



**HAL**  
open science

# Prévalence et caractérisation phénotypique et génotypique des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) dans les élevages de rente de Mayotte et Madagascar

Alexandre Leclaire

## ► To cite this version:

Alexandre Leclaire. Prévalence et caractérisation phénotypique et génotypique des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) dans les élevages de rente de Mayotte et Madagascar. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-02419081

**HAL Id: dumas-02419081**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02419081>**

Submitted on 19 Dec 2019

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux

**Thèse pour l'obtention du  
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE  
Spécialité Biologie Médicale**

**Année 2019**

**Thèse n°3035**

Présentée et soutenue publiquement le 30/04/2019

par **Alexandre LECLAIRE**

Né le 11 septembre 1989 à Marseille (13)

**Prévalence et caractérisation phénotypique et  
génotypique des entérobactéries productrices de  
béta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) dans les  
élevages de rente de Mayotte et Madagascar**

Directeur de Thèse

**Monsieur le Docteur Olivier BELMONTE**

Rapporteur de Thèse

**Monsieur le Docteur Loïc RAFFRAY**

Jury

**Pr Cécile BEBEAR**

**Dr Bénédicte ROQUEBERT,**

**Dr Eric CARDINALE**

**Université de Bordeaux**

**Université de la Réunion**

**CIRAD**



Université de Bordeaux

**Thèse pour l'obtention du  
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE  
Spécialité Biologie Médicale**

**Année 2019**

**Thèse n°3035**

Présentée et soutenue publiquement le 30/04/2019

par **Alexandre LECLAIRE**

Né le 11 septembre 1989 à Marseille (13)

**Prévalence et caractérisation phénotypique et  
génotypique des entérobactéries productrices de  
béta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) dans les  
élevages de rente de Mayotte et Madagascar**

Directeur de Thèse

**Monsieur le Docteur Olivier BELMONTE**

Rapporteur de Thèse

**Monsieur le Docteur Loïc RAFFRAY**

Jury

**Pr Cécile BEBEAR**

**Dr Bénédicte ROQUEBERT,**

**Dr Eric CARDINALE**

**Université de Bordeaux**

**Université de la Réunion**

**CIRAD**

# Remerciements

*Au président du Jury,*

**Madame le Professeur Cécile Bébéar**

**PU-PH et chef de service du Laboratoire de Bactériologie du CHU de Bordeaux**

**Coordonnatrice du DES de Biologie médicale, subdivision Bordeaux**

Pr Bébéar, je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury. Même si je n'ai pas eu la chance de travailler directement avec vous, vos enseignements et la bienveillance dont vous avez fait preuve pendant mon internat à Bordeaux m'ont marqué. Merci encore pour votre aide précieuse dans l'organisation de cette thèse. Je vous prie de bien vouloir trouver dans ce travail la marque de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

*A mon directeur de thèse,*

**Monsieur le Docteur Olivier Belmonte,**

**Praticien Hospitalier au Laboratoire de Microbiologie du CHU Félix Guyon**

Olivier, je te remercie infiniment de m'avoir proposé ce sujet de thèse lors de mon arrivée au laboratoire et de m'avoir si bien accompagné dans ce travail ! Tous ces week-ends à corriger mes digressions sur l'aspect sociétal du zébu à Madagascar ( !!!) Tu as été véritablement bienveillant, et je te remercie plus largement pour les nombreux enseignements que tu m'as transmis tout au long de mon internat. Apprendre de quelqu'un d'aussi brillant est un honneur et une chance immense, et je me sens vraiment privilégié !

*Au rapporteur de thèse,*

**Monsieur le Docteur Loïc Raffray,**

**MCU-PH et responsable du service Médecine Interne et Dermatologie du CHU**

**Félix Guyon**

Merci beaucoup Dr Raffray de m'avoir fait l'honneur d'être le rapporteur de cette thèse. Votre expertise et votre sens de la rigueur dans cette tâche délicate forgent en moi un profond respect, et j'espère que ce manuscrit sera à la hauteur de vos attentes. Dans tous les cas, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon admiration et de ma plus sincère reconnaissance.

*Au mes juges,*

**Madame le Docteur Bénédicte Roquebert,**

**MCU-PH virologie/biologie moléculaire au CHU Félix Guyon**

**et coordonnatrice du DES de Biologie médicale, subdivision région Océan**

Bénédicte, je te remercie très sincèrement d'avoir accepté de participer à ce jury, et plus largement pour ton encadrement incroyable et sans relâche au cours de cet internat à la Réunion. Tes supers cours de DES, ton coaching en validation de séro, ta gentillesse, ta confiance et ta bonne humeur resteront imprimés dans ma mémoire ... les prochains internes sont entre de bonnes mains, il n'y a pas de doute !!!

**Monsieur le Docteur Eric Cardinale,**

**DVM, PhD et coordonnateur Santé Animale Océan Indien au CIRAD**

**Coordonnateur du dP « One Health » Océan Indien**

Merci beaucoup Dr Cardinale pour le regard éclairé que vous avez apporté à ce sujet en qualité de coordonnateur régional du projet One Health. Travailler avec vous et Noellie a été une chance immense et a grandement contribué à l'originalité de ce mémoire : oser la multi-disciplinarité dans une quête commune. Je vous prie de bien vouloir trouver dans ce travail le témoignage de mon profond respect et de ma reconnaissance. J'espère qu'il incitera à de nouvelles collaborations en la matière.

*A ma famille,*

**Mamaw** !!! Merci de m'avoir supporté pendant toutes ces années même si je sais que je ne suis pas toujours de bonne humeur (ahem) et que ça n'a pas été toujours facile (tous ces coups de fil quand je n'avais pas le moral à Bordeaux). Tu as toujours été là pour Nana et moi (et pour Mika aussi !) et ça on ne l'oubliera pas ! Pour la 10.000ème fois, je t'aime très fort Mamaw ! **Nana** : ma soeur, mon pillier, que dire à part TMTTC tel frère telle soeur, on est liés : la meute! Je t'aime très fort! **Mika** : pour toutes ces soirées passées ensemble à jouer au laser ! **Jo** : merci pour ta présence au quotidien dans la famille, et toutes ces coupes de champagne partagées ; **La famille des chats : Père Chat et Véro** (et Chacha, Samba, Java): même si je persiste à penser qu'il y a un micro-climat à Pichette, c'est toujours un réconfort de venir au royaume des chats passer des moments avec vous, je vous aime très très fort !!! Merci Papa pour ton soutien indéfectible (PS : 85% des grains de beauté sont réunis dans cette pièce !) **Fabrice** : merci beau frère pour l'amour que tu as apporté à notre famille ! **Eva** : ma nièce adorée, miss capri-sun panda, ton tonton t'aime très fort ! **Mamie et Papy Loup, Cricri, JPierre, Léa et Hugo**: Merci pour tout votre amour ma famille marseillaise préférée : merci Mamie d'avoir été là si souvent pour moi et pour tes ratatouilles : je t'aime très fort, merci Papy Loup qui me regardes de là-haut (je t'aime fort) : je vous dédie cette thèse, merci Cricri pour ton amour inconditionnel : tu es un exemple et je t'aime très fort, merci JP pour ta gentillesse, merci la couzine et félicitations pour tes réussites, et merci au couzin et filleul adoré : crois en toi et réalise de grandes choses, on sera tous derrière toi pour te soutenir ! **Mamire et Papyr** : grâce à vous je peux me vanter d'avoir eu la plus belle des enfances, et je vous dédie cette thèse pour vous remercier et vous redire que je vous aime. **Mes tantes : Tatix** : même si on se voit moins, n'oublie pas que je t'aime très fort ! **Marie-Hélène** : pour tout ton amour et ton sens de la famille, j'ai hâte vous revoir à Sandillon! **Les cousines : Céline, Pauline, Magali, Sophie** : la famille c'est pour la vie, je chéris ces souvenir de ces moments passés ensemble à Cholet, merci ! A ma **Nénène** adorée que je n'oublie pas. Et eux aussi ils comptent : **Kalou, Baba, Mimi-souris 1-2-3, Luigi, la Mimite, Lola Zautruchon, Pepsi ...**

*A mes amis,*

**Nuno et Gwadatika**: j'aurais presque pu vous mettre dans la famille : mes best, amies de chic et de choc : j'ai hâte que vous veniez, merci pour toutes ces années passées ensemble, KK-BB ! **Laure** : mon soutien, mon alliée indéfectible de cette dernière année : merci pour tout : ta gentillesse, ta bienveillance, et toutes ces virées en titine :

tu comptes fort pour moi ! **Céline** : chouchoute ! Je me souviens de ce 1<sup>er</sup> jour d'immuno ! On était jeunes et beaux, mais toi tu l'es toujours, amore! **Dr Pizon** : désolé pour tous ces retards de messages, lol, mon jumeau de classement : merci pour tout ! **May** : à toutes nos folies, ces moments de stage que je n'oublierai jamais (visite du jour : mais qu'avez vous fait pendant ces 3 jours mademoiselle mdr), Rome et Ams ! **Mumu** : ah sacrée Mumu, merci pour ces voyages et ton amitié : Khop Khoun Krap mdr ! A mes amis proches que j'aime fort : **Paulo et Elsa**, mes St Pierrois préférés, merci pour votre sympathie, grâce à vue le sud remonte dans mon estime ! A mes co-internes réunionnais : **Nico**, je garderai toujours en souvenir nos ti-punch au carré loool ! **Kebaboule** : grâce à toi, je me sentais moins seul face à cet amour inconditionnel pour les Simpson : revenez les mecs !!!! Aux collègues et amis : **Camille (zouk-zouk), Antoine, Elodie, Sousou, Thierry dit Titi, Lola, Colleen, Thibaud, Jaona, Josselin, PL, Guillaume D, ...** Aux bordelais que je garde dans le coeur : **PE et Alexis** : la dream-team ! **Fatou, Brenda, Elodie W, Florian L, Emilie G, Benoit, PTMinaj, Julien E, Kavish, Romaiing**, je ne vous oublie pas ! A la team bactério : la meilleure, the best, bref ma vie ! **Cindura, Murielle, Gilberte, Evelyne, Adeline, les deux Valérie, Francine, Nicolas, Thomas, Vincent, Francky, Marina, Mr Mithra, Anaëlle, Amélie, Aline, ...** Love ! A la super équipe de Cerballiance : j'ai adoré travailler avec vous et j'en suis reparti avec des amis ! **Mahéry, Aristide, Anne et Mr Sin** : merci à vous pour tous pour la gentillesse avec laquelle vous m'avez accueilli, je ne l'oublierai pas ! Anne, le cactus est toujours en vie ! **Neyllie et Irina, Erine, Rudy** : on a trop rigolé, merci je vous adore ! **Christian** : merci beaucoup pour ta bienveillance et tous tes enseignements en auto-immunité, j'ai vraiment apprécié de travailler avec toi ! **Raphaëlle et Carolina** : merci pour votre soutien et votre gentillesse... et d'avoir tenté de m'apprendre à prélever !! Désolé encore pour ta veine Carolina !!! **Thomas et Eric** : merci pour votre gentillesse, j'ai le sentiment d'avoir été chanceux d'apprendre à vos côtés !

