Septicémie	Septicémie	Septicémie (secondaire à une immunodépression) Secondairement : -Ostéomyélite -Endocardites -Méningites
Prostatite	Septicémie hémorragique	
Otite interne/externe	Pneumonie, Broncho-pneumonie, Pneumonie enzootique	Infection locale par inoculation (morsure en général) Secondairement : -Lymphangite -Adénite -Arthrite -Ténosynovite
Infections parodontales		
Stomatite		Infections respiratoires (rares)
Infection des voies respiratoires supérieures (aigüe et chronique)		
Pyothorax (à la suite d'une morsure en général)		
Abcès rétrobulbaire		

Pasteurella multocida est responsable d'une zoonose. Cette bactérie est inoculée à l'homme à la suite d'un traumatisme à l'origine d'une plaie (morsure, griffure), et est à l'origine d'une forte réaction inflammatoire locale, puis générale (fièvre, abattement), d'une adénite, voire d'un abcès. En cas d'immunodépression, une septicémie est possible.

2. Mécanisme(s) de résistance(s)

Un mécanisme de résistance naturelle de toutes les bactéries Gram négatif existe. La membrane externe, composée de lipopolysaccharides, constitue une barrière naturelle aux molécules hydrophiles chargées et aux molécules ayant un poids moléculaire supérieur à 1500 Da. Cette structure est complétée par l'existence de protéines canalaire, les porines, qui ont pour but d'assurer la pénétration de nutriments. Chez les Pasteurelles, les porines majoritaires sont OmpH (porine non-spécifique), et OmpA [30][130]. De la même manière que dans le cas des *Escherichia coli*, ces protéines participent à la résistance des Pasteurelles aux Bêtalactamines et aux Fluoroquinolones [99].

Résistance aux Bêtalactamines

La résistance des Pasteurelles aux bêtalactamines repose notamment sur la production d'enzymes dégradant les bêtalactamines (bêta-lactamases) [67][22]. Ces enzymes hydrolysent le noyau bêta-lactame des bêtalactamines (noyau Péname pour les Pénicillines, noyau Céphème pour les Céphalosporines). L'hydrolyse de cette structure modifie directement la molécule antibiotique, inhibant ainsi son action bactéricide [81].

Une β -lactamase est rapportée chez les Pasteurelles, il s'agit d'une β -lactamase de Classe A dans la classification d'Amblar : ROB-1 [59][68]. Cette enzyme modificatrice hydrolyse le noyau bêta-lactame de ces antibiotiques avec un acide aminé sérine au niveau de son site actif [59].

Résistance aux Phénicolés

Chez les Pasteurelles, la résistance aux molécules antibiotiques de la famille des Phénicolés se traduit par deux principaux mécanismes.

Le premier est la production d'une enzyme modificatrice agissant directement sur la molécule antibiotique [22]. Cette enzyme est une Chloramphénicol Acétyltransférase (CAT) produite à partir du gène *catAIII* [127]. Celle-ci modifie la structure des molécules de Chloramphénicol principalement, et de Florfénicol dans une plus faible mesure, en réalisant une acétylation de leur groupement hydroxyle (-OH) [80]. Cette modification empêche ainsi ces molécules de se fixer sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi leur action bactéricide.

Le second repose sur la production de pompes d'efflux [22]. Celle-ci est produite par le gène *floR*, et est à l'origine d'un efflux actif de Chloramphénicol et de Florfénicol depuis le milieu intra-cellulaire bactérien. Ceci empêche les molécules antibiotiques de se fixer sur le ribosome bactérien [127].

Résistance aux Tétracyclines

La résistance aux Tétracyclines chez les Pasteurelles repose sur la production de protéines transmembranaires ayant un effet d'efflux, évacuant ces molécules antibiotiques du milieu intra-cellulaire bactérien [22].

Deux protéines sont produites : des pompes d'efflux de type MFS : Tet-H, majoritaire, et Tet-B [5][68][135]. Ces protéines transmembranaires sont responsables d'un efflux actif des molécules antibiotiques de la famille des Tétracyclines [5].

De plus, une protéine (Tet-M) est produite et va agir directement au niveau des ribosomes, protégeant ceux-ci de l'action des Tétracyclines [68].

Résistance aux Aminosides

La résistance aux Aminoglycosides (Gentamicine, Streptomycine, Néomycine, etc.) est due à des enzymes modificatrices agissant directement sur les molécules antibiotiques. Chez les Pasteurelles, ces enzymes sont des phosphotransférases [68]. Ces enzymes modifient les aminoglycosides en phosphorylant la molécule antibiotique. Ces modifications empêchent ainsi l'antibiotique de se fixer sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi leur action bactéricide.

Résistance aux Sulfamides et Triméthoprime

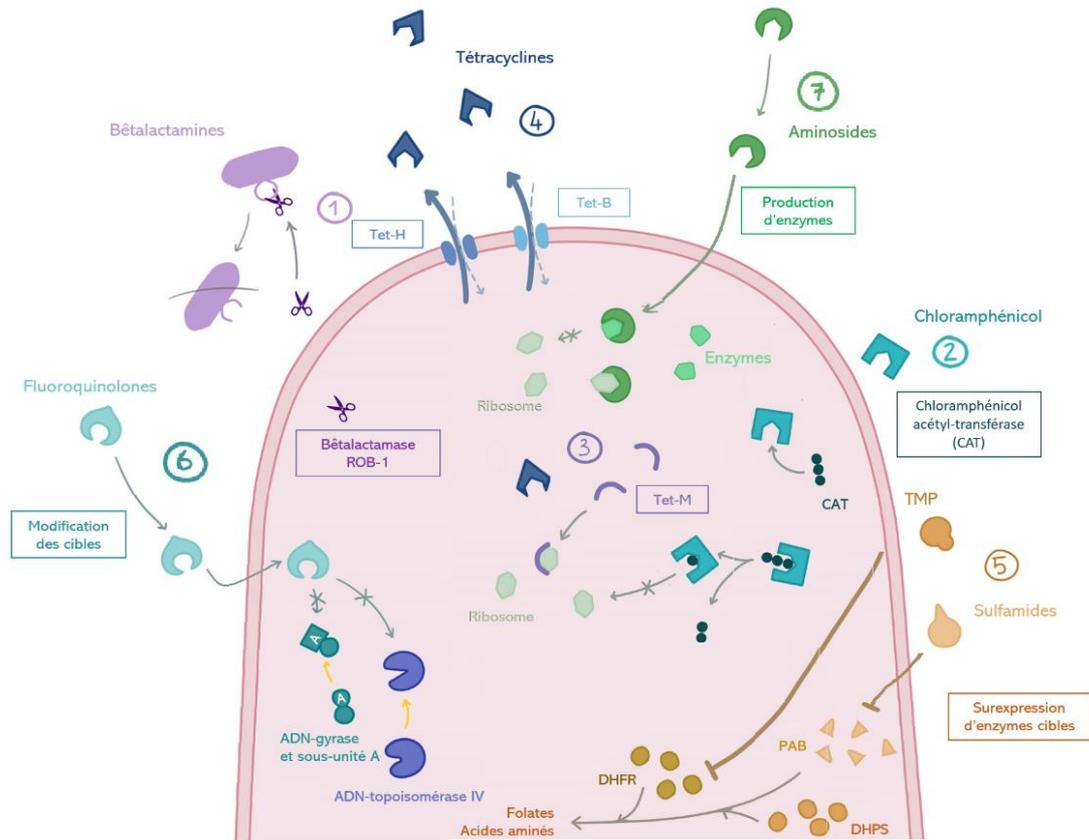
Chez les Pasteurelles, une résistance aux associations de Sulfamides et Triméthoprime est présente [22][68]. Elle repose sur l'apparition de mutations de gènes codant deux protéines : Dihydroptéroate Synthétase (DHPS) et Dihydrofolate Réductase (DHFR), et/ou l'acquisition de gènes (via transmission de plasmides) codant pour ces mêmes protéines mais ayant une affinité diminuée pour cette famille d'antibiotique. Une dernière mutation est à noter, celle-ci concerne une modification du promoteur des gènes (*dhfr I* et *dhfr II*) codant pour la DHFR, conduisant à une surproduction de cette dernière [134].

Les enzymes DHPS et DHFR sont essentielles à la synthèse bactérienne de folates à partir d'acide para aminobenzoïque (PAB) pour la production d'acides aminés, en catalysant cette réaction. Les Sulfamides inhibent la DHPS, et le Triméthoprime inhibe la DHFR. Les mutations entraînent une modification de l'affinité de ces enzymes pour ces antibiotiques, réduisant ainsi l'action de ces derniers [82].

Résistance aux Quinolones

La résistance aux antibiotiques de la famille des Quinolones chez les Pasteurelles repose sur des modifications des protéines sur lesquelles ces antibiotiques agissent. Les cibles des Quinolones sont les protéines ADN Gyrase et Topoisomérase II et IV [22][27]. Or, chez les Pasteurelles, une mutation au sein des gènes codant pour ces protéines, respectivement *gyrA* et *parC* induit des substitutions d'acides aminés dans les protéines qu'elles permettent de produire. Dans le cas des Pasteurelles, c'est l'ADN Gyrase qui est la plus impliquée, et en particulier sa sous-unité A. En effet, la mutation responsable de la résistance aux Quinolones induit une substitution des acides aminés Sérine 83 et/ou Aspartate 87 par, respectivement, un acide aminé Isoleucine, et un acide aminé Glycine [27]. Ceci provoque une plus faible affinité des Quinolones pour leur cible, et donc inhibe leur effet bactéricide.

Les mécanismes de résistances de *Pasteurella sp.*



Production d'enzymes modifcatrices

- ① Production de bêta-lactamase : Une enzyme ROB-1 hydrolysant le cycle bêta-lactame et inactivant la molécule
- ② Production de chloramphénicol acétyl-transférase enzyme ajoutant un groupement acétyl sur l'antibiotique empêchant sa fixation sur les ribosomes bactériens
- ⑦ Production d'enzymes stéréospécifiques modifiant des fonctions -NH₂ ou -OH des molécules d'aminosides les empêchant de se fixer aux ribosomes

Production de pompes d'efflux

- ④ Production de deux protéines formant des pompes de types MFS : Tet-H majoritaire et Tet-B qui sont responsables d'un efflux de Tétracyclines

Modification de la cible

- ③ Production d'une protéine Tet-M qui agit directement au niveau des ribosomes et les protègent de l'action des Tétracyclines
- ⑤ Surexpression des enzymes DHFR ou DHPS ou du précurseur PAB (acide para-aminobenzoïque) intervenant dans le cycle de production des folates et réduisant ainsi l'inhibition compétitive des sulfamides et du triméthoprime sur ces molécules
- ⑥ Modification du codon Aspartate 87 codant pour la synthèse de la sous-unité A de l'ADN-gyrase (responsable du super enroulement de l'ADN bactérien) la rendant moins affine aux molécules de la famille des Quinolones

Figure 18 : Mécanismes de résistance de *Pasteurella sp.* Source : Auteur.

3. Conséquences thérapeutiques

L'ensemble des mécanismes de défense cités ci-dessus confère aux Pasteurelles, une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques : β -lactamines, Chloramphénicol, Florfénicol, Tétracycline, Quinolones, les associations Sulfamides et Triméthoprime, Aminosides. Cependant, d'après les données du bilan 2019 du Résapath, les proportions de résistances acquises chez les Pasteurelles sont faibles [110].

f. Salmonelles

1. Présentation

Les Salmonelles sont des entérobactéries saprophytes du tube digestif et pathogènes opportunistes, bacilles droits, Gram négatif, intracellulaires facultatifs. Elles sont parasites stricts des cellules du tube digestif, aéro-anaérobies facultatives. Leur culture se réalise facilement sur un milieu gélosé classique (type Mueller-Hinton), l'incubation se fait sur 24h à 37°C (température ambiante). Certains sérovars sont spécifiques d'une espèce animale : *Salmonella typhi*, spécifique de l'Homme, et un séovar ubiquiste : *Salmonella typhimurium* [38]. Les bactéries du genre *Salmonella* sont pathogènes stricts, zoonotiques et sont responsables des infections suivantes :

Tableau 18 : Types d'infections provoquées par les bactéries du genre *Salmonella* chez différentes espèces [49][56][25].

Animaux de compagnie	Animaux de production	Homme
Gastro-entérite	Gastro-entérite, diarrhée hémorragique	Gastro-entérite
Septicémie	Septicémie	Bactériémie
		Infections secondaires selon dissémination
		Abcès selon dissémination
		Cholécystite emphysémateuse

Les Salmonelles sont un des agents responsables de Toxi-Infections Alimentaires Collectives (TIAC) chez l'Homme après ingestion d'aliment contaminés [25].

2. Mécanisme(s) de résistance(s)

Un mécanisme de résistance naturelle de toutes les bactéries Gram négatif existe. La membrane externe, composée de lipopolysaccharides, constitue une barrière naturelle aux molécules hydrophiles chargées et aux molécules ayant un poids moléculaire supérieur à 1500 Da. Cette structure est complétée par l'existence de protéines canalaire, les porines, qui ont pour but d'assurer la pénétration de nutriments. De la même manière que dans le cas des *Escherichia coli*, ces protéines participent à la résistance des Salmonelles aux Bêtalactamines et aux Fluoroquinolones [99].

Résistance aux Bêtalactamines

Chez les bactéries du genre *Salmonella*, la résistance aux Bêtalactamines repose sur la production d'enzymes dégradant les bêtalactamines (bêta-lactamases) [19][128]. Ces enzymes hydrolysent le noyau bêta-lactame des bêtalactamines (noyau Péname pour les Pénicillines, noyau Céphème pour les Céphalosporines). L'hydrolyse de cette structure modifie directement la molécule antibiotique, inhibant ainsi son action bactéricide [81].

Plusieurs classes de bêta-lactamases sont produites par les *Salmonelles*, notamment des bêta-lactamases de Classe A dans la classification Ambler : les Bêta-Lactamases à Spectre Etendu (BLSE) CTX-M et CMY-2, des Céphalosporinases de Haut Niveau (CHN) AmpC, des bêtalactamines TEM-1 et SHV-1, et des bêta-lactamases de Classe D dans cette même classification : des Oxacillinases (OXA-1) [128]. Ces deux classes d'enzymes appartiennent au groupe des bêta-lactamases à Sérine (acide aminés impliqué dans l'hydrolyse enzymatique des noyaux bêta-lactames) [59].

Résistance aux Aminosides

Chez les bactéries du genre *Salmonella*, le mécanisme le plus important et le plus répandu de résistance aux Aminosides est celui d'une modification enzymatique des molécules antibiotiques. En effet, ces enzymes sont des adényltransférases, acétyltransférases, et des phosphotransférases. Ces enzymes modifient les aminoglycosides en leur ajoutant, respectivement, un groupement adényl, un groupement acétyl, et en phosphorylant la molécule antibiotique. Ces modifications empêchent ainsi l'antibiotique de se fixer sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi son action bactéricide [55].

Résistance aux Fluoroquinolones

La résistance aux antibiotiques de la famille des Quinolones chez les bactéries du genre *Salmonella* repose sur des modifications des protéines sur lesquelles ces antibiotiques agissent. Les cibles des Quinolones sont les protéines ADN Gyrase et Topoisomérase II et IV [19][128]. Or, chez *Pasteurella multocida*, une mutation au sein des gènes codant pour ces protéines, respectivement *gyrA* et *parC* induit des substitutions d'acides aminés dans les protéines qu'elles permettent de produire. Dans le cas des *Salmonelles*, c'est l'ADN Gyrase qui est la plus impliquée, et en particulier sa sous-unité A. En effet, la mutation responsable de la résistance aux Quinolones sur *gyrA* induit une substitution des acides aminés Sérine 83 et/ou Aspartate 87 par, respectivement, un acide aminé Phénylalanine, et un acide aminé Tyrosine, et sur *parC*, une substitution sur l'acide aminé Sérine 80, remplacé soit par une Isoleucine, soit par une Arginine [128]. Ceci provoque une plus faible affinité des Quinolones pour leur cible, et donc inhibe leur effet bactéricide.

Un autre mécanisme est aussi notable : production d'une protéine protégeant le ribosome bactérien (cible de l'antibiotique). Ces protéines codées par les gènes plasmidiques *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, et *qnrS*, notamment pour la protéine QnrA (étudiée par P. Nordmann et L. Poirel en 2005), se lie à l'ADN Gyrase sur ses sous-unités GyrA et GyrB, limitant ainsi la quantité de complexe holoenzyme-ADN, cible des Quinolones [95].

Une résistance à la Ciprofloxacine est aussi possible par l'action d'une enzyme aminoglycoside acétyl-transférase modifiée : AAC(6')-Ib. Celle-ci inhibe l'action de cet antibiotique par une réaction de N-acétylation [113].

Résistance aux Tétracyclines

Chez les bactéries du genre *Salmonella*, la résistance aux Tétracyclines repose sur la production de pompes d'efflux actifs [19][128]. Une protéine membranaire cytoplasmique codée par les gènes *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD* et *tetG* [43], pompe d'efflux de type MFS, entraîne un efflux des molécules antibiotiques de la classe des Tétracyclines [29]. Cet efflux, dont l'énergie est fournie par la dissipation d'un gradient de protons, créé ainsi une évacuation de l'antibiotique plus importante que son influx dans la cellule et, de fait, une concentration intracellulaire insuffisante pour éliminer l'agent bactérien [29].

Résistances aux Sulfamide et Triméthoprim

Chez les bactéries du genre *Salmonella*, une résistance aux associations de Sulfamides et Triméthoprim est présente [19][128]. Elle repose sur l'apparition de mutations de gènes codant deux protéines : Dihydroptéroate Synthétase (DHPS) et Dihydrofolate Réductase (DHFR), et/ou l'acquisition de gènes (via transmission de plasmides) codant pour ces mêmes protéines mais ayant une affinité diminuée pour cette famille d'antibiotique.

Les enzymes DHPS et DHFR sont essentielles à la synthèse bactérienne de folates à partir d'acide para-aminobenzoïque (PAB) pour la production d'acides aminés, en catalysant cette réaction. Les Sulfamides inhibent la DHPS, et le Triméthoprim inhibe la DHFR. Les mutations entraînent une modification de l'affinité de ces enzymes pour ces antibiotiques, réduisant ainsi l'action de ces derniers [82].

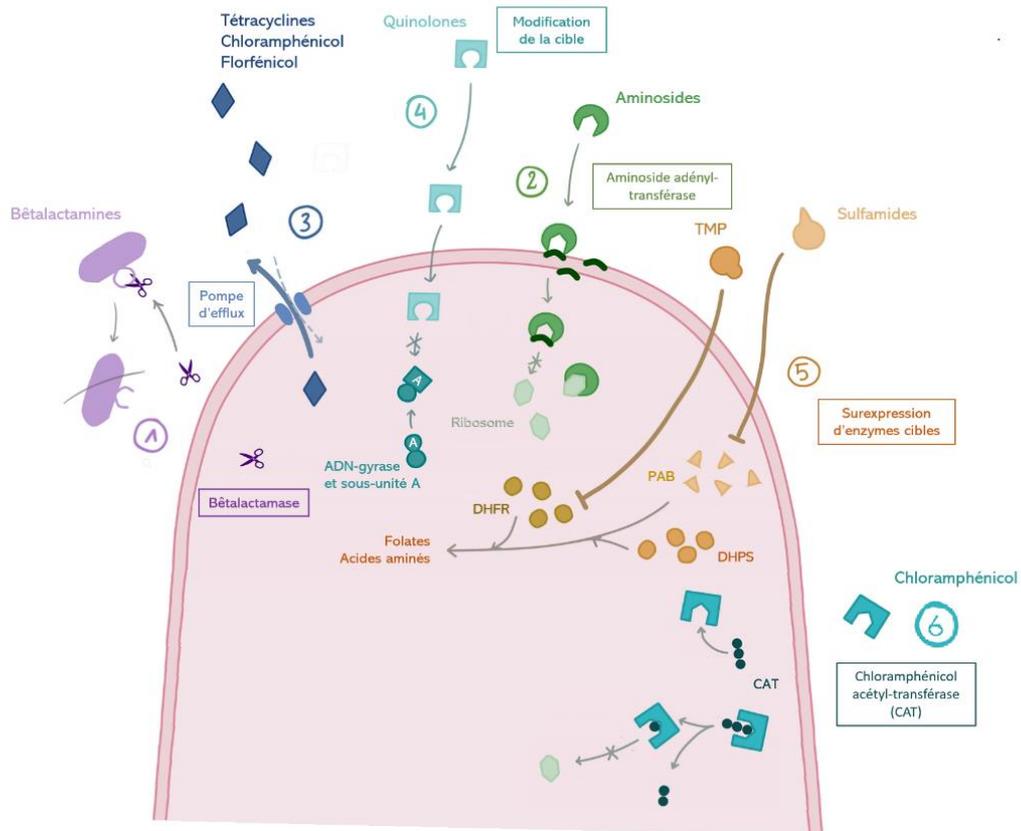
Résistance aux Phénicolés

Chez les bactéries du genre *Salmonella*, la résistance aux molécules antibiotiques de la famille des Phénicolés se traduit par deux principaux mécanismes.

Le premier est la production d'une enzyme modificatrice agissant directement sur la molécule antibiotique [19][128]. Cette enzyme est une Chloramphénicol Acétyltransférase (CAT) produite par les gènes *catAI* et *catAII* [71]. Celle-ci modifie la structure des molécules de Chloramphénicol principalement, et de Florfénicol dans une plus faible mesure, en réalisant une acétylation de leur groupement hydroxyle (-OH) [80]. Cette modification empêche ainsi ces molécules de se fixer sur le ribosome bactérien, inhibant ainsi leur action bactéricide.

Le second repose sur la production de pompes d'efflux [19][128]. Celle-ci est produite par les gènes *floR* et *cmlA*, et est à l'origine d'un efflux actif de Chloramphénicol et de Florfénicol depuis le milieu intra-cellulaire bactérien. Ceci empêche les molécules antibiotiques de se fixer sur le ribosome bactérien [128].

Les mécanismes de résistances de *Salmonella sp.*



Production d'enzymes modifcatrices

- ① Production de bêta-lactamase : enzymes hydrolysant le cycle bêta-lactame et inactivant la molécule
- ② Production de aminoside adényl-transférase : enzyme codée par le gène aad2 ajoutant un groupement adényl sur l'antibiotique empêchant sa fixation sur les ribosomes bactériens
- ⑥ Production de chloramphénicol acétyl-transférase enzyme ajoutant un groupement acétyl sur l'antibiotique empêchant sa fixation sur les ribosomes bactériens

Production de pompes d'efflux

- ③ - AcrA/TolC : pompe d'efflux codée par le gène floR agissant sur le chloramphénicol et le florfénicol
- Pompe d'efflux codée par les gènes TetR et TetA produisant un efflux d'antibiotique tel que la concentration intracellulaire de tétracyclines devient insuffisante

Modification de la cible

- ④ Modification du codon Aspartate 87 codant pour la synthèse de la sous-unité A de l'ADN-gyrase (responsable du super enroulement de l'ADN bactérien) la rendant moins affine aux molécules de la famille des Quinolones
- ⑤ Surexpression des enzymes DHFR ou DHPS ou du précurseur PAB (acide para-aminobenzoïque) intervenant dans le cycle de production des folates et réduisant ainsi l'inhibition compétitrice des sulfamides et du triméthoprime sur ces molécules

Figure 19 : Mécanismes de résistance de *Salmonella spp.* Source : Auteur.

3. Conséquences thérapeutiques

L'ensemble des mécanismes de défense cités ci-dessus confère aux bactéries de la famille des Salmonelles, et en particulier à *Salmonella enterica Typhimurium*, une résistance à de nombreuses classes d'antibiotiques, dont la plupart des antibiotiques agissant en milieu intracellulaire : β -lactamines, Quinolones, Aminosides, Sulfamides-Triméthoprim, Tétracyclines, Chloramphénicol, Florfénicol.

D'après le bilan Résapath de 2019, les Salmonelles sont très rarement rencontrées en médecine vétérinaire. Au cours des dernières années, les proportions de sensibilités aux antibiotiques sont restées dans les mêmes ordres de grandeurs, se stabilisant depuis 2016. Les principaux cas où cette souche bactérienne est rapportée par le bilan du Résapath, sont des cas de pathologie digestive chez les bovins avec environ 3% des antibiogrammes réalisés [110].

III. Les indications de l'antibiogramme en médecine rurale vétérinaire :

a. L'évolution :

Dans le bilan du Résapath 2019 concernant le nombre d'antibiogramme, ce sont les infections pour l'espèce bovine qui sont les plus représentées avec 20,2% des antibiogrammes réalisés, viennent ensuite l'espèce ovine, avec 2,1%, et caprine avec 1,6%. Globalement, les proportions d'antibiogrammes sont constantes en ce qui concerne ces trois espèces sur les 4 dernières années, bien qu'une baisse de 15% est à noter pour l'espèce bovine, passant de 12744 antibiogrammes reçus en 2018, à 10823 en 2019, comme le montre la figure suivante issue du bilan Résapath de 2019. On remarque également sur la figure l'impact de la réglementation sur la prescription des molécules antibiotiques dites « critiques » en 2016, imposant la réalisation préalable d'un antibiogramme [110].

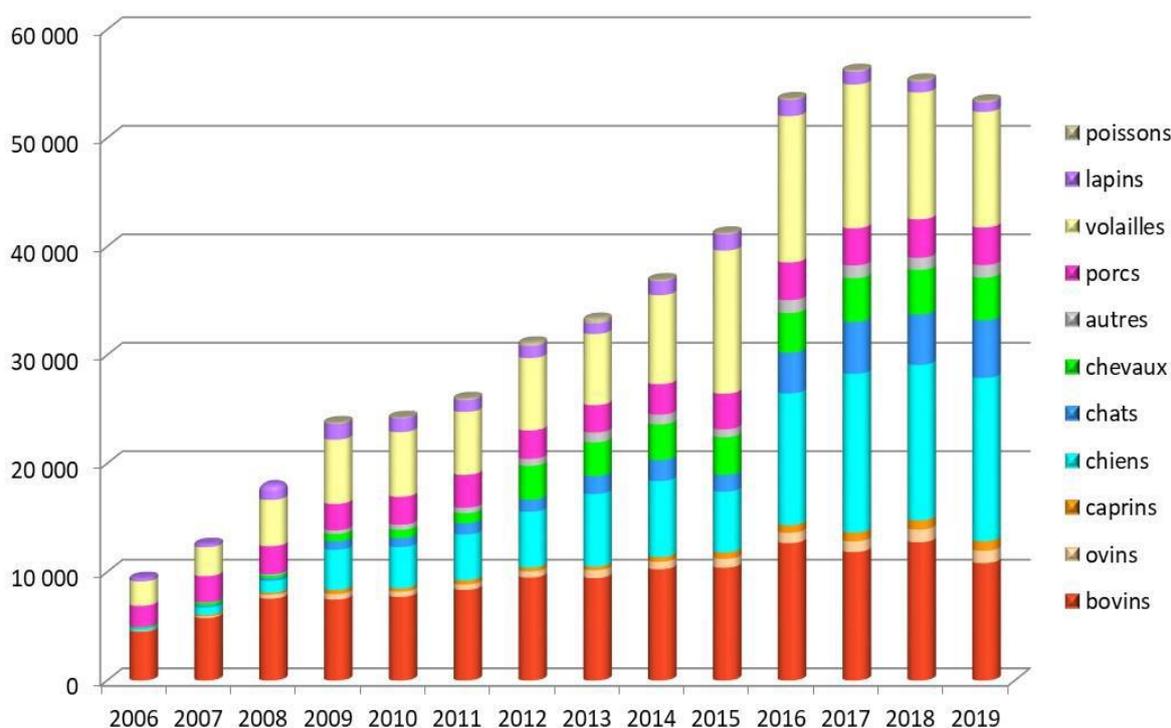


Figure 20 : Évolution du nombre d'antibiogrammes reçus par filière animale. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [110].

1. Espèce bovine :

En ce qui concerne l'espèce bovine, les pathologies les plus représentées, toutes classes d'âges confondues sont les pathologies digestives (47%), les mammites (36%), et les pathologies respiratoires (8%). On retrouve dans des proportions plus faibles (inférieures ou égales à 1%) les pathologies de la reproduction, les atteintes générales et les septicémies.

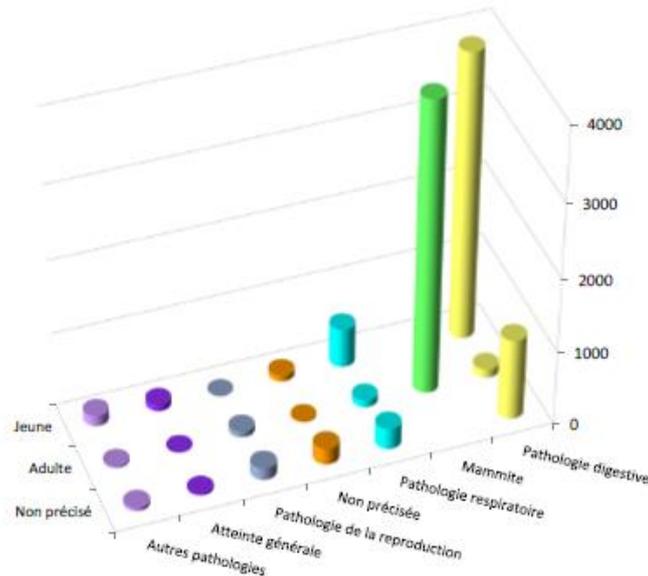


Figure 21 : Nombre d'antibiogrammes par classes d'âge et pathologies pour l'espèce bovine en 2019. Source : Bilan Résapath 2019, ANSES [110].

Les principales souches bactériennes mises en cause sont : les *E. coli* (57%), les Streptocoques (12%), *Pasteurella multocida* (6%), les Staphylocoques à coagulase négative (5%), et enfin les Salmonelles et Staphylocoques à coagulase positive (toutes deux à 4%) [110].

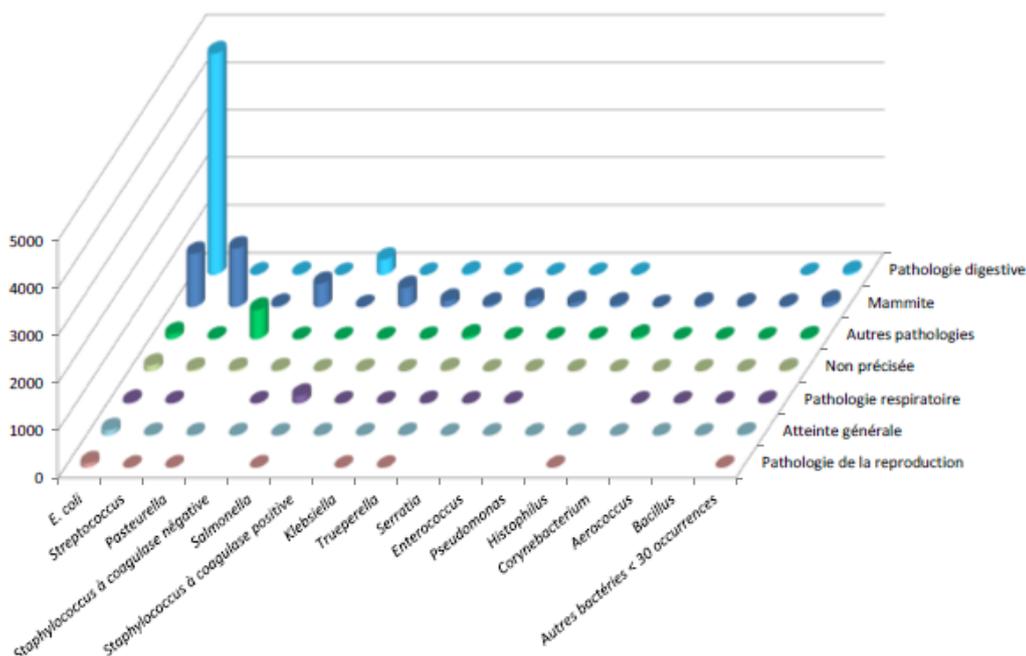


Figure 22 : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par pathologies pour l'espèce bovine en 2019. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [110].

2. Espèce ovine :

Les antibiogrammes sont plus rares pour l'espèce ovine. Ils sont néanmoins constitués toutes classes d'âges confondues de cas de pathologies respiratoires (35%), de pathologies digestives (29%), et de mammites (7%) [110].

Pour un grand nombre d'échantillon (12%), la pathologie en cause n'est pas précisée, rendant ainsi l'interprétation des données épidémiologiques plus difficile.