*Au laboratoire du CHU Félix Guyon* : Merci à tous les chefs d'exception qui ont guidé mon chemin pendant cet internat : **Patrice, Madame Jaffar, Nicolas, Guillaume, Sophie, Marie, Dominique, Claire, Angèle, Naël.**

*A ma collègue de thèse* : Merci **Noellie** pour ton aide et ta gentillesse dans ce travail, je te souhaite plein de réussite pour ta thèse !

*Aux proches de la famille, Pascale et Dominique* : merci pour tous ces repas passés avec vous, votre gentillesse et votre soutien : je garde fort précieusement le stéthoscope que vous m'avez offert !



# Table des matières

<b>Abréviations</b> .....	<b>13</b>
<b>I. Introduction</b> .....	<b>14</b>
<b>I.1. Projet One Health</b> .....	<b>14</b>
<b>I.2. L'antibio-Résistance</b> :.....	<b>16</b>
I.2.1. Origines de l'antibio-résistance.....	17
I.2.2. Homme et animal : des enjeux communs .....	18
I.2.3. Cas des E-BLSE (entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi) ....	21
I.2.4. Cas des E-RPP (entérobactéries avec résistance plasmidique aux polymyxines) .....	28
<b>I.3. L'élevage de rente dans l'Océan Indien : exemple de Madagascar et de Mayotte</b> .....	<b>33</b>
I.3.1 Madagascar .....	33
I.3.2. Mayotte .....	35
<b>I.4. Spécificités de l'antibiothérapie vétérinaire</b> : .....	<b>37</b>
I.4.1. Indications .....	37
I.4.2. Contexte légal et normatif.....	40
I.4.3. Quels antibiotiques en pratique ? .....	44
I.4.4. Guides de bon usage et indicateurs .....	49
<b>II. Objectifs</b> .....	<b>52</b>
<b>III. Matériels et Méthodes</b> .....	<b>53</b>
<b>III.2. Analytique</b> .....	<b>53</b>
III.2.1 Population : élevages sondés.....	53
III.2.2. Conditionnement des échantillons.....	58
III.2.3. Approbation et éthique.....	59
III.2.4. Enrichissement et isolement des colonies suspectes de BLSE .....	59
III.2.5. Identification bactérienne.....	61
III.2.6. Confirmation des E-BLSE et détermination de leur profil phénotypique .....	62
III.2.7. Caractérisation génotypique .....	70
III.2.8 Identification de facteurs de risque d'E-BLSE .....	74
<b>IV. Résultats</b> .....	<b>76</b>
<b>IV.1. Prévalence des E-BLSE</b> .....	<b>76</b>
IV.1.1. Madagascar.....	76
IV.1.2. Mayotte.....	78

<b>IV.3. Caractérisation génotypique .....</b>	<b>80</b>
IV.3.1 Madagascar.....	80
IV.3.2. Mayotte.....	82
<b>IV.2. Prévalence des co-résistances: .....</b>	<b>84</b>
IV.2.1. Madagascar.....	84
IV.2.2. Mayotte.....	87
<b>V. Discussion .....</b>	<b>90</b>
<b>VI. Conclusion.....</b>	<b>105</b>
<b>Références .....</b>	<b>107</b>
<b>Table des annexes.....</b>	<b>10</b>

# Table des figures

Figure 1 - Diagramme de Venn illustrant les trois domaines concernés par l'approche intégrative One Health (d'après le CDC) (9) .....	16
Figure 2 - Prévalence globale de la colonisation à E-BLSE au sein de la population humaine dans le monde (d'après Karanika et al.) (25) .....	21
Figure 3 - Arbre phylogénétique du gène CTX-M et clustérisation en 5 grands groupes - (d'après Decousser et al.) (29) .....	22
Figure 4 - Répartition des principaux sous-groupes de CTX-M au niveau mondial chez l'Homme : 2009 – présent (d'après Edward et al) (40).....	24
Figure 5 - Répartition des principaux sous-groupes de CTX-M au niveau européen chez l'Homme: 2009 – présent (d'après Edward et al) (40).....	25
Figure 6 - Distribution mondiale de MCR-1 dans les élevages de rente (illustration d'après Giamarellou et al.) (72) .....	30
Figure 7 - Etudes françaises ayant apprécié la prévalence de MCR-1 en élevage entre 2007 et 2014 (illustration d'après Perrin-Guyomard et al.) (76).....	31
Figure 8 - Tableau comparatif des classes d'antibiotiques autorisées à ce jour en médecine humaine et vétérinaire en France (d'après Moulin et al.) (124).....	45
Figure 9 - Extrait des spécialités d'utilisation interdite en médecine vétérinaire en France. (d'après Moulin et al.) (124).....	46
Figure 10 - Temps d'attente applicables en cas de traitement à la colistine chez l'animal de rente. (d'après les RCP de l'ANSES applicables pour la spécialité COLIVET) .....	48
Figure 11 - Répartition des élevages sondés à Madagascar .....	55
Figure 12 - Répartition des élevages sondés à Mayotte.....	57
Figure 13 – Pédichiffonnettes .....	58
Figure 14 - Exemple de cultures positives sur milieu ESBL .....	60
Figure 15 - Gestion des colonies à considérer comme suspectes.....	60
Figure 16 - Score de confiance - Maldi-Tof (d'après la notice fournisseur MALDI Biotyper CA System) .....	61
Figure 17 - Liste des antibiotiques testés. ....	63
Figure 18 - Réalisation des CMI colistine (UMIC) (illustration personnelle) .....	64

Figure 19 - Aspect d'une cupule de CMI liquide (d'après la notice fournisseur : <a href="https://www.biocentric.com/umic">https://www.biocentric.com/umic</a> ) .....	64
Figure 20 - Extrait de la notice simplifiée de réalisation d'une CMI colistine (UMIC) ( <a href="https://www.biocentric.com/umic">https://www.biocentric.com/umic</a> ) .....	65
Figure 21 - Prise en charge commune des prélèvements en provenance de Mayotte et Madagascar. (illustration personnelle) .....	66
Figure 22 - Aspect des colonies d' <i>E. coli</i> et de <i>Pseudomonas</i> sp. sur gélose Superpolymyxine (image d'illustration : <a href="https://www.elitechgroup.com/product/superpolymyxin">https://www.elitechgroup.com/product/superpolymyxin</a> ) .....	67
Figure 23 - Dépistage de la résistance plasmidique à la colistine par milieu SuperPolymyxine à prélèvements réalisés dans les élevages malgaches. (illustration personnelle).....	69
Figure 24 - Puce à ADN et dispositif de lecture de la puce (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140).....	71
Figure 25 - Aperçu de l'image interprétée par le logiciel dans le cas d'une E-BLSE (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140) .....	71
Figure 26 - Gamme de gènes de bêta-lactamases détectés par le kit Check-MDR CT103XL (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140) .....	72
Figure 27 - Sous-groupes de CTX-M1 effectivement détectés (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140).....	73
Figure 28 - Pourcentage total de prélèvements positifs à E-BLSE (tous animaux – Madagascar).....	76
Figure 29 - Répartition des E-BLSE par filière animale – Madagascar.....	77
Figure 30 – Répartition des E-BLSE par espèce (Madagascar) .....	77
Figure 31 - Pourcentage total de prélèvements positifs à E-BLSE (tous animaux – Mayotte).....	78
Figure 32 - Répartition des E-BLSE par filière animale – Mayotte.....	79
Figure 33 - Répartition des E-BLSE par espèce (Mayotte).....	79
Figure 34 - Sous-typage des E-BLSE (Bœufs – Madagascar) .....	80
Figure 35 - Sous-typage des E-BLSE (Volailles - Madagascar) .....	81
Figure 36 - Sous-typage des E-BLSE (Porcs - Madagascar) .....	82
Figure 37 - Sous-typage des E-BLSE (Bœufs - Mayotte).....	83
Figure 38 - Sous-typage des E-BLSE (Volailles - Mayotte) .....	83

Figure 39 - Co-résistances des E-BLSE (Madagascar - tous animaux) .....	85
Figure 40 - Listing des souches malgaches ayant démontré une résistance à la colistine après procédure de screening par gélose Superpolymyxine. ....	85
Figure 41 – Co-résistances des E-BLSE (Madagascar – par filière) .....	86
Figure 42 - Co-résistances des E-BLSE (Mayotte - tous animaux) .....	87
Figure 43 - Co-résistances des E-BLSE (Mayotte – par filière .....	88
Figure 44 - Analyse bivariée des facteurs de risque d'E-BLSE au seins des élevages malgaches et mahorais. ....	89
Figure 45 - Meilleur modèle expliquant l'occurrence des E-BLSE au sein des élevages de bœufs, volailles et porcs (tous territoires confondus) .....	89
Figure 46 - Prévalence et typage des E-BLSE au niveau mondial (Bœufs) .....	92
Figure 47 - Prévalence des E-BLSE dans le zone Océan Indien (Volailles).....	94
Figure 48 - Prévalence et typage des E-BLSE au niveau mondial (Volailles) .....	96
Figure 49 - Prévalence des E-BLSE dans le zone Océan Indien (Porcs).....	98
Figure 50 - Prévalence et typage des E-BLSE au niveau mondial (Porcs).....	99
Figure 51 - Temps d'attente en cas de traitement par Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole chez l'animal de rente (extrait des RCP ANSES applicables aux spécialités Amphoprim/Adjusol).....	101

# Abréviations

ADN : Acide Désoxyribonuléique

AFFSA-ANMV : Agence nationale du médicament vétérinaire

AFSSAPS : Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé

AMEG : Antimicrobial Advice Ad Hoc Expert Group

BLSE : Béta-Lactamase à Spectre Elargi

CCRVDF : Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods

CDC : Centre for Disease Prevention and Control

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CVMP : Comité du Médicament Vétérinaire

C3G : Céphalosporine de 3ème Génération

C4G : Céphalosporine de 4ème Génération

DSV : Direction du Service Vétérinaire

E-BLSE : Entérobactérie Productrice de BLSE

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

EGM : Eléments Génétiques Mobiles

EMB: éosine/bleu de méthylène

ERG : Entérocoque Résistant aux Glycopeptides

E-RPP : Entérobactérie démontrant une Résistance Plasmidique aux Polymyxines

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

LMR : Limite maximale de Résidus

MCR : Plasmid-Mediated Colistin Resistance

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONERBA : Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques

OWOH : One World, One Health

PEC : Predicted Environmental Concentration

PFGE : Electrophorèse de l'ADN en champ pulsé

RAM : Résistance aux anti-microbiens

RESAPATH : Réseau de Surveillance de l'Antibiorésistance des bactéries Pathogènes pour la volaille, le porc et le bovin

SNGTV : Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires

# I. Introduction

## I.1. Projet One Health

La découverte des antibiotiques et leur utilisation en médecine humaine ont constitué un tournant décisif dans le contrôle des infections d'origine bactérienne. Première cause de mortalité en 1940, on estime désormais que les infections bactériennes ne sont responsables que de 2 % des décès en France. (1)

L'innovation pharmaceutique soutenue jusqu'à la fin du XXème siècle a grandement renforcé cette impression illusoire de triomphe total contre le péril bactérien, de nouvelles molécules venant remplacer celles devenues moins efficaces... Et c'est tardivement que la prise de conscience de leur préciosité est survenue.