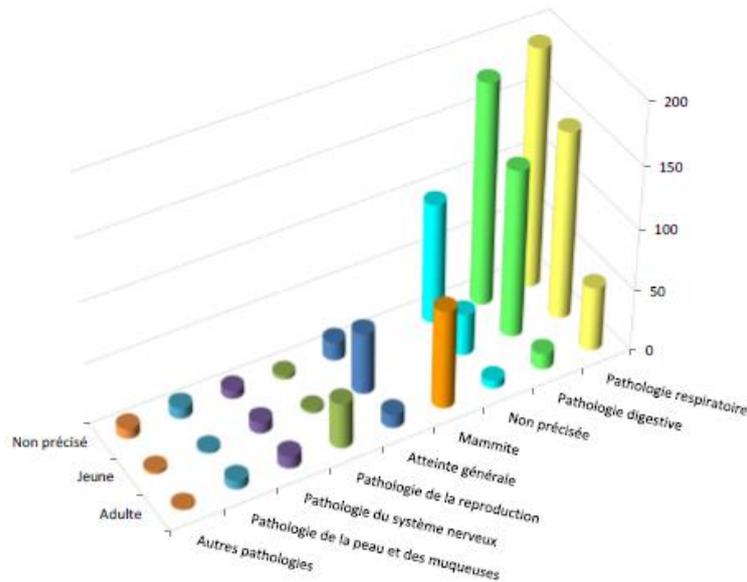


Figure 23 : Nombre d'antibiogrammes par classes d'âge et pathologies pour l'espèce ovine en 2019. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [110].

Les principales souches bactériennes mises en cause sont : les *E. coli* (37%), *Pasteurella multocida* (36%), les Salmonelles (7%) et Staphylocoques à coagulase positive (6%) [110].

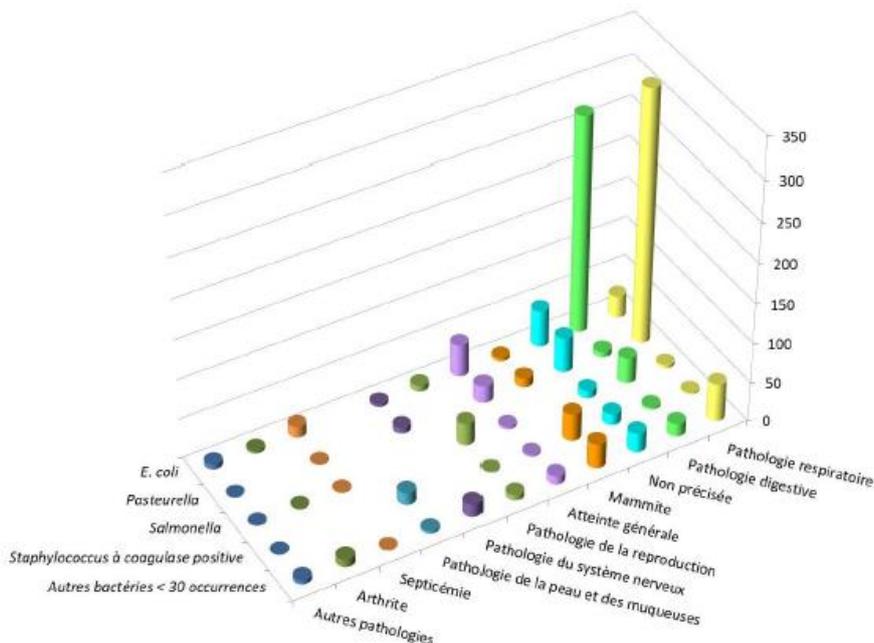


Figure 24 : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par pathologies pour l'espèce ovine en 2019. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [110].

3. Espèce caprine :

Tout aussi rares, les antibiogrammes pour l'espèce caprine sont demandés pour des cas de pathologies respiratoires (28%), de mammites (27%), et de pathologies digestives (22%) [110].

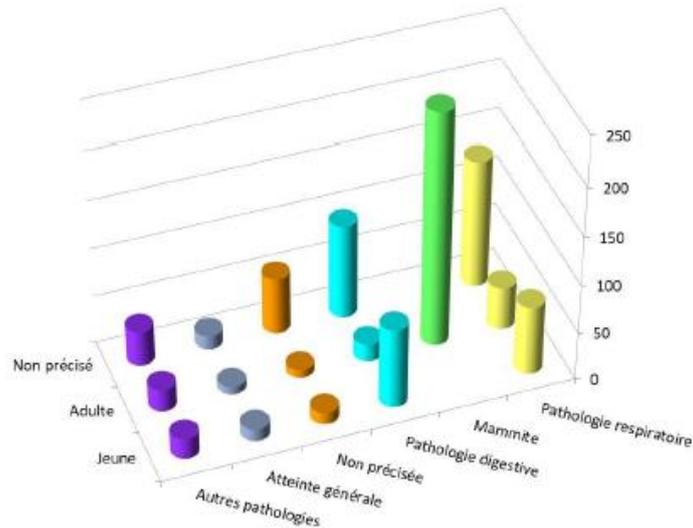


Figure 25 : Nombre d'antibiogrammes par classes d'âge et pathologies pour l'espèce caprine en 2019. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [110].

Les principales souches bactériennes mises en cause sont : les *E. coli* (28%), *Pasteurella multocida* (25%), les Staphylocoques à coagulase positive (10%), les Staphylocoques à coagulase négative (9%), et les Streptocoques (7%) [110].

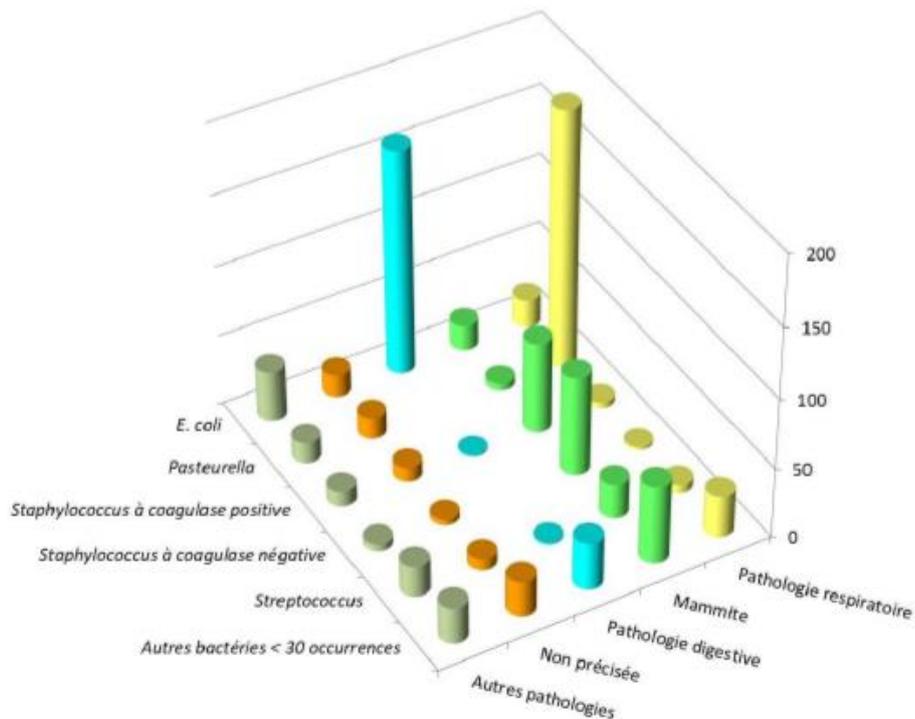


Figure 26 : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par pathologies pour l'espèce caprine en 2019. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [21].

b. Quand réaliser un antibiogramme ? :

La détermination du caractère « Indispensable, Utile, ou Superflu » de la réalisation d'un antibiogramme diffère selon les cas de figure. Sur la base de la réglementation associée aux données du bilan Résapath 2019, dans lesquelles sont présentés les principaux types de pathologies rencontrés, les principaux agents bactériens qui en sont responsables, et leurs pourcentages de sensibilité aux antibiotiques. La classification ci-dessous a été dressée :

1. Antibiogramme indispensable :

Dans un premier temps, la réglementation impose la réalisation d'un antibiogramme dans le cas où le vétérinaire souhaite utiliser un antibiotique dit « critique » (liste de ces molécules *cf. If. Tableau 8*). Dans ce cas, l'antibiogramme justifie l'utilisation de cette classe d'antibiotique et devient alors obligatoire.

Par ailleurs, il existe des cas où la réalisation d'un antibiogramme est primordiale sans être réglementée. L'augmentation majeure des résistances chez certaines espèces bactériennes rend l'antibiogramme incontournable lorsque celles-ci sont identifiées. C'est le cas notamment des *E. coli*, des Staphylocoques à coagulase positive ou des *Pseudomonas* qui représentent des familles de bactéries très représentées dans les antibiogrammes et dont les proportions de résistance restent élevées [110].

De plus, la réalisation d'un antibiogramme peut être motivée par la pathologie en elle-même. En effet, certaines pathologies nécessitent un traitement de longue durée. La mise en place d'un traitement mal adapté favorise les résistances et retarde grandement la guérison.

En médecine bovine, les pathologies digestives représentent une part majeure des pathologies bovines, notamment chez les jeunes animaux. Or, celles-ci sont principalement dues à des bactéries comme les *E. coli*, qui, d'après le bilan Résapath paru en novembre 2020 (*cf. Figure 27*), peuvent avoir un taux de résistance supérieur à 50% pour les 7 antibiotiques suivant : Gentamicine 10UI, Spectinomycine ou Streptomycine, l'association Sulfamides-Triméthoprime, Tétracycline, Amoxicilline avec ou sans Acide clavulanique, et les Quinolones (acide oxolinique ou nalidixique) [110].

Par ailleurs, d'après l'étude réalisée par Assié et al. en 2006, la prévalence de *E. coli* dans les gastro entérite néonatale était de 68,7% en élevage bovin allaitant, 58,6% en élevage laitier, et 69,2% en élevage mixte laitier/allaitant [9].

Ceci est d'autant plus important, qu'une étude réalisée en 2016, montre que le taux de morbidité des gastro entérites néonatales augmente avec le nombre de vêlages, pouvant aller jusqu'à 87,1% des veaux atteints [1]. Ce phénomène peut être expliqué par le nombre croissant d'individus regroupés dans un même bâtiment, augmentant ainsi la pression infectieuse [88].

Le coût financier de cette pathologie est estimé entre 20 et 50 € par an et par veau sensible [89].

Tableau 19 : Prévalence des pathogènes responsables de pathologies digestives chez les jeunes ruminants (Assié et al. 2006) [9].

Agent pathogène (effectifs)		Age moyen ± écart type	Minimum-maximum	Médiane
F41	Absent (85)	9,6 ± 7,3	1 – 30	8
	Présent (7)	7,4 ± 3,8	2 – 10	10
K99	Absent (118)	9,9 ± 6,8	1 – 30	8
	Présent (27)	6,2 ± 6,5	1 – 24	3
CS31A	Absent (77)	10,2 ± 8,2	1 – 30	8
	Présent (67)	8,1 ± 4,9	1 – 30	8
FY	Absent (138)	9,2 ± 7,0	1 – 30	8
	Présent (6)	8,7 ± 3,9	3 – 15	8
Rotavirus	Absent (98)	9,6 ± 7,5	1 – 30	8
	Présent (46)	8,3 ± 5,5	1 – 28	8
Coronavirus	Absent (126)	9,5 ± 7,2	1 – 30	8
	Présent (18)	6,9 ± 3,8	2 – 15	6
Cryptosporidies	Absent (100)	9,9 ± 7,7	1 – 30	8
	Présent (15)	7,3 ± 2,6	2 – 10	8

D'après cette étude, *E. coli* est majoritairement détectée, et 4 facteurs d'attachement sont notables : F41, CS31A, K99, et F.

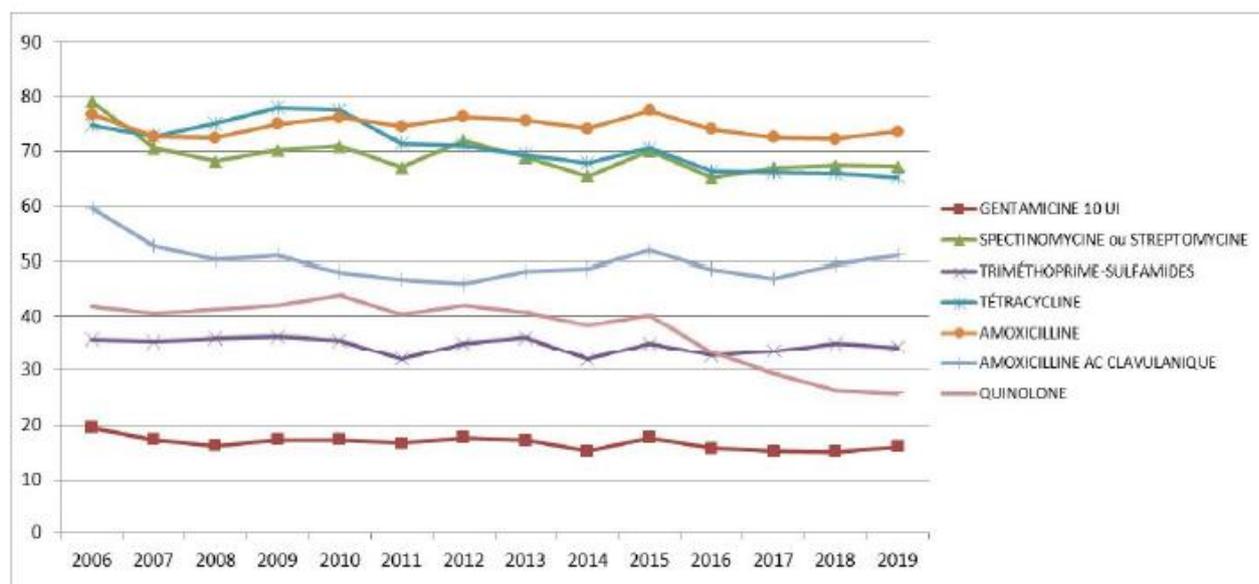


Figure 27 : Evolution des proportions de souches de *E. coli* non sensibles (I+R) à sept antibiotiques chez les bovins (2006-2019). Source : Bilan Résapath 2019, ANSES [110].

Par ailleurs, d'après les données du bilan Résapath 2019, le pourcentage de *E. coli* multirésistantes (définie en moyenne par une résistance à au moins 3 classes d'antibiotiques différentes) s'élève à 15,5% [110].

Tableau 20 : Proportions (en %) de souches de *E. coli* résistantes (R+I) en fonction du nombre de résistances identifiées parmi une liste de cinq antibiotiques en 2019. Source : Bilan Résapath 2019, ANSES [110].

Nombre de résistance(s) (R+I)	Proportion de souches (%)					
	Bovins (n=5 596)	Porcs (n=1 309)	Poules/poulets (n=3 903)	Dindes (n=1 153)	Equidés (n=565)	Chiens (n=1 694)
0	28,5	26,4	61,6	57,8	60,0	69,2
1	36,7	31,4	24,6	26,5	20,4	18,9
2	19,4	34,4	11,3	13,7	12,7	7,4
3	11,9	7,6	2,5	2,0	3,5	2,8
4	3,2	0,2	0,0	0,0	2,1	1,4
5	0,4	0,1	0,0	0,0	1,2	0,3
Multi-résistantes (≥ 3)	15,5	7,9	2,5	2,0	6,8	4,4

Cette forte tendance à la multirésistance, en particulier pour les pathologies digestives (cf. Figure 28), ainsi que la vitesse de transmission de ces bactéries au sein de cette population associée aux taux de mortalité [1], font que la réalisation d'un antibiogramme est devenue aujourd'hui une nécessité dans la prise en charge des gastro-entérites néonatales bovines. Les pourcentages de sensibilités aux antibiotiques des *E. coli* impliquées dans les gastro-entérites néonatales sont présentées dans la partie suivante (cf. IV - Cas clinique n°1).

Par ailleurs, un autre agent bactérien responsable de pathologies digestives, les Salmonelles, implique également la réalisation d'un antibiogramme lors de sa prise en charge étant donné le nombre important de molécules antibiotiques auxquelles il est résistant, en plus du caractère entéro-invasif de la bactérie, pouvant engendrer des complications de type septicémie (cf. Tableau 21) [110].