Dans un contexte désormais inquiétant avec une antibiorésistance croissante pour toile de fond, la santé humaine se retrouve à nouveau menacée. L'avènement de l'ère post-antibiotique est même évoquée... (2) L'usage des antibiotiques en appelle dorénavant à la raison et au discernement, tandis qu'une réflexion approfondie sur leur utilisation doit être initiée.

Depuis le début des années 2000, les trois principales organisations internationales chargées de la protection de la santé publique (OMS) et de la santé animale (FAO et OIE) militent pour le développement d'une approche plus globale de la santé. (3)

Tout comme les bactéries ne connaissent pas de frontière, il n'en existerait pas non plus entre santé humaine et animale. Le concept «One World, One Health» (OWOH) ensuite renommé « One Health » vient en 2007 concrétiser les linéaments de cette réflexion (4) : la santé humaine est indissociable de l'environnement et de la santé animale. Cela se conçoit en pratique par la collaboration à co-égalité de disciplines multiples, ayant pourtant parfois évolué de façon séparée (hyperspécialisation), mais ayant en commun cette même lutte contre les menaces sanitaires. (5)

Cette vision holistique de la santé n'est pas nouvelle : le pathologiste allemand Robert Virchow soulignait dès la fin du XIXe siècle l'absence de division entre la médecine vétérinaire et humaine. « L'objet est différent, mais l'expérience obtenue constitue la base de toute médecine » (6).

Dans cette perspective, l'OIE insiste sur la nécessité « à agir d'une manière plus concertée, en liaison avec les gestionnaires de la santé publique ». (7) L'implication des vétérinaires et plus largement de toute personne en contact régulier avec l'environnement est nécessaire dans ce processus visant à mieux caractériser, évaluer et hiérarchiser les risques sanitaires se profilant à l'interface homme-animal...

Selon le Dr Monique Eloit (directrice générale de l'Organisation Mondiale de la Santé Animale : OIE), une collaboration construite entre ces différents acteurs et un engagement commun sur les grands enjeux à mener sont plus que jamais fondamentaux dans la prévention et la réponse aux crises sanitaires.

Santé humaine et animale sont donc interdépendantes. Il n'existerait pour ainsi dire pas d'étanchéité bactérienne absolue entre ces deux mondes. Si certaines résistances sont développées au sein de cheptels d'animaux, une propagation dans leur environnement direct (et à terme, chez l'Homme) est tout à fait concevable. Le CDC va même jusqu'à imputer une origine alimentaire et/ou animale à 20% des infections humaines à germe multi-résistant. (8)

La résistance des entérobactéries aux antibiotiques s'affichant en particulier comme une menace commune, l'étude des niveaux d'antibiorésistance effectivement constatés dans le monde animal permettrait ainsi de mieux appréhender les risques sanitaires potentiellement encourus en santé humaine...



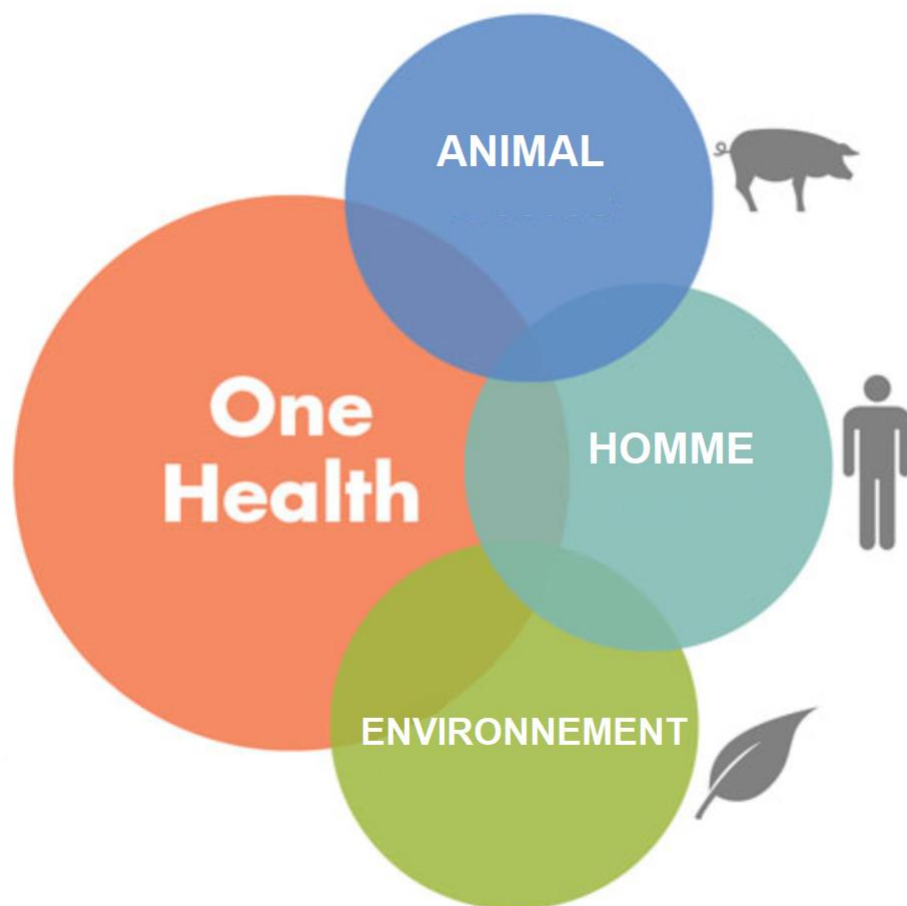


Figure 1 - Diagramme de Venn illustrant les trois domaines concernés par l'approche intégrative One Health (d'après le CDC) (9)

## I.2. L'antibio-résistance

L'antibiorésistance s'affiche comme un problème de santé publique et une source de préoccupation majeure, tant au niveau national que mondial.

L'Ecdc (European Centre for Disease Prevention and Control) lui attribue chaque année 25 000 décès en Europe, du fait d'infections à BMR de plus en plus difficiles à traiter. (10) Aux USA, on avance un chiffre comparable de 23 000 décès annuels. (estimation du CDC en 2013) (11) Et d'ici 2050 à l'échelle mondiale, le bilan pourrait

encore s'alourdir, jusqu'à atteindre quelques 10 millions de décès supplémentaires par an, soit plus que la mortalité globale liée au cancer aujourd'hui. (12)

D'un point de vue économique, la résistance aux anti-microbiens (RAM) représenterait actuellement pour l'Europe un surcoût estimé à plus de 1.5 milliard d'euros chaque année, se partageant en frais médicaux directs (maladie, décès) et indirects (perte de productivité plus généralement). Si aucune mesure concrète n'est prise aujourd'hui, les prévisions sont tout aussi pessimiste : certains experts estiment que le coût économique lié à la RAM atteindrait les 100 000 milliards de dollars en termes de pertes de production d'ici à 2050, « soit plus que la taille de l'économie mondiale » . (13)

## I.2.1. Origines de l'antibio-résistance

L'antibiorésistance est une réponse physiologique de la bactérie soumise à un antibiotique, faisant très probablement partie des mécanismes d'évolution du vivant. Cette dernière renvoie à un mécanisme d'adaptation d'origine naturelle ou acquise.

Pour rappel, la **résistance naturelle** (ou encore intrinsèque / innée) d'une bactérie à un antibiotique concerne d'emblée toutes les souches d'une espèce donnée à l'antibiotique en question. De support chromosomique, cette résistance délimite le spectre naturel de l'antibiotique, et constitue ainsi une aide à l'identification. (14)

Cependant, à la faveur d'évènement génétiques variés (mutations, acquisition de nouveaux gènes), une partie des souches d'une espèce naturellement sensible à un antibiotique peut y devenir résistante : c'est un phénomène acquis, variable selon l'espèce, l'antibiotique, le lieu et le moment. **La résistance acquise** définit ainsi le spectre « utile » de la bactérie aux antibiotiques, dont l'appréciation est nécessaire à la mise en place d'une éventuelle thérapeutique adaptée... Il s'agit d'un phénomène dynamique, devant faire l'objet d'une surveillance minutieuse car pouvant impliquer (en sus du chromosome bactérien) des éléments génétiques dit « mobiles » (EGM).

Si la résistance naturelle et la résistance par mutation chromosomique sont supposées présenter un risque minime, les résistances acquises portées par des EGM sont au contraire considérées comme à potentiel de dissémination. Elles peuvent s'assimiler au génome d'une bactérie ou d'une espèce bactérienne qui en était auparavant dépourvue, et *in fine* contribuer à l'adaptation de cette dernière au changement de son environnement. (15)

Grâce aux mécanismes de transformation, conjugaison plasmidique et transposition, l'échange d'ADN entre bactéries pourtant génétiquement éloignées devient possible. N'importe quel gène de résistance peut théoriquement être concerné dès lors qu'il est exporté par un bactériophage, un plasmide ou encadré par des séquences d'insertion mobilisatrices. Un exemple bien connu d'éléments génétiques trouvant leur origine dans le chromosome bactérien concerne les micro-organismes producteurs d'antibiotiques (pour la plupart présents dans le sol). Ces gènes qui initialement ont assuré la survie de leurs hôtes sont maintenant considérés comme la principale source de résistance plasmidique disséminée aux bactéries multi-résistantes.

## **I.2.2. Homme et animal : des enjeux communs**

La question du passage de l'antibiorésistance entre le monde animal et l'Homme a longtemps été débattue. Face à l'inquiétude légitime qu'elle suscite, cette question a bien souvent été traitée avec passion jusqu'à parfois marquer des prises de décisions notables en matière de politique sanitaire publique au nom du « principe de précaution ».

Citons notamment l'interdiction dans les 1990 de l'usage de l'avoparcine en élevage pour diminuer la prévalence accrue des entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) chez l'Homme : en Europe, plusieurs études ont rapporté dans les années 1990 une prévalence étonnamment élevée de portage fécal d'ERG en milieu communautaire. (jusqu'à 28 % de portage ont été décrits en Belgique) (16) Ce portage communautaire a rapidement été confronté à l'utilisation intensive d'avoparcine en

élevage, un glycopeptide apparenté à la teicoplanine et utilisé en tant que promoteur de croissance dans les exploitations porcines et avicoles. (17) L'hypothèse est faite d'une sélection des ERG dans le tractus digestif des animaux, puis d'une transmission à l'Homme via la chaîne alimentaire. Suite à l'interdiction de l'avoparcine en 1999 en Europe, une réduction massive et rapide de la prévalence du portage d'ERG dans la filière avicole a alors été observée, renforçant cette hypothèse. (18)

Entre l'Homme et l'animal, rien n'indique que le transfert de la RAM soit un phénomène unidirectionnel, et il apparaît légitime de considérer que ces flux s'opèrent (*a priori*) dans les deux sens : de l'animal vers l'Homme, et inversement. Deux observations simples en font argument d'autorité :

*- La plupart des familles d'antibiotiques sont partagées entre l'homme et l'animal : 64% des classes d'antibiotiques ayant une AMM en médecine humaine en ont également une en médecine vétérinaire ; (19)*

*- Toutes les entérobactéries, quelle que soit leur origine, partagent les mêmes mécanismes de résistance.*

Certaines études ont d'ailleurs eu la possibilité de prouver le sens de ces échanges, à la faveur d'une situation épidémiologique particulièrement « favorable ».

Comme exemple de transmission documentée « **Animal** → **Homme** », nous pouvons évoquer le cas du SARM animal appartenant au complexe clonal CC398. Ce clone de *S. aureus* très prévalent dans la flore des porcs sains a été mis en évidence pour la première fois chez l'Homme aux Pays-Bas en 2006, à la faveur d'une recrudescence d'infections staphylococciques graves chez des patients s'avérant initialement tous être éleveurs de porcs. (20) La prévalence alors quasi-nulle des SARM dans les hôpitaux néerlandais a effectivement permis de repérer ce phénomène épidémiologique inhabituel, et de poser *in fine* cette hypothèse d'exposition professionnelle. Un tel événement serait probablement passé inaperçu dans d'autres régions du monde et notamment en France, où la proportion de SARM était alors plus élevée.

Dans le sens « **Homme→Animal** », des exemples de transmission documentée existent aussi. Citons notamment dans les années 2010 l'inhabituelle recrudescence de mammites à SARM relevant du clone hospitalo-communautaire Géraldine, mise en évidence au sein d'un élevage de vaches français. Une identité moléculaire a alors pu être établie entre les souches animales et celles retrouvées chez leur éleveur, immunodéprimé et ayant bénéficié de nombreux séjours hospitaliers à la même époque. (21)

Il est aujourd'hui difficile d'évaluer le flux de gènes circulant entre les compartiments bactériens humain et animal. Des marqueurs suffisamment précis sont nécessaires pour identifier d'une part leur support génétique, et remonter d'autre part jusqu'à leur écosystème originel (humain ou animal). Les outils dont nous disposons actuellement dans cette optique s'avèrent parfois inadaptés face à la taille conséquente des éventuelles populations à tester pour atteindre les objectifs méthodologiques que cela impliquerait. La tâche devient même quasi-impossible lorsqu'il s'agit de bactéries ubiquitaires (entérobactéries), lesquelles constituent une part importante de la flore commensale de tous les mammifères. Ces genres bactériens cohabitent dans un même écosystème intestinal où les échanges intra-compartimentaux sont légion. (22)

Chaque utilisation d'antibiotique contribuant possiblement à sélectionner des bactéries multi-résistantes, la simple hypothèse d'un réservoir animal à l'antibiorésistance justifie la mise en place de mesures de précaution strictes, adaptées à la mesure du risque encouru. Et la maîtrise de ce problème demeure entre les mains des prescripteurs. Vétérinaires et médecins disposent du même arsenal thérapeutique, cantonné à une dizaine de familles d'antibiotiques. Son élargissement vers de nouvelles familles se réduit un peu plus chaque année, au point d'amener l'OMS en septembre 2017 à exhorter à une prise de conscience rapide du « grave manque de nouveaux antibiotiques en développement » face à la menace croissante des bactéries multi-résistantes. (23) Dès lors, l'appréciation de la progression de l'antibiorésistance ne peut se concevoir sans une surveillance coordonnée. Chez l'Homme bien entendu, ce qui est largement le cas de nos jours, mais aussi chez l'animal ! Observer ce qu'il se passe chez l'un nous renseignerait sur ce qu'il pourrait se passer chez l'autre, et inversement.

## I.2.3. Cas des E-BLSE (entérobactéries productrices de béta-lactamase à spectre élargi)

L'augmentation de la multi-résistance aux antibiotiques chez les bacilles Gram négatif représente un enjeu majeur de santé publique, notamment illustré par le phénomène de dissémination mondiale des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE).

Les E-BLSE sont omniprésentes au niveau mondial ; 1,5 milliard de personnes seraient à ce titre présentement colonisées par au moins une E-BLSE (24). Leur prévalence est d'ailleurs en constante augmentation. Si ce fardeau semblait initialement être l'exclusivité des pays riches (ceux disposant par ailleurs des outils de surveillance épidémiologique), il est désormais établi que ce phénomène concernerait encore davantage les pays les moins développés, où le recours aux antibiotiques peine à être réglementé. (25)

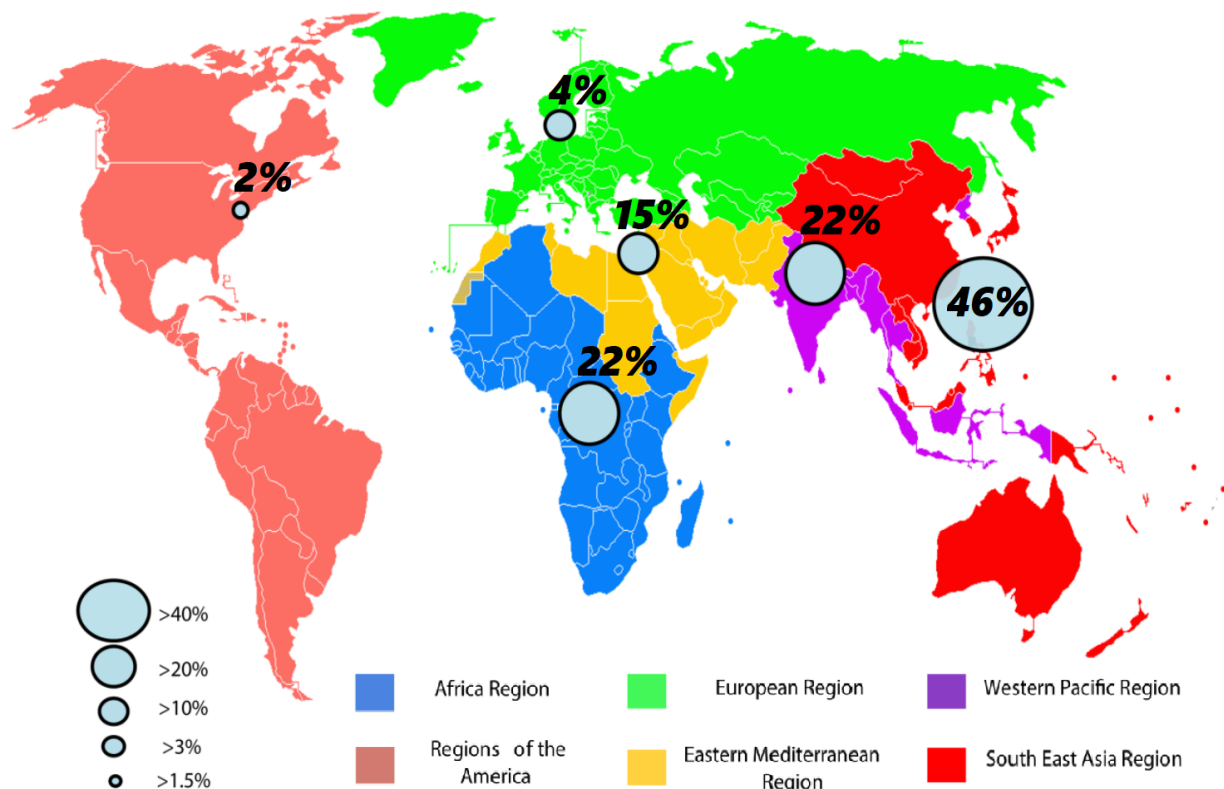


Figure 2 - Prévalence globale de la colonisation à E-BLSE au sein de la population humaine dans le monde (d'après Karanika et al.) (25)

C'est au début des années 1980 que les premières souches de BLSE humaines ont été décrites, peu de temps après l'introduction en pratique clinique des céphalosporines de 3ème génération (C3G). Initialement rapportées en Allemagne et en France, des pénicillinases de type SVH ou TEM avaient alors démontré un élargissement de compétence vers les C3G non reporté jusqu'alors, à la faveur d'éléments mutationnels. Ces BLSE étaient alors décrites comme essentiellement responsables d'infections nosocomiales. (26)

## Céfotaximases (CTX-M)

Les années 2000 ont cependant vu l'étonnante émergence de la classe des céfotaximases, dite CTX-M (27). Cette enzyme non-TEM et non-SHV fut isolée pour la première fois en Allemagne en 1989. La présence d'un résidu arginine en position 276 est à l'origine de son activité hydrolytique envers les C3G, à l'image de ce qui était retrouvé précédemment pour TEM et SHV en position 244. (28). Elle a cependant été dénommée CTX-M du fait d'une activité préférentielle sur le céfotaxime au regard de la ceftazidime (on parle de ce fait de « céfotaximase »). Les CTX-M sont de nos jours considérées comme les BLSE les plus répandues au niveau mondial chez l'homme, et concernent aussi bien le secteur hospitalier que le milieu communautaire. (29) Plus de 150 variants de CTX-M ont actuellement été identifiés (30), et classifiés en 5 grands groupes compte-tenu de leur séquence en acides-aminés : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9 et CTX-M-25.

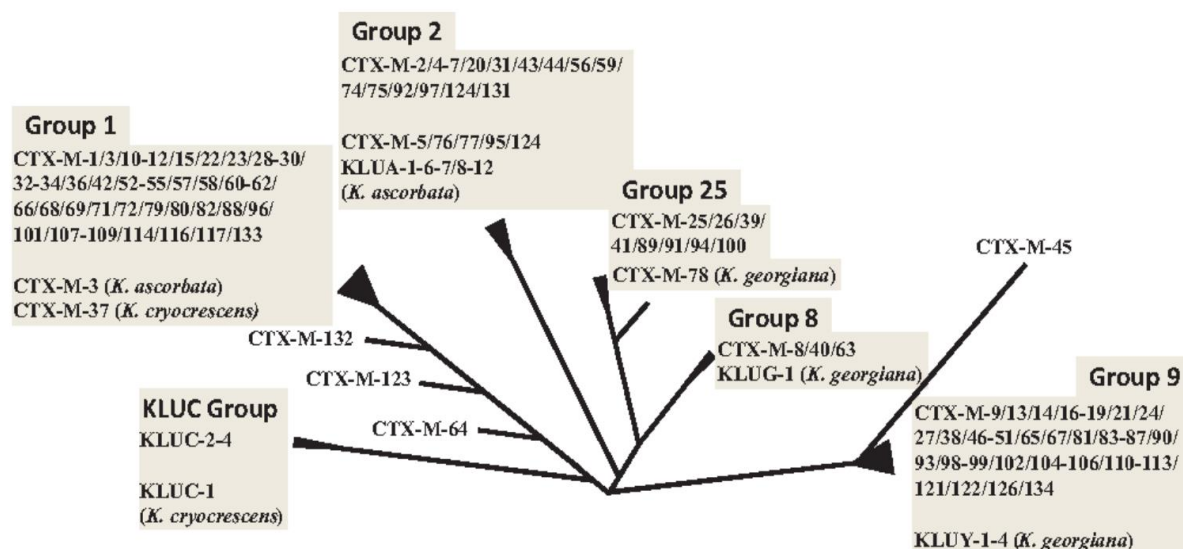


Figure 3 - Arbre phylogénétique du gène CTX-M et clustérisation en 5 grands groupes - (d'après Decousser et al.) (29)