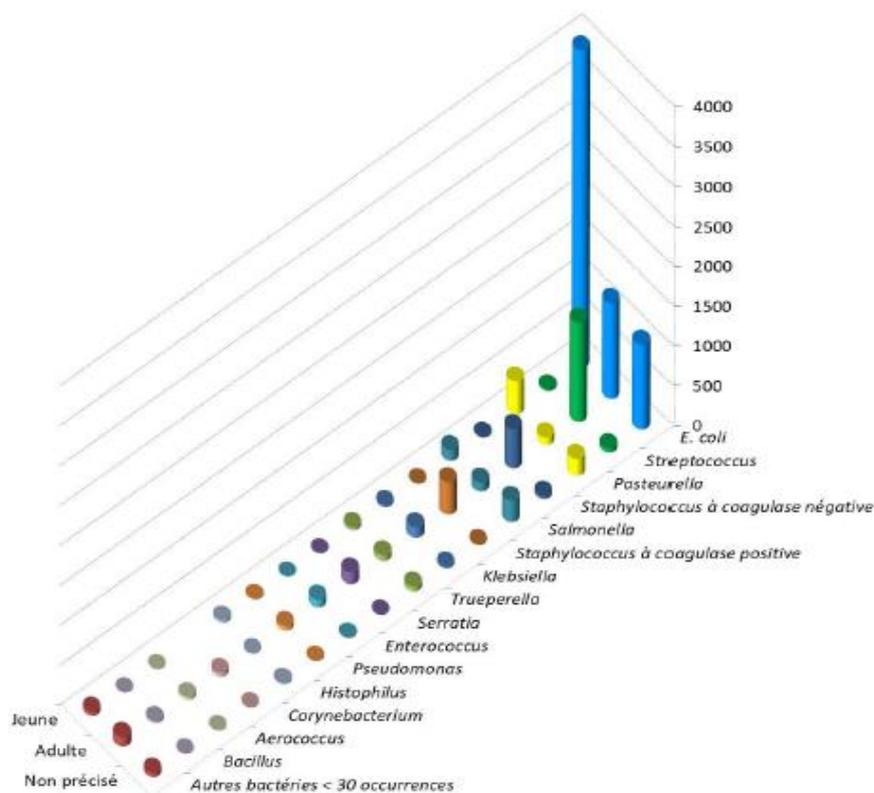


Figure 28 : Nombre d'antibiogrammes par regroupements bactériens et par classes d'âge. Source : Bilan du Résapath 2019, ANSES [110].

Tableau 21 : Proportion de sensibilité pour les antibiotiques testés de *Salmonella Typhimurium*, toutes pathologies et classes d'âge confondues. Source : Bilan Résapath 2019, ANSES [110].

Antibiotique	Total (N)	% S
Amoxicilline	141	25
Amoxicilline Ac. clavulanique	146	47
Céfalaxine	122	97
Céfalotine	44	100
Céfoxitine	130	99
Céfuroxime	54	94
Céfopérazone	49	41
Ceftiofur	145	98
Cefquinome 30 µg	119	97
Streptomycine 10 UI	67	10
Spectinomycine	51	39
Kanamycine 30 UI	35	91
Gentamicine 10 UI	132	95
Néomycine	109	90
Apramycine	85	99
Tétracycline	137	17
Florfénicol	124	51
Ac. nalidixique	90	97
Ac. oxolinique	44	98
Fluméquine	60	97
Enrofloxacin	124	99
Marbofloxacin	118	100
Danofloxacin	45	100
Sulfamides	30	7
Triméthoprime-Sulfamides	145	97

2. Antibiogramme utile :

Lorsque l'antibiogramme n'est pas particulièrement indispensable, il peut tout de même s'avérer utile. La mauvaise connaissance des mécanismes de résistance d'une bactérie peut à elle seule motiver la réalisation d'un antibiogramme.

Aussi, et pour n'importe quelle pathologie, un échec thérapeutique du traitement de 1^{ère} intention, habituellement efficace peut motiver la réalisation d'un antibiogramme. Toutefois, il est nécessaire de s'assurer de la bonne observance du traitement en amont.

En médecine rurale, cela est notamment le cas lors d'échec thérapeutique dans un cas de pathologie respiratoire. Les principaux agents bactériens responsables de pathologies respiratoires sont les Pasteurelles [64]. En effet, une étude réalisée sur 133 veaux, provenant de plusieurs départements français, met en évidence une prévalence de 28% pour *M. haemolytica* contre une prévalence de plus de 60% pour *P. multocida* [125], cette prévalence pouvant aller jusqu'à plus de 80% [64].

De plus, en tant qu'agent de surinfection à la suite d'une infection virale, la prévalence des infections dues aux Pasteurelles peut aller de 60 à 80% avec une mortalité proche de 20% [66]. Le coût financier de cette pathologie est estimé à 65 € par veau en élevage laitier et 123 € par veau en élevage allaitant [76].

D'après les résultats issus du bilan Résapath 2019, les résistances chez les Pasteurelles, en particulier *Pasteurella multocida*, sont rares mais se développent notamment vis à vis des Tétracyclines (avec 60% de sensibilité chez les bovins et 86% chez les caprins), de la Streptomycine (avec 26% de sensibilité chez les bovins et 30% chez les caprins), Kanamycine, mais ont toutefois une sensibilité d'environ 75% aux Quinolones [110].

Par ailleurs, l'antibiogramme peut aussi s'avérer utile dans le cas d'une pathologie chronique dans un élevage, pour laquelle les différents traitements mis en place n'ont pas permis

d'éliminer l'infection. Ceci est notamment le cas de mammites récidivantes ou chroniques dont aucun autre facteur (zootechnique, environnemental) ne peut en expliquer la chronicité. Par ailleurs, sans nécessiter de traitement en urgence, lors du traitement d'un animal immunodéprimé, un antibiogramme peut s'avérer utile pour traiter efficacement sa pathologie en évitant au mieux la sélection de résistances, favorisant ainsi ses capacités à lutter contre l'infection.

3. Quand se passer d'un antibiogramme ? :

Avant la réalisation d'un antibiogramme, il est nécessaire de s'assurer de l'implication de la souche bactérienne identifiée dans l'infection. La souche identifiée doit être pure. Il est donc inutile de réaliser un antibiogramme sur un germe commensal ou sur un germe contaminant sans rapport avec l'étiologie et le contexte clinique.

Dans le cas d'une bactérie habituellement sensible au traitement de référence, le traitement de 1^{ère} intention est initié sans réaliser d'antibiogramme. Une réévaluation de l'état de l'animal sera nécessaire afin de s'assurer de l'efficacité du traitement.

L'antibiogramme est un test réalisé *in-vitro* avec des concentrations qui ne sont pas représentatives des concentrations atteintes lors de traitements locaux. En effet, les concentrations d'antibiotique par voie locale sont plus élevées [32], notamment dans le cas du traitement d'une mammite par voie locale [136], dès lors les résultats de l'antibiogramme ne pourront être appliqués. Une souche dite « intermédiaire ou résistante » sur un antibiogramme ne le sera pas forcément en présence d'une concentration en antibiotique plus élevée lors d'un traitement local. Il est donc inutile d'envisager un antibiogramme lors de traitement local.

Par ailleurs, il est possible que dans certains cas la réalisation du prélèvement pour antibiogramme soit impossible. Cette impossibilité peut provenir du site infectieux en lui-même (impossibilité d'atteindre ce site), ou bien l'état clinique de l'animal qui interdit tout prélèvement, notamment en cas de détresse respiratoire chez un animal atteint par une infection respiratoire. Dans ce cas, la réalisation d'un antibiogramme est alors impossible, de même que pour le diagnostic bactériologique, il faut alors se passer de ce test pour traiter l'animal.

c. Bilan : Utilité de l'antibiogramme en médecine des animaux de production :

En médecine des animaux de production, l'antibiogramme est un outil dont l'importance varie selon les cas de figure.

Dans cette branche de la médecine vétérinaire, les 3 dominantes pathologiques sont : les pathologies digestives, les pathologies respiratoires, et les mammites [110].

En effet, depuis les dernières décennies, les *Escherichia coli* développent de plus en plus de résistances à plusieurs antibiotiques à la fois [110]. Ces bactéries sont la principale cause d'infection digestive chez les ruminants (en particulier les jeunes individus) [110][9], et responsables d'infection graves se propageant rapidement au sein d'un troupeau ou d'un lot [1][88]. Il en va de même pour les Salmonelles [110]. Ceci fait que l'antibiogramme est un INDISPENSABLE pour ce type de pathologie.

Par ailleurs, pour traiter une pathologie chronique, ou bien en cas d'échec thérapeutique de 1^{ère} intention, l'antibiogramme s'avère être un outil efficace, en particulier en cas d'échec thérapeutique lors d'une infection respiratoire. En effet, les résistances bactériennes aux antibiotiques sont rares dans ce type de pathologie [110], mais, lorsqu'elles sont présentes dans un élevage, la rapidité d'évolution clinique et la vitesse de propagation au sein du groupe [66] font que l'emploi d'un antibiogramme est UTILE pour déterminer au mieux la souche bactérienne en cause et son profil de sensibilité.

D'un autre côté, en médecine des animaux de production, les résistances des souches responsables d'infections bactériennes locales sont très rares [110]. De plus, pour des infections comme les mammites, celles-ci sont traitées efficacement par les protocoles de soins employant des formulations antibiotiques par voie locale. En effet, par cette voie, les concentrations en antibiotiques sont supérieures à celles employées pour la réalisation des antibiogrammes, concentrations auxquelles les résistances sont rares [32]. Par conséquent, l'emploi d'un antibiogramme pour ce type de pathologie est SUPERFLU en 1^{ère} intention.

L'ensemble de ces cas de figures est représenté dans la Figure 29.

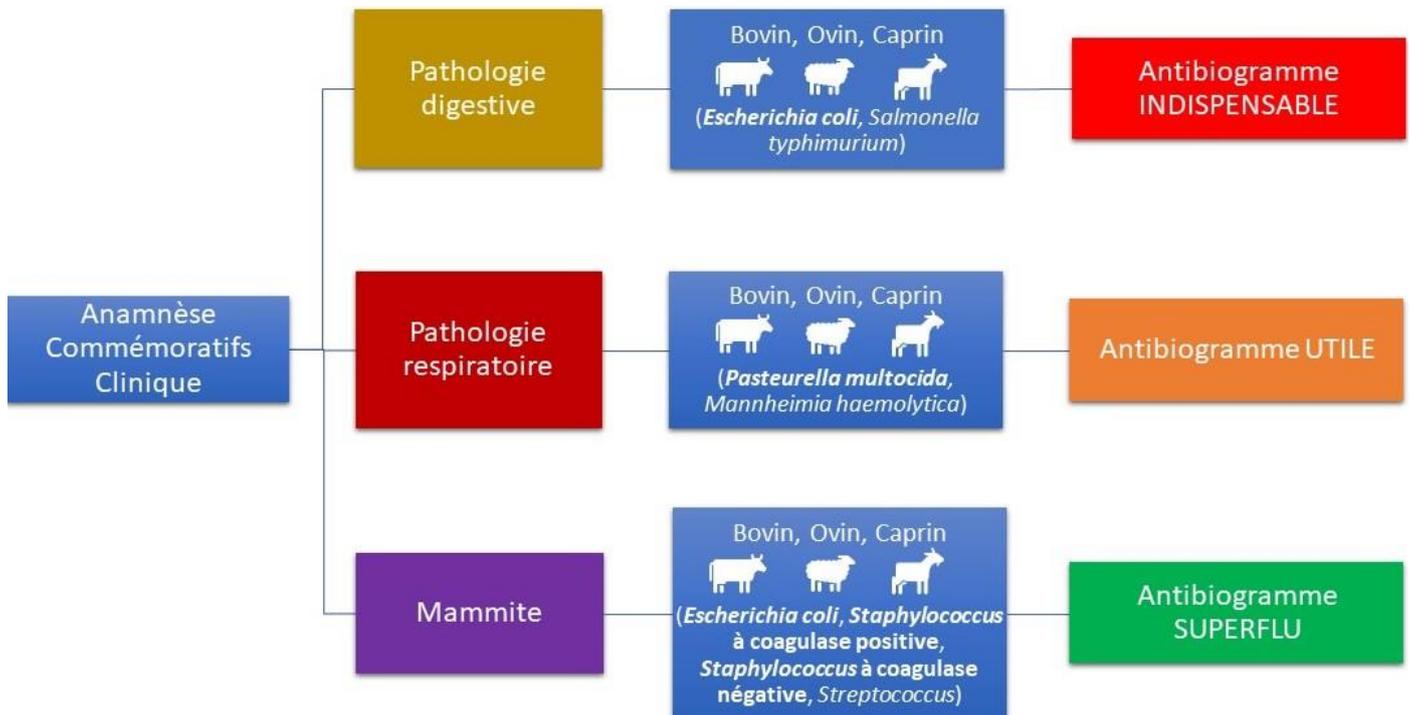


Figure 29 : Arbre décisionnel pour la détermination de l'importance de l'utilisation d'un antibiogramme selon le type de pathologie en médecine des animaux de production. Source : Auteur.

De manière plus générale, la Figure 30 reprend l'ensemble de la démarche à suivre en cas de réalisation d'un antibiogramme.

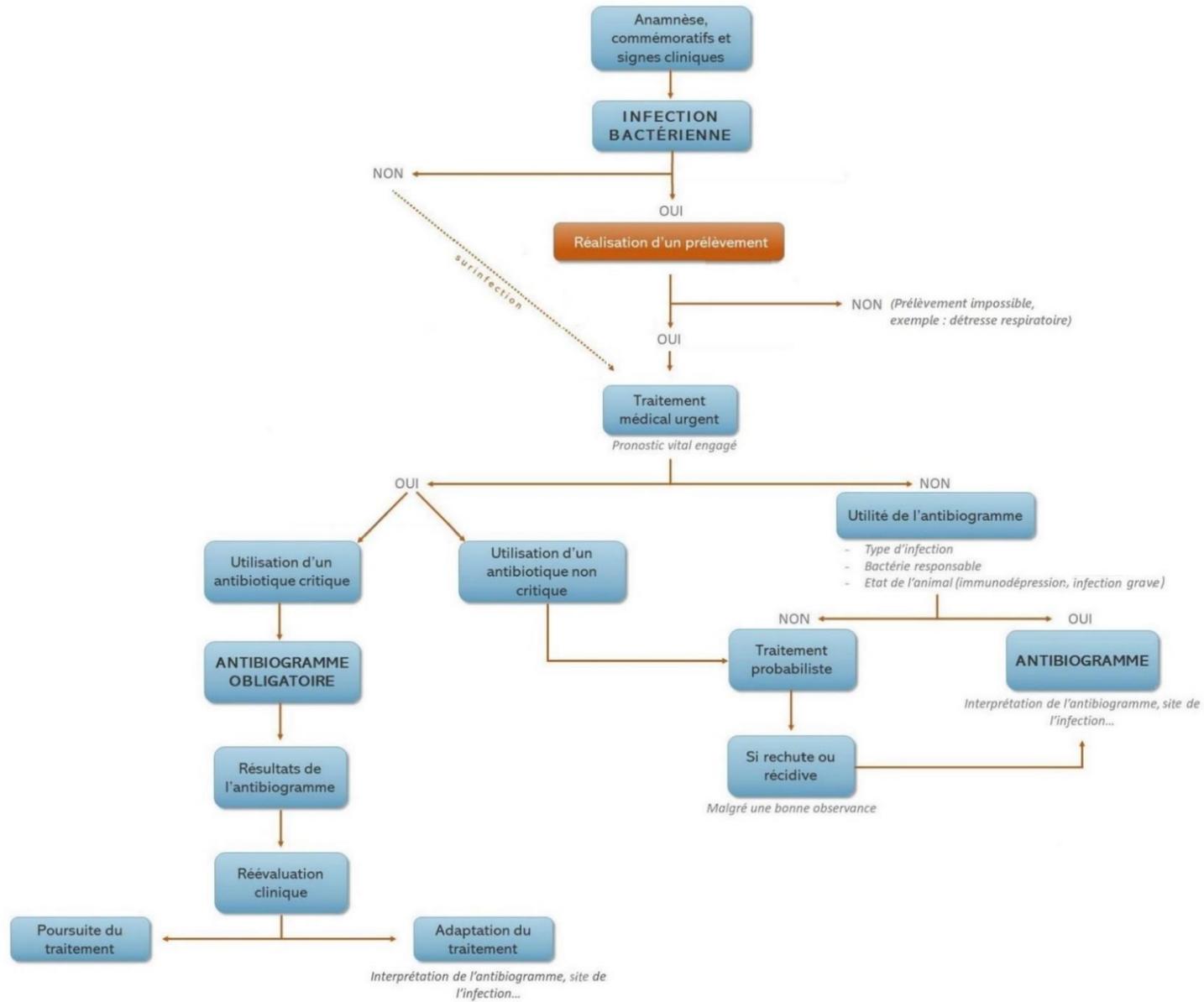


Figure 30 : Arbre décisionnel de réalisation d'un antibiogramme en médecine vétérinaire. Source : Auteur.