Le gène chromosomique de bêta-lactamase de classe A « bla Kluc » identifié chez l'entérobactérie *Kluyvera cryocrescens* est considéré comme l'ancêtre du groupe CTX-M-1. (31) De façon similaire, on attribue une parenté pour le groupe CTX-M-2 au gène *klua* de *Kluyvera ascorbata*, et à trois différentes bêta-lactamases chromosomiques de *Kluyvera georgiana* (groupes CTX-M-8, CTX-M-9, et CTX-M-25). (32)

Le plasmide portant l'enzyme de type CTX-M s'avère très souvent être le support d'autres gènes de résistance aux antibiotiques, et notamment aux aminosides, tétracyclines, sulfamides, triméthoprimé et fluoroquinolones, impliquant de fait la possibilité de phénomènes co-résistance et de co-sélection. (33) L'utilisation non-raisonnée d'antibiotiques a donc probablement largement contribué à ce phénomène de dissémination quasi épidémique des CTX-M, au même titre que l'explosion des échanges internationaux observée au début des années 2000. (34)

## **CTX-M-15**

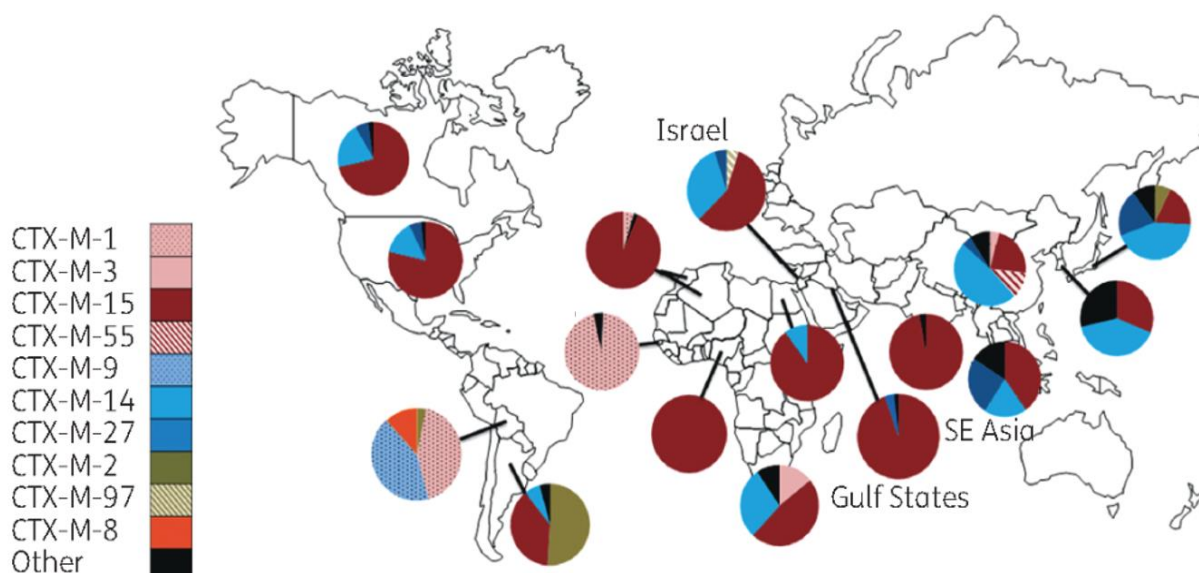
Présente sur les cinq continents, on considère aujourd'hui que l'enzyme CTX-M du sous-groupe 15 (= groupe 1) est de loin la plus représentée au niveau mondial chez l'Homme. (35) Ce phénomène de globalisation des CTX-M15 va même jusqu'à se manifester dans le compartiment environnemental (regroupant les eaux, sols et animaux sauvages). (36) Cette enzyme tient filiation au sous-groupe CTX-M-3 (= groupe 1) du fait d'une unique mutation Asp240Gly, induisant une hydrolyse beaucoup plus importante du ceftazidime par rapport au céfotaxime. (37)

Les CTX-M15 semblent avoir plus une grande capacité de dissémination, du fait d'une séquence d'insertion et de mobilisation ISEcp1 singulière. (38) Cette dernière se targue en effet de plusieurs atouts non négligeables, prédisposant tout naturellement son enzyme CTX-M-15 à un succès manifeste, en milieu communautaire notamment. ISEcp1 code tout d'abord pour une transposase, ce qui assure la mobilité plasmidique du gène CTX-M-15 auquel elle est associée. Elle présente par ailleurs d'une activité promotrice forte, renforçant de fait l'expression de l'enzyme à laquelle elle est associée. Enfin, elle exprime une affinité toute particulière envers les entérobactéries et notamment *E. coli*, du fait d'interactions facilitées et privilégiées avec leurs plasmides « naturels » résidants de groupe F. (39)

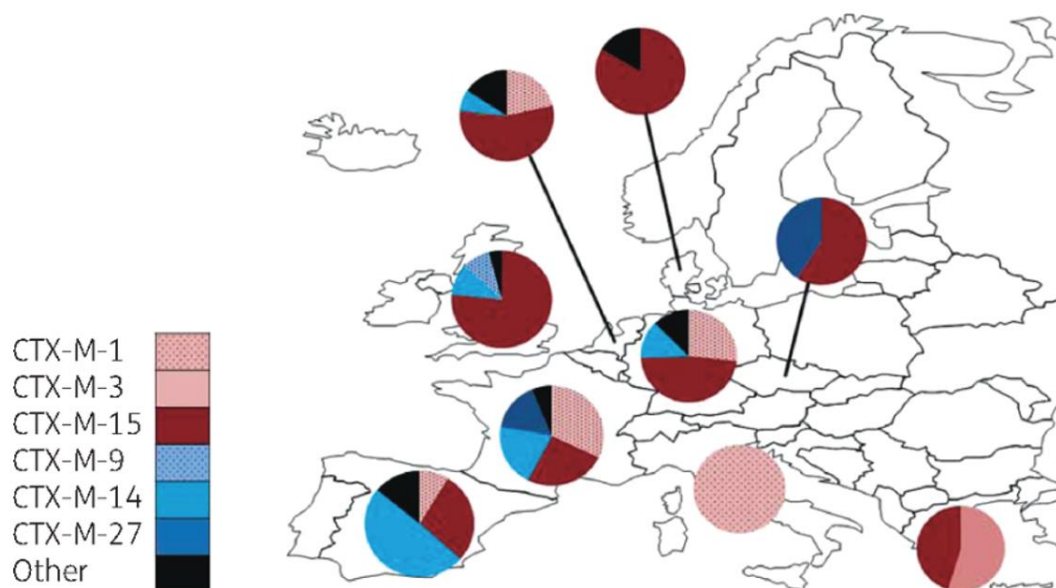


Ainsi, à la faveur d'un faible coût énergétique de maintenance chez *E. coli* (pas de perte de « fitness »), les plasmides F se maintiendraient beaucoup plus longtemps, et ce indépendamment d'une éventuelle pression de sélection antibiotique intercurrente. (40)

Malgré cette omniprésence mondiale de CTX-M-15 dans le compartiment humain, certaines CTX-M particulières apparaissent comme « spécifiques » d'un pays ou d'une aire géographique bien particulière. Citons à ce titre le sous-groupe CTX-M-2 (= groupe 2) en Amérique du sud, le sous-groupe CTX-M-1 en Italie ou encore le sous-groupe CTX-M-14 (= groupe 9) en Espagne et en Asie (Chine, Japon, Corée du Sud et pays d'Asie du Sud-Est notamment). (41)



**Figure 4 - Répartition des principaux sous-groupes de CTX-M au niveau mondial chez l'Homme : 2009 – présent (d'après Edward et al) (40)**



**Figure 5 - Répartition des principaux sous-groupes de CTX-M au niveau européen chez l'Homme: 2009 – présent (d'après Edward et al) (40)**

La **France** ne fait pas exception à la règle, et le sous-groupe CTX-M-15 y est largement représenté au sein de la population humaine. (42) Notons toutefois que de récentes études y ont montré une prévalence du sous-groupe CTX-M-1 presque aussi élevée que celle de CTX-M-15.

Dans **zone océan indien**, peu de données ayant rapport à la prévalence et au typage des BLSE circulant dans le compartiment humain sont disponibles. Néanmoins, ces contrées ont nécessairement développé d'importants flux d'échanges avec le reste du monde compte-tenu de leur localisation géographique parfois reculée et de leur fréquente situation d'insularité. L'éventualité d'une soustraction au phénomène d'antibiorésistance apparaît de fait très improbable.

A **Madagascar**, la prescription des antibiotiques en santé humaine relève la plupart du temps d'un médecin assermenté (43), et leur distribution s'envisage théoriquement dans le cadre d'un circuit « formel », légal. Leur recours s'envisage pourtant très souvent de façon probabiliste par le prescripteur, compte-tenu de l'insuffisance de couverture en laboratoires d'analyses biologiques (dont les prestations s'avèrent de toute façon bien au-delà des bourses de la plupart des ménages malgaches) (44). Bien qu'officiellement réprimé par le Code de la Santé malgache (activité passible d'amende et d'emprisonnement), un secteur informel de distribution des antibiotiques

existe. Ce dernier est même officieusement intégré par l'Etat et prend volontiers le relai du secteur formel en cas de pénurie d'approvisionnement. (45) Certains antibiotiques circulent ainsi librement sur les étals des marchés notamment, et leur distribution s'apparente à celle de biens de consommation ordinaires. En matière d'antibiorésistance, il n'existe pour l'heure aucun programme national de surveillance dédié à ce phénomène. Les rares études réalisées en la matière sont pour la plupart soutenues par des organismes privés et autres organisations non gouvernementales (Institut Pasteur et OMS entre autres). De ce fait, les premières souches humaines malgaches d'E-BLSE ont été décrites dans la littérature assez tardivement (2005) (46). Ce sont actuellement des prévalences globales en E-BLSE voisines des 21% qui sont avancées au sein de la population malgache (47) (48), chiffre proche de ce qui est retrouvé plus largement au sein de la zone Afrique. (25). D'un point de vue enzymatique, une franche majorité de CTX-M-15 est décrite (49) (50), laissant Madagascar s'inscrire dans la même tendance de celle observée à la Réunion (51) et plus largement dans le reste du monde.

A **Mayotte**, le processus de départementalisation initié suite au referendum local de 2009 implique théoriquement le respect des mêmes obligations que celles prévalant au niveau national en médecine humaine, et notamment en ce qui concerne la prescription et la distribution des antibiotiques. La réalité du respect de ces considérations n'a toutefois pas été vérifiée dans cette étude. Toute comme la Réunion, Mayotte apparait particulièrement exposée au risque d'antibiorésistance compte-tenu de son implication dans la prise en charge sanitaire de patients en provenance des îles avoisinantes (évacuations sanitaires et immigration illégale notamment). L'ARS Océan Indien se positionne dans la lignée du Plan National Antibiotiques 2018 et exhorte à une réflexion de fond quant à l'usage observé des antibiotiques dans ces deux îles afin d'en diminuer les prescriptions inutiles. En 2014, l'ensemble Réunion-Mayotte se présentait comme l'une des régions avec les plus fortes incidences d'entérobactéries multirésistantes, (52) et ce taux continuer d'augmenter de façon plus marquée qu'en métropole. La consommation totale d'antibiotiques tous établissements confondus positionne la région Réunion-Mayotte en 2ème place des régions les plus consommatrices d'antibiotiques (53).

## ***Chez l'animal***

Le monde animal n'échappe pas à l'omniprésence des céfotaximases. De la même façon, si les bêta-lactamases de type TEM et SHV étaient largement reportées jusqu'au début des années 2000 dans les élevages européens (54), il apparaît désormais qu'un switch enzymatique s'est récemment opéré au profit des CTX-M. Le sous-groupe CTX-M-1 en particulier apparaîtrait pour l'heure comme étant le plus répandu au niveau européen (prévalence totale atteignant les 72%). (55)

Bien que de nombreuses études se soient attachées à évaluer la prévalence des E-BLSE au sein des élevages de rente dans le monde, très peu de données existent spécifiquement à la zone Océan Indien.

Des travaux préliminaires ont été menés par Miltgen et *al.* en 2014 (56) sur quatre îles de la région : Madagascar, l'archipel des Comores, Mayotte et l'île Maurice. L'objectif alors affiché était d'estimer la part du réservoir animal dans le phénomène d'antibiorésistance via l'appréciation des niveaux de prévalence en E-BLSE constatés au sein des principales exploitations animales qui y étaient rencontrées. Au moyen de prélèvements réalisés directement au niveau du rectum ou du cloaque des animaux, c'est un total de 27 fermes qui ont ainsi été sondées au cours de l'année 2014 lors de missions de collectes spécifiques, ciblant aussi bien des exploitations de bovins, d'ovins, de porcins et de volailles. (Madagascar : 6 sites et 84 animaux ; Comores : 3 sites et 89 animaux ; Mayotte : 6 sites et 37 animaux, Maurice : 7 sites et 67 animaux). 63 des 277 animaux testés se sont avérés porteurs d'au moins une E-BLSE, soit un taux de colonisation moyen de 22,7% toutes espèces et régions confondues. C'est donc une forte prévalence globale en E-BLSE qui a ainsi été mise en évidence dans la zone Océan Indien, avec toutefois la mise en évidence d'importantes disparités inter-régionales (40,5% de prévalence pour Madagascar contre 6,7% aux Comores) et inter-espèces (filière porcine : 70% de colonisation contre 10% pour les volailles). Les fortes prévalences ainsi retrouvées ont dès lors souligné la nécessité d'investigations supplémentaires à mener au niveau régional notamment. Il s'agirait d'établir de façon plus précise les niveaux de prévalence observés par île et par filière sur de plus grands effectifs, et de mieux comprendre ce « niveau élevé » de résistance (identification d'éventuels facteurs de risque et typage moléculaire des souches bactériennes ainsi isolées).

Tirant parti de ces observations préliminaires, Ramin-Mangata et *al.* (57) ont entrepris d'affiner cet état des lieux en 2016 spécifiquement pour l'île de la Réunion. Des modifications substantielles ont d'ailleurs été apportées quant aux méthodes mises en oeuvre. Brièvement, de plus larges effectifs de fermes ont été sondés sur la base d'une étude bibliographique des niveaux de prévalence décrits dans les autres élevages du monde. Le recueil biologique par pédichiffonnette a été privilégié et un questionnaire ayant trait aux conditions d'élevage a été renseigné de façon conjointe, afin d'identifier d'éventuelles pratiques à risque. Enfin, un typage moléculaire des souches d'E-BLSE a été réalisé. Les observations faites dans cette étude seront plus longuement détaillées et permettront la comparaison avec nos résultats dans le cadre d'une mise perspective régionale.

## **I.2.4. Cas des E-RPP (entérobactéries avec résistance plasmidique aux polymyxines)**

La dissémination des entérobactéries multi-résistantes (et notamment aux carbapénèmes) a occasionné le retour en médecine humaine de la polymyxine E (colistine) lorsque les alternatives thérapeutiques s'avèrent limitées. (58) Contrairement à la médecine vétérinaire où les polymyxines sont de recours ordinaire, ces dernières ont longtemps été écartées des protocoles thérapeutiques hospitaliers en raison d'une forte toxicité (en particulier rénale). Les polymyxines s'envisageaient alors dans des infections particulièrement graves, et le plus souvent en tant que traitement de dernier recours.

L'augmentation récente de leur recours s'est rapidement accompagnée d'une majoration des infections à germes naturellement résistants (59), et de façon plus alarmante de l'émergence d'un phénomène de résistance acquise chez des bacilles Gram négatif qui y étaient habituellement sensibles.

Pour rappel, les polymyxines sont des antibiotiques produits naturellement par une bactérie Gram positif d'origine environnementale : *Paenibacillus polymyxa* (60). On en dénombre cinq classes chimiques (A, B, C, D et E) dont seulement deux sont utilisées en pratique : la polymyxine B (aux USA notamment) et la polymyxine E (ou colistine). (61) Il s'agit de volumineuses molécules polypeptidiques cationiques ciblant le lipopolysaccharide (LPS) bactérien, composant fondamental dans le maintien de l'intégrité de la paroi des bacilles Gram négatif (BGN). Même si leur mode d'action exact n'est à ce jour pas totalement élucidé, la bactéricidie des polymyxines tiendrait à une perturbation des interactions électrostatiques s'opérant au sein de la membrane bactérienne (l'affinité du LPS vis à vis des polymyxines étant supérieure à celle des cations divalents membranaires y résidant: Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>) (62) (63) (64).

Pendant longtemps, le concept d'un support plasmidique aux gènes de résistance des BGN aux polymyxines a largement été rejeté par la communauté scientifique.

Lorsqu'ils étaient étudiés, ces derniers correspondaient toujours à des mutations chromosomiques de gènes impliqués dans les voies de biosynthèse de la capsule (substitution de la cible) ou du lipide A (modifications de la cible). Les niveaux de résistance observés sont dans ce cas généralement élevés (CMI >8 mg/L).

En novembre 2015, Liu et *al.* identifient pour la première fois chez des souches d'entérobactéries d'origine animale et humaine un gène de support plasmidique nommé MCR-1 (plasmid-mediated colistin resistance), codant pour une phosphoéthanolamine transférase (pEtN) responsable d'une résistance acquise à la colistine. (65) Les modifications du LPS ainsi causées par MCR-1 confèreraient un niveau de résistance relativement faible (CMI comprises entre 2 et 8 mg/L), mais potentiellement transférable horizontalement. D'où la frayeur occasionnée dans la communauté scientifique. Depuis, 7 autres familles de gènes MCR ont été décrites. (66)

Après la publication de la séquence nucléotidique du gène MCR-1, de nombreux groupements scientifiques ont recherché sa présence dans leur base de données d'ADN bactérien. Ainsi, au 1er août 2016, 1472 souches d'entérobactéries productrices de MCR-1 étaient recensées par Dortet et *al* (67), révélant une dissémination d'ordre mondial de l'enzyme. Si la majorité des souches identifiées provenait d'Europe et d'Asie, ces dernières étaient préférentiellement issues du monde animal, suggérant ainsi un très probable réservoir animal.

Bien que décrit de récemment, ce mécanisme de résistance a été retrouvé au sein de collections bactériennes remontant aux années 1980 (élevages de poulets de chair

chinois) (68). La circulation de MCR-1 se serait opérée de façon silencieuse pendant une vingtaine d'année à la faveur d'une absence totale de surveillance épidémiologique et d'un défaut de techniques de détection adaptées.

## ***MCR-1 chez l'animal***

Il est désormais entendu que la dissémination de MCR-1 concernerait de façon majoritaire le compartiment animal, et tout particulièrement les élevages de rente (69). Un lien a rapidement été établi avec les fortes quantités de polymyxines qui y sont utilisées (70). Notons toutefois que la faune sauvage n'échapperait pas à ce phénomène (71) (description de souches d'*E. coli* co-résistants CTX-M et MCR-1 chez les goëlands à Ushuaïa, oiseau de mer sauvage n'étant naturellement pas soumis à d'éventuels traitements antibiotiques), et jouerait même un rôle de catalyseur dans la dissémination mondiale de l'enzyme (capacités migratoires).

Si l'on s'attache spécifiquement aux élevages de rente, la présence de MCR-1 a été rapportée dans les exploitations animales d'au moins 29 pays, couvrant les quatre principaux continents. (72). L'Europe serait particulièrement concernée, avec des niveaux de prévalence parfois élevés. (73) (74)

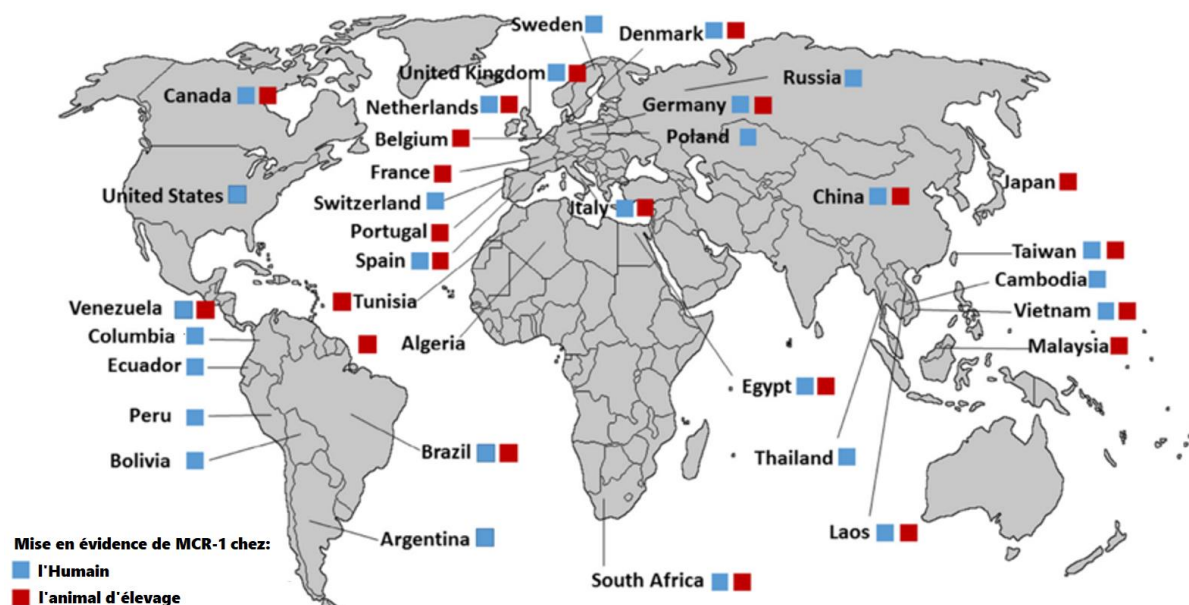


Figure 6 - Distribution mondiale de MCR-1 dans les élevages de rente (illustration d'après Giamarellou et al.) (72)

**En France**, les premières souches animales d'entérobactéries MCR-1+ ont été mises en évidence de façon rétrospective dès 2005 au sein d'élevages de veaux atteints de diarrhée infectieuse. De façon peu étonnante, il s'agissait pour l'intégralité des souches collectées d'*E. coli* démontrant une co-résistance aux C3G du fait de la production associée de BLSE. (75) Ce phénomène de co-résistance facilite très probablement la sélection et la dissémination des souches MCR-1 dès lors qu'une forte pression antibiotique est exercée (comme c'est notamment le cas au sein des élevages). Plus récemment, un état des lieux de la résistance plasmidique à la colistine a été mené au niveau national à partir de prélèvements réalisés rétrospectivement entre 2007 et 2014 dans le cadre du Programme de Surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les élevages. Si des prévalences relativement modérées sont actuellement retrouvées en France par rapport au reste du monde, (76) elles apparaissent toutefois constante augmentation depuis le début des années 2010.