IV. Usage de l'antibiogramme dans différents cas cliniques :

1. Cas n°1 : Gastro-entérite néonatale dans un lot de veaux

a. Anamnèse et commémoratifs :

Début octobre 2020, de nombreux cas de gastro-entérite néonatale apparaissent dans un élevage laitier de Saône-et-Loire (71). Les veaux atteints sont des veaux croisés Montbéliard et Charolais. Ils sont examinés rapidement par un vétérinaire de la clinique traitante de l'élevage, ils présentent tous le même tableau clinique : diarrhée, hyperthermie légère à modérée (de 38,5°C à 39,5°C), animal en décubitus latéral, états de déshydratation variables selon les individus lors de leur examen clinique, allant de 5 à 10%, extrémité des membres froides, énophtalmie de 2 à 3 mm, perte ou diminution du réflexe de succion, pli de peau persistant quelques secondes. Ces cas de gastro-entérite néonatale ont perduré dans cet élevage sur tout le mois d'octobre, sans réponse au traitement médical mis en place : fluidothérapie adaptée à l'état de déshydratation et d'acidose (Bioveine Alcalin ND IV, NaCl 0,9% IV), un traitement antibiotique à base de Gentamicine ou de Sulfamide/Triméthoprime en 1 fois en IM (selon le praticien intervenu sur les différents cas), un anti-inflammatoire non-stéroïdien (Méloxicam - Métacam ND) 4 mL SC. Les cas se multipliant, sur les conseils de son vétérinaire traitant, l'éleveur a accepté la réalisation d'un antibiogramme sur les fèces de ses veaux atteints, prélèvement réalisé le 19/10/2020.

b. Résultats de l'antibiogramme :

Tableau 22 : Résultat de l'antibiogramme réalisé sur fèces de veaux atteints de gastro-entérite néonatale. Source : Laboratoire Agrivalys 71.

Germe identifié : E. coli F17
Prélèvement : Fèces

Antibiotiques	Interp. (*)			Diamètres mesurés (mm)	Diamètres critiques (mm)
	S	I	R		
* 1- Beta-lactamines - Pénicillines					
Amoxicilline 25 µg (AMX) - 1			X	6	14-21
Amoxicil. +Ac.clavulan. 20/10 µg (AMC)			X	10	14-21
* 2- Beta-lactamines - Céphalosporines					
Céfalexine 30 µg (CXN)	X			19	12-18
Céfuroxime 30 µg (CXM)			X	18	22
Ceftiofur 30 µg (XNL)	X			26	18-21
Cefquinome 30 µg (CEQ)	X			22	19-22
* 3- Aminosides					
Apramycine 15 µg (APR)	X			18	12-15
Streptomycine 10 µg (SMN)			X	6	13-15
Gentamicine 15 µg (GMI) - 1			X	9	16-18
* 6- Polypeptides					
Colistine 50 µg (CO) - 1	X			18	15-18
* 7- Tétracyclines					
Tétracycline 30 µg (TET)			X	6	17-19
* 8- Sulfamides					
Trimétho.+Sulfaméth.1,25/23,75µg (SXT)			X	6	10-16
* 9- Quinolones - Fluoroquinolones					
Enrofloxacin 5 µg (ENR) - 1			X	8	19
Marbofloxacin 5 µg (MAR) - 1			X	12	19

(* S : sensible - I : intermédiaire - R : résistant)

Le germe isolé dans le prélèvement réalisé dans cet élevage est une *E. coli* F17, germe connu comme responsable de gastro-entérite néonatale chez les veaux, infection ayant lieu dans les premiers jours post-partum.

Ce germe est présentement résistant aux antibiotiques suivants : Amoxicilline avec ou sans Acide clavulanique, Céfurixome, Streptomycine et Gentamicine, Tétracyclines, à toutes les associations de Sulfamide et Triméthoprim, et enfin aux Quinolones et Fluoroquinolones.

Les résultats de cet antibiogramme sont inquiétants car, dans un premier temps ils montrent que la souche bactérienne était résistante aux antibiotiques utilisés par les praticiens en 1^{ère} intention, dans un second temps, qu'elle est aussi résistante aux Quinolones, Tétracyclines et Gentamicine, trois pistes de traitements possible pour traiter cette affection, et aussi résistante à l'Amoxicilline avec ou sans Acide Clavulanique.

Cependant, l'antibiogramme montre que cette souche de *E. coli* est sensible à la Colistine. Le traitement antibiotique des veaux dans cet élevage a alors été modifié par une administration par voie générale de Colistine (SODICOLYND 5mL en IM par veau matin et soir pendant 3 jours).

c. Importance de la réalisation de l'antibiogramme :

Les *E. coli* sont la principale cause bactérienne de gastro-entérite néonatale chez les veaux de moins de 4 jours [9]. La prévalence de *E. coli* dans les gastro-entérites néonatales de veaux est élevée [9]. D'après le bilan du Résapath 2019, les *E. coli* responsables de pathologies digestives chez les jeunes bovins présentent d'importantes proportions de résistance à plusieurs antibiotiques (cf. *Tableau 23*) [110].

Tableau 23 : Proportion de sensibilité de *E. coli* responsable de pathologies digestives chez les jeunes bovins pour les antibiotiques testés. Source : Bilan Résapath 2019 [110].

Antibiotique	Total (N)	% S
Amoxicilline	3 588	15
Amoxicilline Ac. clavulanique	3 679	41
Céfalaxine	3 148	82
Céfalotine	636	75
Céfoxitine	3 352	91
Céfuroxime	1 419	82
Céfopérazone	895	91
Ceftiofur	3 668	97
Cefquinome 30 µg	3 465	94
Streptomycine 10 UI	2 251	17
Spectinomycine	1 391	55
Kanamycine 30 UI	1 203	38
Gentamicine 10 UI	3 623	79
Néomycine	2 530	44
Apramycine	1 989	93
Tétracycline	3 505	23
Doxycycline	248	7
Chloramphénicol	169	56
Florfénicol	2 757	76
Ac. nalidixique	2 179	68
Ac. oxolinique	592	67
Fluméquine	1 311	68
Enrofloxacin	3 070	91
Marbofloxacin	2 539	91
Danofloxacin	905	91
Sulfamides	646	23
Triméthoprim	331	64
Triméthoprim-Sulfamides	3 672	60

Ces fortes proportions de résistance à de multiples antibiotiques rend le risque d'échec thérapeutique de 1^{ère} intention très élevé. De plus, dans cette situation, la morbidité de l'affection est importante, et sa vitesse de propagation au sein d'un groupe d'animaux est très élevée [1]. Ce type de situation fait que l'utilisation d'un antibiogramme est INDISPENSABLE.

Par ailleurs, les 2 principaux profils de résistance des *E. coli* que sont les E-BLSE et les *E. coli* productrices de CHN (*cf. partie II sur les mécanismes de résistance*) ont une forte prévalence de portage intestinal chez les veaux, 29,4% pour les BLSE [57] et 21,6% pour les CHN [60]. Or, en médecine vétérinaire, la détection d'un de ces profils de résistance implique une résistance à toutes les bêta-lactamines disponibles en médecine vétérinaire [33]. Ceci est un problème majeur de l'antibiothérapie en médecine vétérinaire, et la forte prévalence des *E. coli* en pathologie digestive [9] ainsi que la forte prévalence de ces profils de résistance chez les *E. coli* intestinales des veaux [57][60] rendent INDISPENSABLE l'utilisation d'un antibiogramme dans un cas de gastro-entérite néonatale bovine.

2. Cas n°2 : Broncho-pneumonie infectieuse dans un troupeau de chèvres

a. Anamnèse et commémoratifs :

Le cas suivant provient d'un élevage de 160 chèvres de race Saanen dans la Drôme (26). Au cours du mois de mai 2021, de nombreux individus ont présenté successivement le même ensemble de symptômes respiratoires : toux, jetage muqueux, abattement, hyperthermie (40°C). L'état clinique des animaux, toutes classes d'âge confondues, a rapidement évolué vers la mort, avec un bilan de 40 décès sur l'ensemble des 160 individus du troupeau en 3 semaines. Le traitement mis en place était une unique injection de 5 mL d'Oxytétracycline en intra-musculaire uniquement sur les animaux symptomatiques lors de la détection des symptômes. Les animaux sont décédés 1 à 2 jours après malgré le traitement mis en place.

À la suite d'un changement du vétérinaire traitant, une autopsie a été réalisée, mettant en évidence des poumons indurés, des plages hémorragiques sur les poumons, une pleurésie fibrino-purulente, un cœur induré avec une hypertrophie du myocarde du ventricule gauche, un liquide d'épanchement séreux dans le péricarde, également présent dans la cavité abdominale, et une légère hypertrophie du foie. Une biopsie de poumon a été réalisée, sur laquelle une identification bactérienne et un antibiogramme ont été demandés (*cf. Tableau 24*).

b. Résultats de l'antibiogramme :

Tableau 24 : Résultat de l'antibiogramme réalisé sur poumons de chèvres atteintes de Broncho-pneumonie infectieuse. Source : Laboratoire Leptospires et Analyses Vétérinaire – VetAgro Sup Lyon.

Prélèvement	Poumon CHEVRES	Souche <i>Pasteurella multocida</i>				
BETALACTAMINES				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Pénicilline G	Résistant	6	29		
	Amoxicilline	Résistant	6	14-21		
	Amoxicilline + ac. clavulanique	Sensible	29	14-21		
	Céfalexine (C1G)	Sensible	24	12-18		
	Ceftiofur (C3G)	Sensible	25	18-21		
	Cefquinome (C4G)	Sensible	28	19-22		
AMINOSIDES				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Gentamicine	Sensible	32	14-16		
	Kanamycine	Sensible	30	15-17		
	Streptomycine	Résistant	6	13-15		
TETRACYCLINES				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Tétracycline	Résistant	6	17-19		
Interprétation valable pour l'oxytétracycline et la chlortétracycline.						
PHENICOLES				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Florfenicol	Résistant	6	15-19		
QUINOLONES				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Fluméquine	Sensible	26	21-25		
	Enrofloxacin	Sensible	24	17-22		
	Marbofloxacin	Sensible	24	15-18		
Fluméquine : Interprétation valable pour l'acide oxolinique.						
POLYPEPTIDE				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Colistine	Sensible	20	15		
SULFAMIDES & ASSOCIATION				interprétation	lecture	diamètres critiques
	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	Résistant	6	10-16		
Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.						

Le germe isolé dans le prélèvement réalisé dans cet élevage est *Pasteurella multocida*, germe connu comme responsable de Bronchopneumonie Infectieuse Enzootique (BPIE) chez les ruminants.

Ce germe est résistant aux antibiotiques suivants : Pénicilline G, Amoxicilline sans Acide clavulanique, Streptomycine, Tétracyclines, Florfenicol, et à toutes les associations de Sulfamide et Triméthoprime. Les résultats de l'antibiogramme sont inquiétants. Cette souche est résistante aux Tétracyclines et au Florfenicol, traitements classiques et de référence contre les infections respiratoires, ainsi qu'aux associations de Sulfamides et Triméthoprime, autre potentielle solution thérapeutique. Ces résistances rendent les traitements classiques inutiles et peuvent expliquer l'échec du traitement mis en place en 1^{ère} intention.

Grâce aux résultats de l'antibiogramme, un traitement à la Marbofloxacin a été mis en place (4,8 mL par animal en une fois en IM) accompagné par un anti-inflammatoire non-stéroïdien (KetinkND 4 mL par animal 1 fois par jour pendant 3 jours). Traitement qui a enrayé la mortalité et permis la guérison du troupeau.

c. Importance de la réalisation de l'antibiogramme :

Le cas présent est un cas d'échec thérapeutique sur une pathologie respiratoire, aigue et d'évolution rapide et mortelle au sein du troupeau.

Le germe détecté ici, *Pasteurella multocida* est un pathogène fréquemment retrouvé dans ce type de cas [125]. D'après le Bilan Résapath 2019, cette souche bactérienne présente une proportion grandissante de résistance à plusieurs antibiotiques [110].

Tableau 25 : Proportion de sensibilité pour les antibiotiques testés, pour toutes les *Pasteurella* toutes pathologies confondues chez les caprins. Source : Bilan Résapath 2019 [110].

Antibiotique	Total (N)	% S
Amoxicilline	216	90
Amoxicilline Ac. clavulanique	191	94
Céfalexine	173	98
Céfalotine	58	100
Céfoxitine	87	100
Céfuroxime	63	98
Céfopérazone	64	98
Ceftiofur	195	98
Cefquinome 30 µg	204	97
Streptomycine 10 UI	172	30
Spectinomycine	80	60
Kanamycine 30 UI	69	57
Gentamicine 10 UI	184	95
Néomycine	106	63
Tétracycline	210	84
Doxycycline	44	80
Florfenicol	215	100
Ac. nalidixique	171	82
Fluméquine	48	83
Enrofloxacin	211	94
Marbofloxacin	170	97
Danofloxacin	78	94
Triméthoprim-Sulfamides	220	80

Ces données montrent que les résistances aux antibiotiques de *Pasteurella multocida* en pathologie respiratoire caprine sont peu probables, mais lorsqu'elles sont présentes, la vitesse d'évolution clinique et la vitesse importante de propagation au sein d'un troupeau [66][106] font que l'antibiogramme est un outil UTILE dans le traitement en cas d'échec du protocole de 1^{ère} intention.

3. Cas n° 3 : Mammite

a. Anamnèse et commémoratifs :

Le cas suivant est une vache Prim'Holstein de 4 ans. Elle provient d'un élevage laitier avec environ 20 vaches Prim'Holstein en lactation. Cette vache a présenté un comptage cellulaire élevé à chaque contrôle laitier entre octobre 2020 (920 000 Cellules/mL) et janvier 2021 (1 601 000 Cellules/mL). Sur cette période, la vache en était à respectivement 358 et à 448 jours de lactation, sans avoir reçu de traitement autres que ceux utilisés par l'éleveur au tarissement (MastijetND intra-mammaire). Aucun signe clinique rapporté par l'éleveur sur cette période.

Au sein de cet élevage, seuls 3 individus présentaient un comptage cellulaire élevé à plusieurs reprises (supérieur à 700 000 Cellules/mL), les autres individus avaient des comptages cellulaires dans les normes au contrôle laitier.

Un prélèvement de lait a été réalisé pour identification et antibiogramme lors d'un audit d'élevage, car elle présentait ce jour-là le plus haut comptage au dernier contrôle laitier (1 601 000 Cellules/mL).

b. Résultats de l'antibiogramme :

Tableau 26 : Résultat de l'antibiogramme réalisé sur le lait d'une vache atteinte d'une mammite.
Source : Laboratoire Leptospires et Analyses Vétérinaire – VetAgro Sup Lyon.

BETALACTAMINES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Pénicilline G	Sensible	36	29
Céfoxitine (C2G)*	Non utilisable	26	25
Céfovécine (C2G)	Sensible	36	24
Amoxicilline + ac. clavulanique	Sensible	38	14-21
Céfalexine (C1G)	Sensible	30	12-18
Ceftiofur (C3G)	Sensible	35	21
La souche est sensible à toutes les bêta-lactamines.			
Céfoxitine : cette molécule n'est pas disponible en médecine vétérinaire mais son utilisation dans les antibiogrammes permet d'affiner la détection des souches possédant des enzymes bactériennes de résistance.			
AMINOSIDES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Streptomycine	Sensible	18	13-15
Gentamicine	Sensible	29	20
Kanamycine	Sensible	24	15-17
MACROLIDES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Spiramycine	Sensible	24	20
Erythromycine	Sensible	29	17-22
LINCOSAMIDES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Lincomycine	Sensible	27	17-21
Non utilisable chez les équidés.			
SULFAMIDES & ASSOCIATION	interprétation	lecture	diamètres critiques
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	Sensible	30	10-16
Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.			
TETRACYCLINES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Tétracycline	Sensible	31	17-19
Interprétation valable pour l'oxytétracycline, la chlortétracycline et la doxycycline.			
QUINOLONES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Marbofloxacin	Sensible	30	19
Interprétation valable pour toutes les fluoroquinolones.			
RIFAMYCINES	interprétation	lecture	diamètres critiques
Rifampicine	Sensible	37	24-29

Le germe détecté dans ce prélèvement de lait est un Staphylocoque à coagulase positive. Ce type de germe peut être responsable de mammite chez les ruminants. Celui détecté ici ne présente aucune résistance aux antibiotiques testés. Ainsi, aucun problème n'est posé par cette souche concernant son traitement. L'éleveur peut mettre en place son traitement habituel recommandé par son vétérinaire traitant, une solution intra-mammaire, le MastijetND contenant une association de

plusieurs antibiotiques : Tétracycline, Néomycine et Bacitracine. Traitement classique d'un cas de mammite.

c. Importance de la réalisation de l'antibiogramme :

L'antibiogramme est un test in-vitro, les concentrations d'antibiotique ne sont pas représentatives de celles qui peuvent être administrées par voie locale [32]. Ainsi, dans le cas d'une mammite, les concentrations en antibiotiques administrés par voie locale sont bien plus importantes que les concentrations in-vitro de l'antibiogramme [136]. L'antibiogramme présente dans ce cas peu d'intérêt.