Year	Animals	<i>E. coli</i> strains tested for MIC N	<i>E. coli</i> strains resistant to colistin N	Proportion of <i>mcr-1</i> positive (n) among colistin-resistant <i>E. coli</i> strains (N) n/N	Prevalence of <i>mcr-1</i> positive <i>E. coli</i> strains % (95%CI)
2014	Turkeys	239	14	14/14	5.9 (2.9–8.8)
	Broilers	227	4	4/4	1.8 (0.1–3.5)
2013	Pigs	196	1	1/1	0.5 (0.0–1.5)
	Broiler	193	3	3/3	1.6 (0.0–3.3)
2012	Pigs	194	0	N.a.	N.a.
	Broiler	201	0	N.a.	N.a.
2011	Pigs	200	1	1/1	0.5 (0.0–1.5)
2007	Turkeys	ND	ND	0/246	0 (0.0–1.2)

**Figure 7 - Etudes françaises ayant apprécié la prévalence de MCR-1 en élevage entre 2007 et 2014 (illustration d'après Perrin-Guyomard et al.) (76)**

**Au niveau régional**, la première souche animale d'entérobactérie MCR-1 a été isolée en janvier 2018 à la Réunion par Belmonte et al (données non publiées), lors d'un screening réalisé *a posteriori* sur pédichiffonnettes prélevées en 2016 au sein d'élevages de rente réunionnais. Après décongélation et ensemencement sur gélose de dépistage spécifique SuperPolymyxine (ELITech MICROBIO), une souche d'*E. coli* résistante à la colistine et revenant positive à MCR-1 en biologie moléculaire avait été isolée au sein d'un élevage de porcs du sud de l'île. (exploration moléculaire réalisée par le CNR de la Résistance aux Antibiotiques du CHRU de Clermont Ferrand.

La dissémination de MCR-1 de l'animal vers l'Homme ferait craindre la confrontation à de véritables situations d'impasse thérapeutique (notamment dans le cas d'infections à germes multi-résistants). La simple évocation d'une telle occurrence suffit donc à justifier la nécessité conjointe d'une surveillance renforcée du compartiment humain. (77)



## **MCR-1 chez l'Homme**

A la différence du compartiment animal, la prévalence des souches humaines MCR-1+ resterait pour l'heure encore faible. Sur les 21006 isolats bactériens collectés dans le cadre de l'étude SENTRY (78), plus grande évaluation **internationale** de la prévalence humaine de MCR-1 (programme de surveillance mis en place entre 2014 et 2015 au sein de 183 hôpitaux), seuls 19 ont été retrouvés positifs à MCR-1, ce qui représente une prévalence globale inférieure à 0,1%.

Au niveau **régional**, peu de données existent spécifiquement à la zone océan indien. Les premières souches humaines d'entérobactéries MCR-1+ ont été isolées en 2016 en Afrique du Sud chez des patients provenant à la fois du milieu communautaire et hospitalier. Ces souches présentaient toutes une co-résistance au florfénicol, antibiotique d'usage vétérinaire uniquement, ce qui suggère encore une fois une contribution animale directe à ce phénomène. (79)

**A la Réunion**, une souche humaine d'entérobactérie MCR-1+ a été isolée en janvier 2017 au CHU Sud. Il s'agissait d'une patiente de 30 ans « evasanée » d'un service de soins intensifs mauritien pour syndrome de Guillain Barret dans les suites immédiates d'un syndrome grippal développé lors d'un séjour au Moyen Orient. Son hospitalisation avait notamment été marquée par le développement d'une infection urinaire non compliquée à *E. coli* multi-résistant (co-producteur de BLSE de type TEM et d'une carbapénémase de type NDM-1), démontrant une résistance inhabituelle à la colistine. (CMI= 4g/mL). Bien que la souche ait été retrouvée positive par PCR à MCR-1, l'origine autochtone du cas n'avait alors pu être certifiée compte-tenu de cette notion de séjour en Arabie Saoudite et dans un hôpital mauricien. (80)

# I.3. L'élevage de rente dans l'Océan Indien : exemple de Madagascar et de Mayotte

## I.3.1 Madagascar

L'élevage tient une place importante à Madagascar. On estime à ce titre qu'environ 72% des ménages ruraux malgaches sont concernés pour des pratiques ayant trait à l'élevage d'animaux (de la basse-cour au gros bétail. (81) Il s'agit à vrai dire d'une source durable et non négligeable de revenus pour l'ensemble de la population.

### ***Bœufs***

Le zébu (*Bos taurus indicus*) est un bovidé domestique introduit dès les années 1880 à Madagascar. Près de 8 millions de malgaches pratiqueraient l'élevage de zébus selon le ministère de l'Élevage malgache. (82) Il fournit un indispensable support à la population dans tous les aspects de la vie quotidienne, à tel point que l'équipe de football nationale est surnommée « Baréa », ce qui signifie « zébu ». Son élevage se conçoit selon deux systèmes distincts suivant la région considérée :

- *Dans les régions les plus rurales* (versant occidental et sud-ouest de l'île), le zébu est élevé pour venir en aide à la réalisation des travaux agricoles. Moyen de production peu coûteux, ce dernier se prête particulièrement aux activités de traction comme le labour et le piétinement des rizières. Son fumier profite à la fertilisation des terres. L'élevage contemplatif de zébus s'envisage d'un point de vue sociétal comme un signe extérieur de richesse : posséder un grand troupeau est un moyen détourné d'afficher aux autres sa réussite sociale. Les régions Sud (Tuléar) et Ouest (Mahajanga) rassemblent ainsi près de 65% de l'effectif du cheptel national. (83)

- *Dans les régions urbaines et péri-urbaines* (Antananarivo et Antsirabe), l'élevage de bovidés s'envisage plutôt pour la consommation. La population y est plus dense et le pouvoir d'achat élevé. La proximité des services vétérinaires et des centres d'abattoirs facilite le développement de grandes exploitations agricoles où l'élevage de bovidés s'envisage selon un système intensif. (84)

# Volailles

Bien que la consommation de volaille soit encore relativement faible à Madagascar (3kg par personne par an *versus* 50kg en Europe), l'élevage avicole n'est pas en reste et la demande croissante pour ce type de viande bon marché. (85)

L'élevage avicole se répartit principalement en deux sous-compartiments distincts :

- L'un, majoritaire, est de type **traditionnel**. Largement répandue dans tout le territoire malgache (jusqu'aux régions les plus enclavées), l'aviculture villageoise constitue pour cette tranche de la population un système d'épargne à part entière, mobilisable à tout instant. 67% des ruraux possèderaient ainsi au moins une poule. Il s'agit le plus souvent de poulets dits « akoho gasy » : race locale et assez rustique, elle supporte bien les différents climats de Madagascar et est appréciée pour sa chair et ses œufs. Elle permet surtout d'obtenir rapidement et à moindre coût une viande à bon rendement : l'investissement à supporter est modéré et son cycle de production relativement court (la croissance d'un poulet varie entre 40-45 jours ; une poule peut pondre dès 8 mois et avoir jusqu'à 3 couvaisons par an). La plupart des tâches ayant trait à l'aviculture villageoise revient en premier lieu aux femmes et aux enfants. Les unités d'élevage sont de taille modeste (5 à 20 sujets), sans gestion particulière. (86) L'Etat encourage activement le développement de ces filières traditionnelles pour assurer un minimum de ressources au plus grand nombre.

- L'autre, plus **industrialisé**, est à ce jour encore minoritaire mais tend à se développer. (87) L'élevage avicole industriel se concentre en périphérie des zones urbaines et périurbaines, là où la demande en viande et en œufs est la plus forte et les centres d'abattage disponibles. Antananarivo et sa proche banlieue (Mahitsy, Ankazobe) rassemblent ainsi la quasi-totalité des exploitations de Madagascar. (85) Les éleveurs sont des professionnels à part entière et tirent leurs revenus de volailles génétiquement sélectionnées sur leur capacité à produire viande et œufs à un bon rendement. Ces dernières reçoivent une alimentation spécifique ainsi que les mesures sanitaires prophylactiques de pratique courante dans les exploitations modernes. L'élevage est confiné dans un poulailler et l'application des mesures sanitaires fait l'objet d'un management rationalisé. Les éleveurs se fournissent principalement en poussins auprès d'accoupeurs professionnels, lesquels importent massivement d'Europe leurs œufs à couvrir pour pallier à la forte demande en produits intermédiaires. Le développement de sites d'élevage parentaux est actuellement encouragé.

## **Porcs**

Seconde en importance, la filière porcine se concentre principalement dans les Hautes-Terres (Antananarivo, Fianarantsoa) et les régions sud (plus de 80% du cheptel total). Il s'agit le plus souvent des races locales (« kisoa zanatany »), bien que l'importation d'espèces génétiquement perfectionnées se rencontre de plus en plus. (88). Sa commercialisation se destine exclusivement à la consommation locale du fait de l'endémicité de la maladie de Teschen (encéphalite à entérovirus du porc) et des épidémies récurrentes de peste porcine africaine sévissant depuis 1998, concourant à l'interdiction d'exportation d'animaux vivants.

Là encore, on identifie principalement deux types d'élevages:

- le plus répandu, **traditionnel** et de gestion familiale rassemble de modestes effectifs (moins de 10 têtes, de race locale). Les porcs sont voués à l'engraissement (et non pas à la reproduction) à la faveur des restes de cuisines et surplus de récoltes. Leur rendement reste favorable grâce à la valorisation des déchets et à des mesures d'entretien quasi nulles. Les installations sont rudimentaires (abris en bois accolés à la maison familiale), et le contexte sanitaire soumis aux considérations de son éleveur.
- à l'opposé, les **élevages intensifs** relevant d'une logique industrielle s'avèrent de grande taille (plus de 100 têtes en moyenne). Les races concernées sont le plus souvent améliorées et importées (croisements à haut rendement). Si la majeure partie du cheptel est allouée à l'engraissement, l'autre se destine à la reproduction afin de garantir sa pérennité. La taille de la porcherie est ajustée au nombre d'individus qu'elle reçoit, ventilée et nettoyée régulièrement. L'alimentation est adaptée et les contraintes sanitaires connues de l'éleveur.