Les agents bactériens majeurs responsables de mammites chez les bovins sont les Staphylocoques, Streptocoques, et *E. coli*. Or, D'après les résultats du bilan Résapath 2019, les résistances aux antibiotiques de ces trois espèces bactériennes dans ce type de cas sont rares (cf. Tableau 27). Ce type de situation fait que l'utilisation d'un antibiogramme lors d'un cas de mammite est SUPERFLU, sauf en cas de récurrence ou d'échec du traitement de première intention.

Tableau 27 : Proportion de sensibilité des principales souches bactériennes responsables de mammite chez les bovins pour les antibiotiques testés. Source : Bilan Résapath 2019 [110].

Staphylococcus à coagulase positive			Staphylococcus à coagulase négative			<i>E. coli</i>		
Antibiotique	Total (N)	% S	Antibiotique	Total (N)	% S	Antibiotique	Total (N)	% S
Pénicilline G	400	83	Pénicilline G	482	74	Amoxicilline	1 102	66
Céfoxitine	383	92	Céfoxitine	448	97	Amoxicilline Ac. clavulanique	1 110	78
Oxacilline	44	98	Oxacilline	76	95	Céfalexine	1 020	87
Céfovécine	98	100	Céfovécine	96	98	Céfalotine	373	89
Erythromycine	356	95	Erythromycine	412	88	Céfoxitine	1 015	96
Tylosine	267	99	Tylosine	310	92	Céfuroxime	531	93
Spiramycine	391	97	Spiramycine	471	91	Céfopérazone	686	99
Lincomycine	400	98	Lincomycine	485	79	Céfovécine	60	100
Pirlimycine	34	97	Pirlimycine	60	92	Ceftiofur	1 040	100
Streptomycine 10 UI	310	87	Streptomycine 10 UI	360	81	Cefquinome 30 µg	1 021	100
Kanamycine 30 UI	257	99	Kanamycine 30 UI	279	98	Streptomycine 10 UI	728	74
Gentamicine 10 UI	392	99	Gentamicine 10 UI	471	99	Spectinomycine	215	92
Néomycine	214	98	Néomycine	273	97	Kanamycine 30 UI	565	89
Tétracycline	376	96	Tétracycline	459	82	Gentamicine 10 UI	1 107	98
Florfénicol	124	98	Florfénicol	172	99	Néomycine	764	86
Enrofloxacin	314	100	Enrofloxacin	385	99	Apramycine	382	99
Marbofloxacin	344	100	Marbofloxacin	396	100	Tétracycline	1 010	80
Triméthoprime-Sulfamides	345	98	Triméthoprime-Sulfamides	373	97	Chloramphénicol	43	70
Rifampicine	102	99	Rifampicine	136	96	Florfénicol	743	95
<i>Streptococcus uberis</i>			<i>Streptococcus dysgalactiae</i>			Ac. nalidixique	750	95
969						Ac. oxolinique	173	94
Antibiotique	Total (N)	% S	Antibiotique	Total (N)	% S	Fluméquine	336	95
Oxacilline	790	85	Oxacilline	133	97	Enrofloxacin	940	98
Erythromycine	912	86	Erythromycine	151	89	Marbofloxacin	938	97
Tylosine	521	82	Tylosine	103	86	Danofloxacin	430	98
Spiramycine	921	85	Spiramycine	165	91	Sulfamides	283	82
Lincomycine	964	85	Lincomycine	166	89	Triméthoprime	243	89
Streptomycine 500 µg	885	88	Streptomycine 500 µg	148	95	Triméthoprime-Sulfamides	1 082	88
Kanamycine 1000 µg	732	94	Kanamycine 1000 µg	121	93			
Gentamicine 500 µg	923	98	Gentamicine 500 µg	156	100			
Tétracycline	877	84	Tétracycline	155	12			
Doxycycline	48	92	Florfénicol	60	100			
Florfénicol	382	97	Enrofloxacin	147	52			
Enrofloxacin	821	68	Marbofloxacin	146	90			
Marbofloxacin	769	94	Triméthoprime-Sulfamides	152	91			
Triméthoprime-Sulfamides	903	90	Rifampicine	65	72			
Rifampicine	312	59						

CONCLUSION

L'ambition de ce guide pratique a été de fournir aux praticiens un moyen d'améliorer leur pratique au quotidien, leur démarche diagnostique, ainsi que de leur fournir des éléments entrant dans l'élaboration des plans thérapeutiques.

Ce guide pratique est centré sur l'utilisation des antibiogrammes, dans lequel nous avons tenté de recenser l'ensemble des éléments nécessaires à sa réalisation, son interprétation pour une pratique quotidienne, mais aussi souligner l'utilité de l'antibiogramme dans la lutte contre l'antibiorésistance.

Pour se faire, il a été essentiel, dans un premier temps de mettre en avant les différentes étapes de réalisation de ce test selon la méthode des disques, méthode de référence reconnue en France et à l'internationale, de sa conception à sa réalisation. Méthode pouvant être mise en place par tous les praticiens, dès lors que les recommandations sont respectées et correctement réalisées. Il a été non moins essentiel de rappeler le cadre législatif impliquant l'utilisation de l'antibiogramme.

Permettant de déterminer les profils de résistance de souches bactériennes, il était alors important de rassembler et d'exposer dans un second temps les mécanismes de résistance des principaux agents bactériens responsables d'infections chez les animaux en France. La connaissance de ces mécanismes permet d'élargir cette résistance à d'autres molécules, et ainsi faire un choix raisonné pour la thérapeutique.

Enfin, pour donner un caractère pratique à ce guide, sont présentés dans ce document sous forme de schémas logiques, l'ensemble des cas de figures de l'utilisation de l'antibiogramme, ainsi que la conduite à tenir lors de son utilisation. Par la suite, c'est avec différents cas cliniques que sont illustrés les situations les plus prévalentes en médecine bovine.

D'un point de vue pratique courante, l'antibiogramme prend une place grandissante dans la démarche diagnostique pour un certain nombre de cas, et s'impose comme un élément clé dans la réussite du traitement. Ce test est également devenu, dans l'esprit des cliniciens en médecine des animaux de production, une évidence dans leur pratique courante, le problème de l'antibiorésistance se posant de plus en plus régulièrement. Dans cette filière, les résultats de ce test revêtent un double intérêt, le premier comme étant un outil permettant d'illustrer aux éleveurs la situation sanitaire de leur élevage, le second une clé pour orienter le choix thérapeutique.

D'un point de vue plus personnel, je trouve que l'antibiogramme est un outil efficace pour optimiser l'élaboration d'un plan thérapeutique. Son coût peut représenter un obstacle par rapport à l'intérêt qu'on peut lui accorder, mais il est, à mon avis, plus un investissement qu'une perte. D'un côté, il offre une réponse claire au praticien dans ses possibilités thérapeutiques, mais aussi un moyen clair et pédagogique dans les discussions qu'un praticien peut avoir avec sa clientèle, que ce soit auprès de particuliers, que d'éleveurs. L'obtention des résultats permet aussi, au long terme, d'optimiser le temps de traitement, en employant directement une stratégie adaptée au cas, notamment en médecine de populations.

L'intérêt de l'antibiogramme n'est pas forcément évident pour la clientèle, il revient alors au praticien de convaincre lorsque son utilisation se justifie, et j'espère que ce travail pourra contribuer à ces discussions.

Bibliographie :

- [1] ABUELO, Angel, 2016. Investigation of an outbreak of neonatal calf diarrhoea in a dairy herd. In : Veterinary Record Case Reports. 2016. Vol. 4, n° 2, p. e000372.
- [2] J. Acar et B. Röstel, « Antimicrobial resistance: an overview », *Rev Sci Tech*, vol. 20, n° 3, p. 797-810, déc. 2001, doi: 10.20506/rst.20.3.1309.
- [3] Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé - AFSSAPS. (2009, avril). *Escherichia coli hyperproducteur de céphalosporinase* [Photographie]. Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale. https://archiveansm.integra.fr/var/ansm_site/storage/original/application/13c5d9a42df26eca09b52f6811d4c391.pdf
- [4] « AMR Review Paper - Tackling a crisis for the health and wealth of nations ».
- [5] Andrews, J. M. (2001, 1 juillet). *Determination of minimum inhibitory concentrations*. OUP Academic. https://academic.oup.com/jac/article/48/suppl_1/5/2473513
- [6] ANSES. (2019, octobre). *Attestation de conformité des dispositifs commerciaux destinés à déterminer la sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes d'origine animale*. <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABO-Ft-Antibiogramme-Attestation-conformite-Vitek2-Biomerieux.pdf>
- [7] ANSES. (2017, octobre). *AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la saisine n 2016-SA-0184 concernant les normes et méthodes validées pour la détermination de la sensibilité bactérienne aux antibiotiques en médecine vétérinaire (Saisine n° « 2016-SA-0184 »)*. <https://www.anses.fr/fr/system/files/LABORATOIRE2016SA0184.pdf>
- [8] P. C. Appelbaum, « Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for Drug Selection | EndNote Click ». https://click.endnote.com/viewer?doi=10.1086%2F340400&token=WzMzNzg1MTIsIjEwLjEwODYvMzQwNDAwIl0.8RSEcGCB2ROXK87hHHSgnlY_qc0 (consulté le juill. 27, 2021).
- [9] Sébastien Assié, S. A. (2006, janvier). *Agents pathogènes mis en évidence chez des veaux lors de gastro-entérites néonatales dans les troupeaux bovins de Vendée*. researchgate.net. https://www.researchgate.net/publication/287418262_Agents_pathogenes_mis_en_evidence_chez_des_veaux_lors_de_gastro-enterites_neonatales_dans_les_troupeaux_bovins_de_Vendee
- [10] *Autorité européenne de sécurité des aliments* « Assessment of the Public Health significance of meticillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in animals and foods ». <https://www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/pub/993> (consulté le mai 04, 2021).
- [11] « Avis 2001/5 : Projets d'arrêtés royaux modifiant la réglementation relative à la guidance vétérinaire.pdf ».
- [12] François Barbier, F. B., & Michel Wolff, M. W. (2010). Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* : Vers l'impasse thérapeutique ? *MEDECINE/SCIENCES*, 26(11), 960-968.

- [13] David A. Bemis, Rebekah D. Jones, Linda A. Frank, Stephen A. Kania, 2009 « Evaluation of Susceptibility Test Breakpoints Used to Predict mecA-Mediated Resistance in *Staphylococcus Pseudintermedius* Isolated from Dogs ». <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/104063870902100108> (consulté le mai 07, 2021).
- [14] D. A. Bemis, R. D. Jones, R. Videla, et S. A. Kania, « Evaluation of ceftiofur disk diffusion breakpoint for detection of methicillin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs », *J VET Diagn Invest*, vol. 24, n° 5, p. 964-967, sept. 2012, doi: 10.1177/1040638712452112.
- [15] Bezabih YM, Sabiiti W, Alamneh E, Bezabih A, Peterson GM, Bezabhe WM, Roujeinikova A. The global prevalence and trend of human intestinal carriage of ESBL-producing *Escherichia coli* in the community. *J Antimicrob Chemother*. 2021 Jan 1;76(1):22-29. doi: 10.1093/jac/dkaa399. PMID: 33305801.
- [16] Philippe Bidet, P. B. (s. d.). *Escherichia coli/Shigelle*. [sfm-microbiologie.org. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_EscherichiaColiShighella.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/content/uploads/2019/07/BACTERIE_EscherichiaColiShighella.pdf)
- [17] E. Bingen, « Résistance du streptocoque du groupe A aux macrolides », *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, vol. 18, n° 7, p. 349-353, nov. 2005, doi: 10.1016/j.jpp.2005.09.010.
- [18] Birgy A, Madhi F, Jung C, Levy C, Cointe A, Bidet P, Hobson CA, Bechet S, Sobral E, Vuthien H, Ferroni A, Aberrane S, Cuzon G, Beraud L, Gajdos V, Launay E, Pinquier D, Haas H, Desmarest M, Dommergues MA, Cohen R, Bonacorsi S; Group of the National Observatory of Urinary tract Infection due to ESBL-producing Enterobacteriaceae in children. Diversity and trends in population structure of ESBL-producing Enterobacteriaceae in febrile urinary tract infections in children in France from 2014 to 2017. *J Antimicrob Chemother*. 2020 Jan 1;75(1):96-105. doi: 10.1093/jac/dkz423. PMID: 31617912.
- [19] Cécile, Dominique, Elise BLONDELET-CADOT, C. B. C. (2001). *SALMONELLA TYPHIMURIUM DT104 : BACTERIOLOGIE, EPIDEMIOLOGIE, ANTIBIORESISTANCE. Etude bibliographique*. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort – ENVA, 2001, 96 p.
- [20] M. V. Boost, M. M. O'Donoghue, et K. H. G. Siu, « Characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from dogs and their owners », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 13, n° 7, p. 731-733, 2007, doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01737.x.
- [21] M. V. Boost, M. M. O'Donoghue, et A. James, « Prevalence of *Staphylococcus aureus* carriage among dogs and their owners », *Epidemiol Infect*, vol. 136, n° 7, p. 953-964, juill. 2008, doi: 10.1017/S0950268807009326.
- [22] Clémence Bourély, C. B. (2019, août 1). *Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolated from diseased food-producing animals and pets*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037811351930478X?via%3Dihub>
- [23] Larry M. Bush, L. M. B. (2020a, février). *Infections à *Escherichia coli* (*E. coli*)*. [msdmanuals.com. https://www.msdmanuals.com/fr/accueil/infections/infections-](https://www.msdmanuals.com)

- [34] « Conseil du 15 novembre 2001 relative à l'utilisation prudente des agents antimicrobiens en médecine humaine ».
- [35] B. Cookson, « Five decades of MRSA: controversy and uncertainty continues », *The Lancet*, vol. 378, n° 9799, p. 1291-1292, oct. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(11)61566-3.
- [36] J. E. Cornick et S. D. Bentley, « Streptococcus pneumoniae: the evolution of antimicrobial resistance to beta-lactams, fluoroquinolones and macrolides », *Microbes Infect*, vol. 14, n° 7-8, p. 573-583, juill. 2012, doi: 10.1016/j.micinf.2012.01.012.
- [37] Stéphane Corvec, S. C., Lise Crémet, L. C., Céline Leprince, C. L., Sandie Dauvergne, S. D., Alain Reynaud, A. R., Didier Lepelletier, D. L., & Nathalie Caroff, N. C. (2010, 1 juillet). *Epidemiology of Escherichia coli clinical isolates producing AmpC plasmidic bêta-lactamase during a 5-year period in a French teaching Hospital*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073288931000043X>
- [38] Olivier Dauwalder, O. D., & JP Flandrois, J. P. F. (s. d.). *Salmonella spp.* spiralconnect.univ-lyon1.fr. <http://spiralconnect.univ-lyon1.fr/webapp/course/course.html?id=1676761&viewMode=visu&idChapter=1676761>
- [39] « Décret n° 2016-317 du 16 mars 2016 relatif à la prescription et à la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique - Légifrance ». <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000032251629/>
- [40] DGOS, « Qu'est-ce que le PROPIAS ? », *Ministère des Solidarités et de la Santé*, juill. 07, 2021. <https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/qualite-des-soins-et-pratiques/securite/programme-national-d-actions-de-prevention-des-infections-associees-aux-soins/article/qu-est-ce-que-le-propias> (consulté le juill. 07, 2021).
- [41] B. Duim *et al.*, « Changes in the Population of Methicillin-Resistant Staphylococcus pseudintermedius and Dissemination of Antimicrobial-Resistant Phenotypes in the Netherlands », *J Clin Microbiol*, vol. 54, n° 2, p. 283-288, févr. 2016, doi: 10.1128/JCM.01288-15.
- [42] O. Dumitrescu, O. Dauwalder, S. Boisset, M.-É. Reverdy, A. Tristan, et F. Vandenesch, « Résistance aux antibiotiques chez Staphylococcus aureus - Les points-clés en 2010 », *Med Sci (Paris)*, vol. 26, n° 11, Art. n° 11, nov. 2010, doi: 10.1051/medsci/20102611943.
- [43] M.C. El Bouamri, M. C. E. (2014, 25 décembre). *Test de synergie positif (aspect en bouchon de champagne)*. [Photographie]. PROFIL ACTUEL DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES DES SOUCHES D'ESCHERICHIA COLI UROPATHOGÈNES ET CONSÉQUENCES THÉRAPEUTIQUES. <https://www.urofrance.org/base-bibliographique/profil-actuel-de-resistance-aux-antibiotiques-des-souches-d-escherichia-coli>
- [44] « Epidemiology of Invasive Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Clones Collected in France in 2006 and 2007 | Journal of Clinical Microbiology ». <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/JCM.01050-08> (consulté le juill. 19, 2021).

- [45] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2021, janvier 1–21). *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters (11.0)* [Base de données]. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_11.0_Breakpoint_Tables.pdf
- [46] EUCAST. (2016b, août 30). *2 Inoculation english* [Vidéo]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=2fp6UORfYGg&list=PLQU_kWRWBld4fDhv1T1KOR5bKUUTJ2v6W&index=2
- [47] EUCAST. (2016a, août 29). *1 Preparation of inoculum (english)* [Vidéo]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=M6KpdQjsgdI&list=PLQU_kWRWBld4fDhv1T1KOR5bKUUTJ2v6W
- [48] EUCAST. (2016d, septembre 1). *4 Reading of zones english* [Vidéo]. YouTube. https://www.youtube.com/watch?v=TXwPEHxjBSI&list=PLQU_kWRWBld4fDhv1T1KOR5bKUUTJ2v6W&index=4
- [49] Faculté Vetsuisse, Association Suisse pour la Médecine des petits Animaux (ASMPA), Société des Vétérinaires Suisses (SVS), & Office fédéral de la sécurité alimentaire et des affaires vétérinaires (OSAV). (2019). *Utilisation prudente des antibiotiques Chiens et chats - Guide thérapeutique pour les vétérinaires* (1^{re} éd.).
- [50] « Feuille de route interministérielle visant à maîtriser la résistance bactérienne aux antibiotiques du 17 novembre 2016 ».
- [51] Ross Fitzgerald - « The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of meticillin resistance - 2009 - Veterinary Dermatology - Wiley Online Library ». <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-3164.2009.00828.x> (consulté le juill. 14, 2021).
- [52] « Fluoroquinolone resistance in *Staphylococcus intermedius*-Web of Science Core Collection ». <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000082119200010> (consulté le juill. 19, 2021).
- [53] P. Galletti *et al.*, « Identification and molecular epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from canine clinical samples in Argentina », *BMC Veterinary Research*, vol. 15, n° 1, p. 264, juill. 2019, doi: 10.1186/s12917-019-1990-x.
- [54] F. Ghanbari *et al.*, « Distribution of *erm* genes among *Staphylococcus aureus* isolates with inducible resistance to clindamycin in Isfahan, Iran », *Adv Biomed Res*, vol. 5, p. 62, mars 2016, doi: 10.4103/2277-9175.179184.
- [55] Giedraitienė, A. (2011, 22 mars). *Antibiotic Resistance Mechanisms of Clinically Important Bacteria*. MDPI. <https://www.mdpi.com/1648-9144/47/3/19>
- [56] Jean-Marie Gourreau, J. M. G., & François Schelcher, F. S. (2011). *Guide pratique des maladies des bovins* (1^{re} éd.). France Agricole.

- [57] Marisa Haenni, M. H., Pierre Châtre, P. C., Véronique Métayer, V. M., Maxime Bour, M. B., Elodie Signol, E. S., Jean-Yves Madec, J. Y. M., & Emilie Gay, E. G. (2014, 16 juillet). *Comparative prevalence and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in dominant versus subdominant enteric flora in veal calves at slaughterhouse, France*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113514001138>
- [58] Marisa Haenni, M. H., Estelle Saras, E. S., Véronique Métayer, V. M., Christine Médaille, C. M., & Jean-Yves Madec, J. Y. M. (2014). High Prevalence of blaCTX-M-1/IncI1/ST3 and blaCMY-2/IncI1/ST2 Plasmids in Healthy Urban Dogs in France. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(09), 5358-5362.
- [59] Barry G. Hall, B. G. H., & Miriam Barlow, M. B. (2005, 4 mai). *Revised Ambler classification of b-lactamases*. academic.oup.com. <https://academic.oup.com/jac/article/55/6/1050/725573>
- [60] Annet E.Heuvelink, A. E. H. (2019, 1 mai). *Prevalence of extended-spectrum and AmpC β -lactamase-producing Escherichia coli in Dutch dairy herds*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113518313993?via%3Dihub>
- [61] M. Hraoui, I. B.-B. Boubaker, A. Doloy, S. B. Redjeb, et A. Bouvet, « Molecular Mechanisms of Tetracycline and Macrolide Resistance and emm Characterization of Streptococcus pyogenes Isolates in Tunisia », *Microbial Drug Resistance*, vol. 17, n° 3, p. 377-382, août 2011, doi: 10.1089/mdr.2010.0160.
- [62] *Institut Pasteur*, « Streptocoques A et B », oct. 06, 2015. <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/streptocoques-b> (consulté le juill. 24, 2021).
- [63] Jacoby, G. A. (2009, 22 janvier). *AmpC beta-lactamases*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19136439/>
- [64] Hossein Jamali, H. J. (2014, 1 novembre). *Prevalence, characterization and antibiotic resistance of Pasteurella multocida isolated from bovine respiratory infection*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023314003165>
- [65] Katy Jeannot, K. J. (s. d.). *Pseudomonas aeruginosa*. sfm-microbiologie.org. https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/07/BACTERIE_Pseudomonas.pdf
- [66] D. Johnston, D. J. (2019, 14 octobre). *Experimental challenge with bovine respiratory syncytial virus in dairy calves : bronchial lymph node transcriptome response*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31611566/>
- [67] B. JOLY, B. J., J.L. MARTEL, J. L. M., R. MICHEL, R. M., A. REYNAUD, A. R., & R. CLUZEL, R. C. (1986). Sensibilité aux antibiotiques et production de bêtalactamase chez les souches de Pasteurella d'origine bovine isolées en France. *Médecine et Maladies Infectieuses, Numéro Spécial*, 52-56.

- [68] Kehrenberg, C. (2001, 1 mai). *Antimicrobial resistance in Pasteurella and Mannheimia : epidemiology and genetic basis | Veterinary Research, a journal on Animal Infection*. Vetres.Org. <https://www.vetres.org/articles/vetres/abs/2001/03/v1302/v1302.html>
- [69] KIT BLSE. (2015). *ANTIBIOGRAMME D'E. COLI BLSE* [Photographie]. <http://kit-blse.com/diagnostic-microbiologique-nice/>
- [70] E. E. Kjellman, J. S. Slettemeås, H. Small, et M. Sunde, « Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from healthy dogs in Norway – occurrence, genotypes and comparison to clinical MRSP », *Microbiologyopen*, vol. 4, n° 6, p. 857-866, oct. 2015, doi: 10.1002/mbo3.258.
- [71] Larramendy S, Gaultier A, Fournier JP, Caillon J, Moret L, Beaudeau F. Local characteristics associated with higher prevalence of ESBL-producing *Escherichia coli* in community-acquired urinary tract infections: an observational, cross-sectional study. *J Antimicrob Chemother*. 2021 Feb 11;76(3):789-795. doi: 10.1093/jac/dkaa514. PMID: 33351903.
- [72] O. Lemenand, O. L. (2006, 1 janvier). *Pasteurelloses*. em-consulte.com. <https://www.em-consulte.com/article/51315/pasteurelloses#:~:text=Chez%20l'homme%2C%20la%20forme,par%20un%20animal%20de%20compagnie.>
- [73] « Le plan Écoantibio 2 (2017-2021) ». <https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2021> (consulté le juill. 07, 2021).
- [74] « Le réseau Résapath | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ». <https://www.anses.fr/fr/content/le-r%C3%A9seau-r%C3%A9sapath> (consulté le juill. 07, 2021).
- [75] « Le réseau Salmonella | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail ». <https://www.anses.fr/fr/content/le-r%C3%A9seau-salmonella> (consulté le juill. 07, 2021).
- [76] *LES MALADIES RESPIRATOIRES DES BOVINS*. (s. d.). Zoetis.Fr. <https://www2.zoetis.fr/pathologies/bovins/maladies-respiratoires>
- [77] J. Liñares, C. Ardanuy, R. Pallares, et A. Fenoll, « Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 16, n° 5, p. 402-410, mai 2010, doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03182.x.
- [78] J. Liñares *et al.*, « Decreased susceptibility of penicillin-resistant pneumococci to twenty-four β lactam antibiotics », *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 30, n° 3, p. 279-288, sept. 1992, doi: 10.1093/jac/30.3.279.
- [79] F. A. Manian, « Asymptomatic nasal carriage of mupirocin-resistant, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in a pet dog associated with MRSA infection in household contacts », *Clin Infect Dis*, vol. 36, n° 2, p. e26-28, janv. 2003, doi: 10.1086/344772.

[80] Massol, Chloé. Etude de la sensibilité de *Mannheimia haemolytica* et *Pasteurella multocida* prélevées en atelier d'élevage d'agneaux par détermination de la CMI. Thèse d'exercice, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse – ENVT, 2018, 54 p.

[81] Matthieu, G. (2017b, mai 31). *Bêta-lactamines (pénicillines - céphalosporines)*. pharmacomedicale.org. <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/beta-lactamines-penicillines-cephalosporines#:~:text=M%C3%A9canismes%20d'action%20des%20diff%C3%A9rents,essentiel%20de%20la%20paroi%20bact%C3%A9rienne>.

[82] Matthieu, G. (2017b, mai 31). *Sulfamides antibactériens*. pharmacomedicale.org. <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/sulfamides-antibacteriens>

[83] E. Matuschek, E. M., D. F. J. Brown, D. F. J. B., & G. Kahlmeter, G. K. (2013). *Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories*. eucast.org. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Publications/Disk_diffusion_paper_printed_version_March_2014.pdf

[84] « Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques - EM consulte ». Consulté le: mai 04, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/11782/mecanismes-de-resistance-bacterienne-aux-antibioti>

[85] « Medical Microbiology 9th edition.pdf ».

[86] Audrey Mérens, A. M. (2011, 1 septembre). *Pseudomonas aeruginosa et résistance aux antibiotiques*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773035X11711029>

[87] O. Meunier, O. M., J. Exinger, J. E., & F. Kara, F. K. (2016). *SARM, ABRI, E.BLSE. . . ERG et EPC des BMR à l'émergence des BHR*. Centre Hospitalier de HAGUENAU.

[88] MILLEMANN, Y., 2009. Diagnosis of neonatal calf diarrhoea. In : *Revue de Médecine Vétérinaire*. 2009. Vol. 160, n° 8-9, p. 404–409.

[89] Pr Yves Millemann, Y. M. (s. d.). *EVALUATION CLINIQUE D'UN VEAU ATTEINT DE GASTRO-ENTERITE NEONATALE*. pathobetonline.fr. <https://www.pathobetonline.fr/upload/fichier/ca3512f4dfa95a03169c5a670a4c91a19b3077b4.pdf>

[90] « M.-P. Mingeot-Leclercq - Aminoglycosides: Activity and Resistance ». https://click.endnote.com/viewer?doi=10.1128%2Faac.43.4.727&token=WzMzNzg1MTIsIjEwLjExMjgvYWVjLjQzLjQuNzI3Il0._1WMBH4PM2YzerATR_ge-_GhBDE (consulté le juill. 16, 2021).

[91] M. des S. et de la Santé et M. des S. et de la Santé, « La stratégie nationale de santé 2018-2022 », *Ministère des Solidarités et de la Santé*, juill. 07, 2021. <https://solidarites-sante.gouv.fr/systeme-de-sante-et-medico-social/strategie-nationale-de-sante/article/la-strategie-nationale-de-sante-2018-2022> (consulté le juill. 07, 2021).

- [92] M. Miragaia, « Factors Contributing to the Evolution of mecA-Mediated β -lactam Resistance in Staphylococci: Update and New Insights From Whole Genome Sequencing (WGS) », *Front Microbiol*, vol. 9, p. 2723, 2018, doi: 10.3389/fmicb.2018.02723.
- [93] U. Naseer, U. N., B.Haldorsen, B. H., G.S.Simonsen, G. S. S., & A.Sundsford, A. S. (2010, 1 février). *Sporadic occurrence of CMY-2-producing multidrug-resistant Escherichia coli of ST-complexes 38 and 448, and ST131 in Norway*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X1461541X>
- [94] Nelson, D. E. (2001, mai). *Contributions of PBP 5 and DD-carboxypeptidase penicillin binding proteins to maintenance of cell shape in Escherichia coli*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11325933/>
- [95] Patrice Nordmann, P. N., & Laurent Poirel, L. P. (2005, 14 juillet). *Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16020539/>
- [96] Ojdana, D. (2017, 29 juillet). *Genetic basis of enzymatic resistance of E. coli to aminoglycosides*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28763677/>
- [97] « One Health: the small animal dimension - ProQuest ». <https://www.proquest.com/openview/e3c7193354c60d922ca7fd49968d872b/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2041027> (consulté le juill. 19, 2021).
- [98] P. A. M. Overgaauw, C. M. Vinke, M. A. E. van Hagen, et L. J. A. Lipman, « A One Health Perspective on the Human–Companion Animal Relationship with Emphasis on Zoonotic Aspects », *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, n° 11, Art. n° 11, janv. 2020, doi: 10.3390/ijerph17113789.
- [99] Jean-Marie Pagés, J. M. P., & Eric Garnotel, E. G. (2003, 1 avril). *Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0338989803805024>
- [100] Glenn Pannaux, G. P. (2012). *RÉSISTANCE AUX CÉPHALOSPORINES DANS LA FLORE COMMENSALE DIGESTIVE DES RUMINANTS*. ENVA.
- [101] N. C. Paul, S. C. Bärghman, A. Moodley, S. S. Nielsen, et L. Guardabassi, « Staphylococcus pseudintermedius colonization patterns and strain diversity in healthy dogs: a cross-sectional and longitudinal study », *Vet Microbiol*, vol. 160, n° 3-4, p. 420-427, déc. 2012, doi: 10.1016/j.vetmic.2012.06.012.
- [102] Line Pepin-Puget, L. P. P., Farid El Garch, F. E. G., Xavier Bertrand, X. B., Benoit Valot, B. V., & Didier Hocquet, D. H. (2020). *Genome analysis of enterobacteriaceae with non-wild type susceptibility to third-generation cephalosporins recovered from diseased dogs and cats in Europe*. Science Direct. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113519312180>
- [103] Perreten, V. (2010, 25 mars). *Clonal spread of methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius in Europe and North America : an international multicentre study*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20348087/>

[104] « Plan EcoAntibio 2012-2017 : lutte contre l'antibiorésistance ». <https://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-2012-2017-lutte-contre-lantibioresistance> (consulté le juill. 07, 2021).

[105] « Plan Écoantibio : baisse de 37% de l'exposition des animaux aux antibiotiques ». <https://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-baisse-de-37-de-lexposition-des-animaux-aux-antibiotiques> (consulté le juill. 07, 2021).

[106] Paul J. Plummer, P. J. P., Cassandra L. Plummer, C. L. P., Kelly M. Still, K. M. S., D.G. Pugh, D. G. P., & A.N. Baird, A. N. B. (2012). *Sheep and Goat Medicine : Vol. Chapter 7 : Diseases of the Respiratory System* (2^e éd.). Elsevier.

[107] J. C. Quincampoix et J. L. Mainardi, « Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif », p. 9.

[108] « Regional trends in β -lactam, macrolide, fluoroquinolone and telithromycin resistance among *Streptococcus pneumoniae* isolates 2001–2004 - ScienceDirect ». https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163445307000989?casa_token=XH_oYgGbh9gAAAA:WXyDuuRqnJ2-Hm3HJmsar--8emO8wqlynZ6cTxVPb6b8jJqVbnuApH9tBGcZkW9twOAwTcLsdg (consulté le juill. 27, 2021).

[109] République Française. (2016b, mars 25). Arrêté du 18 mars 2016 fixant la liste des substances antibiotiques d'importance critique prévue à l'article L. 5144–1-1 du code de la santé publique et fixant la liste des méthodes de réalisation du test de détermination de la sensibilité des souches bactériennes prévue à l'article R. 5141–117-2. *Journal Officiel de la République Française*.
https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000032291325?init=true&page=1&query=antibiotique+critique&searchField=ALL&tab_selection=all

[110] *Résapath Réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales*. (2020).
https://resapath.anses.fr/resapath_uploadfiles/files/Documents/2019_RESAPATH%20Rapport%20Annuel.pdf

[111] *Résistance aux antibiotiques*. (2021, 12 mai). www.santepubliquefrance.fr.
<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques>

[112] M. C. Roberts, J. Sutcliffe, P. Courvalin, L. B. Jensen, J. Rood, et H. Seppala, « Nomenclature for Macrolide and Macrolide-Lincosamide-Streptogramin B Resistance Determinants », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 43, n° 12, p. 2823-2830, déc. 1999.

[113] Ari Robicsek, A. R. (2006, janvier). *Fluoroquinolone-modifying enzyme : a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase*. PubMed.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16369542/>

[114] J. E. Rubin et M. Chirino-Trejo, « Prevalence, sites of colonization, and antimicrobial resistance among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in Saskatoon,

Canada », *J Vet Diagn Invest*, vol. 23, n° 2, p. 351-354, mars 2011, doi: 10.1177/104063871102300227.

[115] Marília Salgado-Caxito, M. S. C., Julio A. Benavides, J. A. B., Aiko D. Adell, A. D. A., Antonio Carlos Paes, A. C. P., & Andrea I. Moreno-Switt, A. I. M. S. (2021, 1 juin). *Global prevalence and molecular characterization of extended-spectrum bêta-lactamase producing-Escherichia coli in dogs and cats - A scoping review and meta-analysis*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352771421000264>

[116] Sarkar, S. K. (2010, 4 janvier). *Deletion of penicillin-binding protein 5 (PBP5) sensitises Escherichia coli cells to beta-lactam agents*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20047819/>

[117] Sarkar, S. K. (2011, 30 juin). *PBP5, PBP6 and DacD play different roles in intrinsic β-lactam resistance of Escherichia coli*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21719544/>

[118] Schmidt, V. M. (2014, 14 janvier). *Antimicrobial resistance and characterisation of staphylococci isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24423104/>

[119] J. Scott Weese, J. S. W., & Engeline Van Duijkeren, E. V. D. (2010, 27 janvier). *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus and Staphylococcus pseudintermedius in veterinary medicine*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113509000753?via%3Dihub>

[120] N. Seifi, N. Kahani, E. Askari, S. Mahdipour, et N. M. Naderi, « Inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus isolates recovered from Mashhad, Iran », *Iran J Microbiol*, vol. 4, n° 2, p. 82-86, juin 2012.

[121] A. Sing, C. Tuschak, et S. Hörmansdorfer, « Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in a family and its pet cat », *N Engl J Med*, vol. 358, n° 11, p. 1200-1201, mars 2008, doi: 10.1056/NEJMc0706805.

[122] Sushovan Dam. Post-transcriptional regulation of porin expression in Escherichia coli and its impact on antibiotic resistance. Bacteriology. Aix-Marseille Université, 2018. English. fftel-02566732

[123] T. H. et al, « Detection of mutations in quinolone resistance-determining regions in levofloxacin- and methicillin-resistant Staphylococcus aureus: effects of the mutations on fluoroquinolone MICs | EndNote Click ». https://click.endnote.com/viewer?doi=10.1016%2Fs0732-8893%2803%2900037-3&token=WzMzNzg1MTIsIjEwLjEwMTYvczA3MzItODg5MygwMykwMDAzNy0zIl0.LU3GO8X7PlxK5LZU6_rWm3sFFUI (consulté le juill. 17, 2021).

[124] E. Tacconelli, « GLOBAL PRIORITY LIST OF ANTIBIOTIC-RESISTANT BACTERIA TO GUIDE RESEARCH, DISCOVERY, AND DEVELOPMENT OF NEW ANTIBIOTICS », p. 7.

[125] Tessier V, Roy O., Audeval C, Ridremont B. Maladies respiratoires des veaux non sevrés. Prévalence des agents pathogènes selon l'âge des veaux et comparaison de deux types de prélèvements. Proceedings Journées Nationales des GTV, Nantes, France. 2013 ; pp 831-836.

[126] S. Thibaut, S. T., A. Marquet, A. M., J.-F. Huon, J. F. H., G. Grandjean, G. G., J. Caillon, J. C., F. Ballereau, F. B., & LBM réseau MedQual. (2014). Surveillance des souches d'*Escherichia coli* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées en milieu communautaire de 2008 à 2013 (MedQual). *Médecine et maladies infectieuses*, 44, 85.

[127] Ujvári, B. (2018, mars). *Characterisation of a multiresistant Pasteurella multocida strain isolated from cattle*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29580078/>

[128] Łukasz Mąka, Ł. M., & Magdalena Popowska, M. P. (2016). *Antimicrobial resistance of Salmonella spp. isolated from food*. PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27922740/>

[129] van den Bunt, G., van Pelt, W., Hidalgo, L., Scharringa, J., de Greeff, S. C., Schürch, A. C., Mughini-Gras, L., Bonten, M., & Fluit, A. C. (2019). Prevalence, risk factors and genetic characterisation of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (ESBL-E and CPE): a community-based cross-sectional study, the Netherlands, 2014 to 2016. *Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 24(41), 1800594. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2019.24.41.1800594>

[130] Vasfi Marandi M, Mittal KR. Role of outer membrane protein H (OmpH)- and OmpA-specific monoclonal antibodies from hybridoma tumors in protection of mice against *Pasteurella multocida*. *Infect Immun*. 1997 Nov;65(11):4502-8. doi: 10.1128/iai.65.11.4502-4508.1997. PMID: 9353026; PMCID: PMC175647.

[131] W. Js, « Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging pathogen in small animals », *Journal of the American Animal Hospital Association*, vol. 41, n° 3, juin 2005, doi: 10.5326/0410150.

[132] Webber, M. (2001, 1 mai). *Quinolone resistance in Escherichia coli* / *Veterinary Research, a journal on Animal Infection*. *Veterinary Research*. <https://www.vetres.org/articles/vetres/abs/2001/03/v1305/v1305.html>

[133] L. M. Weigel, G. J. Anderson, R. R. Facklam, et F. C. Tenover, « Genetic Analyses of Mutations Contributing to Fluoroquinolone Resistance in Clinical Isolates of *Streptococcus pneumoniae* », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 45, n° 12, p. 3517-3523, déc. 2001, doi: 10.1128/AAC.45.12.3517-3523.2001.

[134] Dominik Wüthrich, D. W. (2019, juin). *A Novel Trimethoprim Resistance Gene, dfrA36, Characterized from Escherichia coli from Calves*. [journals.asm.org. https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/mSphere.00255-19](https://journals.asm.org/doi/epub/10.1128/mSphere.00255-19)

[135] Yoon-Hee Oh, Y. H. O. (2019, 1 juin). *Genetic and phenotypic characterization of tetracycline-resistant Pasteurella multocida isolated from pigs*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113518307946>

[136] A. Zonca, A. Z. (2011). Cefquinome sulfate behavior after intramammary administration in healthy and infected cows. *American Dairy Science Association*, 94, 3455-3461. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4109>

ANNEXES

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des caractéristiques des autres techniques possible pour la réalisation d'un antibiogramme.

Type de milieu		Objectif	Principe	Matériel	Préparation de la suspension	Préparation du milieu de culture	Interprétation
Liquide	Macro-méthode	Détermination de la CMI ₉₀	1 mL de chaque dilution de l'antibiotique souhaité ainsi qu'un volume donné d'inoculum sont placés dans un tube stérile puis placés 24h dans un incubateur à la température optimale de prolifération de la souche bactérienne	- Tubes stériles - Pipette - Incubateur	Culture bactérienne sur 24h	Suspension d'antibiotique dilué de 2 en 2 par un bouillon de Mueller-Hinton	La CMI est déterminée par la fourchette de concentration bornée par les concentrations en antibiotique du dernier tube sans colonies bactériennes présentes, et du 1 ^{er} tube dans lequel un développement bactérien est observable
	Micro-méthode		Un volume d'inoculum ainsi que des concentrations croissantes d'un antibiotique donné sont placés dans des cupules d'une microplaque à fond en U, plaque qui est ensuite placée à l'incubateur pendant 24h à la température optimale de prolifération de la souche bactérienne	- Microplaque à fond en U - Pipette automatique - Incubateur			La CMI est déterminée par la fourchette de concentration bornée par les concentrations en antibiotique de la dernière cupule sans colonies bactériennes présentes, et de la 1 ^{ère} cupule dans laquelle un développement bactérien est observable
Solide	Bandelette (Etest®)		Des bandelettes Etest®, imprégnées d'une quantité croissante d'un antibiotique sur leur longueur, sont placées sur une géloseensemencée par une souche bactérienne, créant ainsi une zone d'inhibition en ellipse	- Boîte de Pétri - Bandelettes Etest®		Utilisation d'une gélose de Mueller-Hinton et placement des bandelettes Etest®	La CMI est obtenue au point sur lequel la zone d'inhibition et la bandelette se recoupent

Annexe 2 : Décret no 2016-317 du 16 mars 2016 relatif à la prescription et à la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique. -Extrait du Journal Officiel de la République Française du 25 mars 2016. Source : legifrance.gouv.fr [39]

I.-La prescription d'un médicament utilisé en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique mentionnées à l'article L. 5144-1-1 est subordonnée :

1° A la réalisation préalable d'un examen clinique effectué par le vétérinaire prescripteur ou d'un examen nécropsique effectué à sa demande, ainsi que d'une analyse du contexte épidémiologique ;

2° A la réalisation préalable d'un examen complémentaire visant à identifier la souche bactérienne responsable de l'infection à partir d'un échantillon prélevé par le vétérinaire prescripteur ou à sa demande, sur un ou plusieurs animaux vivants ou morts, sous réserve que la localisation de l'infection, le type d'infection ou l'état général du ou des animaux permettent le prélèvement d'échantillon ;

3° A la réalisation préalable d'un examen complémentaire visant à démontrer la sensibilité de la souche bactérienne identifiée à cet antibiotique au moyen d'un test de sensibilité réalisé selon une des méthodes fixées par arrêté conjoint des ministres chargés de la santé et de l'agriculture ;

4° Au respect des mentions figurant dans les paragraphes contre-indications et précautions d'emploi du résumé des caractéristiques du produit mentionné à l'article R. 5141-15.

II.-Les résultats d'examens et d'analyses mentionnés au I justifiant une prescription d'un médicament contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique mentionnés au I sont conservés par le vétérinaire prescripteur pendant cinq ans.

III.-Par dérogation au I, le vétérinaire n'est pas tenu de réaliser les examens complémentaires mentionnés aux 2° et 3° si les résultats d'examens complémentaires effectués depuis moins de trois mois pour le même animal ou des animaux du même stade physiologique présents sur le même site et pour la même affection ont été portés à sa connaissance.

IV.-Par dérogation aux 2° et 3° du I, un médicament contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique mentionnées au I peut être prescrit avant connaissance des résultats des examens complémentaires lorsqu'il s'agit d'un cas aigu d'infection bactérienne pour laquelle un traitement avec d'autres familles d'antibiotiques serait insuffisamment efficace. Dans un délai de quatre jours après la prescription, le vétérinaire adapte le traitement en fonction de l'évolution du contexte clinique et épidémiologique et des résultats des examens complémentaires portés à sa connaissance.

Annexe 3 : Composition des différentes sortes de gélose [32].

	Type de Gélose	
	Mueller-Hinton standard (MH)	Mueller-Hinton enrichie (MH-F)
Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5 g	
Extrait de viande	2,0 g	
Amidon	1,5 g	
Calcium (Ca ²⁺)	20 à 25 mg	
Magnésium (Mg ²⁺)	20 à 25 mg	
Agar	15 g	
Sang de cheval défibriné mécaniquement	/	50 mL
β-NAD *	/	20 mg
Eau distillée	Qsp 1L **	
pH	7,4 -/+ 0,2	

* β-Nicotinamide adenine dinucleotide

** « Qsp » signifie « Quantité Suffisante Pour »

Annexe 4 : tableau récapitulatif des disques antibiotiques à utiliser pour la réalisation d'un antibiogramme selon l'espèce bactérienne. Source : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, recommandations vétérinaires d'Avril 2020 [33].

	Entérobactérales	Pasteurelles	Pseudomonas spp.	Staphylococcus spp.	Streptococcus spp.
Pénicilline G	X	6 µg	X	6 µg	5 µg
Oxacilline	X	X	X	5 µg	5 µg
Amoxicilline	25 µg	25 µg	X	X	5 µg
Ampicilline	X	X	X	X	5 µg
Amoxicilline + Ac. clavulanique	20/10 µg	20/10 µg	X	X	X
Amikacine	X	X	30 µg	X	X
Céfalotine	X	X	X	X	X
Céfuroxime	X	X	X	X	X
Céfoxitine	30 µg	X	X	30µg	X
Ceftiofur	30 µg	30 µg	X	X	X
Céfovécine	30 µg	X	X	30µg	X
Cefquinome	30 µg	30 µg	X	X	X
Céfalexine	30 µg	30 µg	X	X	30µg
Céfopérazone	30 µg	X	X	X	X
Gentamicine 500 µg	X	X	X	X	OUI
Gentamicine 15 µg	OUI	OUI	OUI	OUI	X
Kanamycine	30 µg	30 µg	X	30 µg	1000 µg
Néomycine	30 µg	30 µg	X	30 µg	X
Streptomycine	30 µg	10 µg	X	10 µg	500 µg
Apramycine	30 µg	X	X	X	X
Acide nalidixique	30 µg	30 µg	X	X	X
Acide oxolinique	10 µg	10 µg	X	X	X
Fluméquine	30 µg	30 µg	X	X	X
Enrofloxacin	5 µg	5 µg	X	5 µg	5 µg
Marbofloxacin	5 µg	5 µg	X	5 µg	5 µg
Danofloxacin	5 µg	5 µg	X	X	X
Ciprofloxacin	X	X	5 µg	X	X
Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	1,25/23,75 µg	X	1,25/23,75 µg	1,25/23,75 µg
Erythromycine	X	15 µg	X	15 µg	15 µg
Spiramycine	X	100 µg	X	100 µg	100 µg
Tylosine	X	30 µg	X	30 µg	30 µg
Tilmicosine	X	15 µg	X	X	X
Lincomycine	X	X	X	15 µg	15 µg
Chloramphénicol	30 µg	30 µg	X	30 µg	30 µg
Florfenicol	30 µg	30 µg	X	X	X
Tétracycline	30 µg	30 µg	X	30 µg	30 µg
Doxycycline	30 µg	30 µg	X	X	X
Colistine	50 µg	50 µg	X	X	X

L'antibiogramme en médecine vétérinaire rurale : utile, indispensable ou superflu ? Le guide du praticien en médecine des animaux de production

Auteur

ZANAROTTI Vincent

Résumé

L'antibiorésistance est un problème actuel qui doit être pris en considération en médecine humaine mais également en médecine vétérinaire. Des moyens de lutte sont mis en place et c'est le cas de l'antibiogramme qui est un outil essentiel contre l'antibiorésistance. L'établissement de ce guide pratique a pour but de familiariser les vétérinaires avec cet outil : par l'apprentissage de sa réalisation et de son interprétation, par la connaissance des mécanismes de résistance des bactéries les plus courantes et par son utilisation dans la pratique courante.

Mots-clés

Antibiogramme, Antibiorésistance, Bactériologie, Microbiologie, One Health

Jury

Président du jury : Pr **COLLARDEAU Sophie**

Directeur de thèse : Pr **DJELOUADJI Zorée**

Assesseur : Pr **BECKER Claire**