## **I.3.2. Mayotte**

### **Bœufs**

Près de 3600 élevages bovins sont recensés à Mayotte (89). Leur répartition est cependant assez inégale. S'il s'agit dans la majorité des cas (60%) de petites exploitations (moyenne de 4,8 têtes), il n'en demeure pas moins que 8,9% des

éleveurs de possèdent à eux seuls 31% du troupeau local (soit 5200 bovins). Par voie de conséquence, la gestion de la majorité des troupeaux se fait encore de façon **traditionnelle** : à l'attache, les bovins sont régulièrement déplacés pour être placés au plus près des ressources fourragères environnementales disponibles localement... Les troupeaux fonctionnant sur un mode plus **industrialisé** impliquent quant à eux le parquage dans des parcelles conçues à cet effet, une complémentation alimentaire spécifique et des mesures de vaccination préventive. La plupart de ces gros troupeaux se concentrent dans les régions centre de l'île (Ouangani, Sada), communes historique en matière,d'élevage...

## **Volailles**

Plus de 2150 exploitations avicoles sont recensées à Mayotte. (89)

- La grande majorité des élevages (environ 2000) répond encore à un mode d'exploitation de type **traditionnel**, et produisent essentiellement des poulets de chair de race locale dite « bicyclette ». Le nombre d'individus ne dépasse pas la dizaine, dans des installations précaires type « tôles, bois et grillage » ; il s'agit avant tout de satisfaire les besoins alimentaires familiaux (le surplus étant vendu dans un second temps uniquement...)

- A l'opposé, s'ils sont moins représentés (environ 150), les élevages modernes drainent quant à eux des effectifs beaucoup importants (de la centaine au millier de têtes). Ils s'avèrent plus diversifiés en matière de production (poules pondeuses, poulets de chair, pintades et dindes). La totalité de la production avicole industrielle se destine à la consommation. Les normes d'hygiène répondent aux standards nationaux depuis la départementalisation de l'île.

Le marché mahorais avicole est fortement déséquilibré : si le marché de l'œuf était considéré comme auto-suffisant (90), la production de poulet de chair ne parvient quant à elle pas à satisfaire plus de 1% de la demande locale. (91) Même si cette filière tend à se développer, de nombreuses contraintes brident cette aspiration. Il n'existe à ce jour qu'un seul abattoir (à Coconi). Ce dernier est arrivé à saturation et ne parvient pas à absorber toute la demande. La production industrielle d'œufs fécondés sur place (grâce à des élevages de reproducteurs) est actuellement trop

technique pour être envisagée. De ce fait, l'import est nécessaire. Jusqu'en 2016, il s'agissait de poussins en provenance de la métropole, avec une limite de 3000 par voyage, et bien trop souvent soumis aux aléas du fret aérien. La mise en place récente d'un couvoir en mars 2016 a ouvert la voie à l'importation d'œufs fécondés : transportés à 13°C, ces derniers supportent des temps de transports plus longs.

## I.4. Spécificités de l'antibiothérapie vétérinaire :

Les antibiotiques sont largement utilisés dans les élevages. L'OMS a estimé en 2001 qu'au moins 50 % des antibiotiques produits dans le monde étaient destinés aux animaux d'élevage et de compagnie, pour les soigner ou favoriser leur croissance. (92). Aux Etats-Unis, où le recours aux antibiotiques vétérinaire est beaucoup fréquent, on avance même le chiffre de 80%. (93)

En chiffres, 13 600 tonnes d'antibiotiques ont été vendues en 2011, à destination de la filière animale aux États-Unis, contre 3500 pour les Américains eux-mêmes.

### I.4.1. Indications

La finalité des antibiotiques à usage vétérinaire peut différer suivant les objectifs de l'éleveur et la région du monde où se situe l'élevage :

- à but **thérapeutique**, l'antibiotique remplit alors son indication primitive, c'est-à-dire celle pour laquelle il a été initialement développé : la lutte contre les infections causées par des bactéries. (94)

- à usage **zootechnique** ou **sub-thérapeutique**, il s'agit là plutôt d'améliorer le rendement des productions animales. (95). L'antibiotique est alors envisagé en tant de promoteur de croissance, et son recours détourné de son indication primitive.

# Usage thérapeutique

Comme l'Homme, les animaux peuvent être sujets à des infections qu'il convient parfois de prévenir ou traiter : on estime que 60% des 1400 pathogènes recensés pour les humains le sont aussi pour les animaux. (96) Ceci se conçoit d'autant plus en condition d'élevage, lorsque les importantes densités d'individus mettent en péril le fragile équilibre sanitaire du troupeau. Les troubles sanitaires affectant les animaux d'élevage seraient ainsi responsables à l'échelle planétaire d'un manque à gagner de plus 20% en termes de production, selon l'Organisation Internationale de la Santé Animale (OIE). (97) D'où l'intérêt des antibiotiques: 96% du tonnage produit en 2018 concernait les animaux destinés à la consommation. (98) Maîtriser la santé animale permet alors d'assurer à la fois le bien-être des animaux, mais aussi les performances économiques du cheptel pour son producteur.

Le recours aux antibiotiques en tant que médicament dans les élevages s'envisage le plus souvent selon trois modes distincts (99) :

- dans la majorité des cas, leur utilisation répond à un besoin « **curatif** » chez des animaux cliniquement malades. L'objectif est ici principalement d'éviter leur mort et de restaurer à plus ou moins court terme leur production (et de réduire leur souffrance). Le traitement curatif ne se conçoit qu'à l'échelle individuelle (c'est-à-dire qu'il est administré uniquement aux sujets atteints).

- le traitement « **métaphylactique** » s'envisage dans les élevages à haute densité, lorsqu'une infection que l'on sait contagieuse commence à apparaître chez un nombre significatif d'individus (seuil de 10 à 15% du troupeau généralement choisi). L'ensemble du cheptel sera alors traité pour enrayer la progression de l'agent infectieux chez des animaux encore sains, mais ayant pu être en contact étroit avec ceux atteints. Il s'agit donc ici d'allier le curatif au préventif avec une posologie adaptée afin de limiter les phénomènes de sélection. L'Arrêté du 22 juillet 2015 relatif aux bonnes pratiques d'emploi des médicaments des substances antibiotiques conditionne le recours à la métaphylaxie par en médecine vétérinaire une analyse rigoureuse du rapport bénéfice/risque du traitement après examen minutieux du groupe d'animaux, en tenant notamment compte des antécédents de l'élevage en question.

- enfin, des animaux sains peuvent être traités de façon **prophylactique** (ou préventive) lorsqu'ils ont été exposés à un facteur de risque reconnu et ont de ce fait une forte probabilité de développer la maladie à très court terme. Le traitement prophylactique intervient donc avant même l'expression de la maladie. Une réflexion approfondie est actuellement menée sur la limitation de ce mode d'usage, de sorte qu'il ne se substitue en aucun cas à une indispensable maîtrise sanitaire. (100) A titre d'exemple, une prophylaxie est systématiquement appliquée chez les vaches laitières au moment du tarissement, facteur de risque reconnu d'infections mammaires potentiellement sévères. Il en est de même chez les porcelets à l'époque du sevrage et chez les veaux pendant l'allaitement (période propice aux cas des épisodes de diarrhée invasive).

Dans tous les cas, un animal en bonne santé permet au producteur une meilleure valorisation des aliments consommés, un abatage rapide, et en bout de chaîne une viande estampillée « de qualité », ne représentant a priori aucun risque sanitaire pour le consommateur.

## **Usage zootechnique :**

Le recours aux antibiotiques en tant qu'additifs alimentaires dans les élevages est répandu dans le monde entier, et l'était jusqu'à très récemment en Europe notamment. Ajoutés en petites quantités, les antibiotiques améliorent les performances zootechniques des animaux qui y sont exposés. Les doses utilisées (de l'ordre du mg/kg d'aliment) ne sont ni bactériostatiques ni bactéricides au regard de celles utilisées à visée curative (centaines de mg/kg). Le mécanisme précis de ces effets zootechniques n'est à ce jour pas formellement identifié. Néanmoins, beaucoup de travaux mettent en avant des modifications des relations symbiotiques de la microflore avec l'animal hôte. (101)

Les antibiotiques réduiraient certains effets nutritionnels néfastes de la flore bactérienne pour l'animal. Le catabolisme bactérien de l'urée (très coûteux en énergie pour l'animal et servant à la détoxification) se retrouverait inhibé (102) tout comme celui des acides aminés, permettant *in fine* une épargne relative et une amélioration de la rétention azotée. (103) (104) (105) L'efficacité alimentaire est renforcée, permettant ainsi une augmentation de la vitesse de croissance au profit de l'animal. Il



faut donc moins d'aliments pour produire autant de viande, et moins de temps consacré à l'élevage d'un troupeau.

## **I.4.2. Contexte légal et normatif**

Une enquête menée auprès des 130 pays membres de l'OIE (World Organisation for Animal Health) révèle que 110 pays n'ont pas encore de législation clairement établie en ce qui concerne l'importation, la fabrication, la distribution et l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire. Par conséquent, ces derniers circulent librement comme des biens de consommations ordinaires, et leur usage n'est pas contrôlé... (106)

### ***A Madagascar***

A Madagascar, l'accès aux médicaments vétérinaires est « officiellement » réglementé. Cela s'avère quelque-peu différent en pratique.

#### ***Droit de Prescription***

La prescription doit obligatoirement être réalisée sous la responsabilité d'un vétérinaire inscrit au tableau de l'ordre National des Docteurs Vétérinaires Malgaches (ONDVM) pour le secteur privé, ou à la direction des services vétérinaires (DSV) en ce qui concerne le secteur public. En 2012, on estimait à 200 le nombre de vétérinaires du secteur privé en activité, soit une moyenne d'un vétérinaire pour 10.000 exploitations. On constate une répartition inégale de l'ensemble du corps vétérinaire sur le territoire, la majorité se regroupant en cabinets privés aux alentours des principales agglomérations. Les élevages les plus reculés sont lésés par cette inégalité de répartition, et ne peuvent bénéficier d'un suivi sanitaire. Pour pallier à ces difficultés et répondre à court terme à cet objectif de proximité, des organisations paysannes (OP) se mettent en place. Il s'agit le plus souvent de villageois sélectionnés et formés par

les services de l'état, afin de répondre sur place aux besoins de santé les plus urgents : soins curatifs urgents, programmes de vaccination, surveillance épidémiologique ...)

### ***Délivrance***

Aucune règle n'est imposée sur la délivrance des médicaments. De ce fait les vendeurs opèrent librement, généralement sans ordonnance et sans avoir vu les animaux à traiter. Il faut noter que les éleveurs sont souvent amenés à traiter eux-mêmes leurs animaux, lorsque les techniciens vétérinaires ne peuvent se déplacer ou lorsque leur prestation est trop coûteuse. Le libre accès à des médicaments à bas prix disponibles dans les centres urbains tend à favoriser le développement de pratiques déraisonnées en matière d'antibiothérapie ...

En 2014, une étude effectuée par la direction du service vétérinaire (DSV) du ministère de l'Elevage a révélé que 37% des viandes contrôlées sur le marché de la capitale contenaient des résidus d'antibiotiques en quantité significative. (107) Les prévalences étaient d'autant plus importantes en province par rapport à Tananarive (42.4%) ce qui suggère un recours aux antibiotiques plus répandu dans les élevages les plus éloignés (et donc moins contrôlés). Toutes les principales classes d'antibiotiques d'usage courant en médecine vétérinaire seraient concernées. (108) L'hypothèse d'une utilisation détournée des antibiotiques à visée zootechnique apparaît donc probable, en sus de son indication première.

Des contrôles de bonnes pratiques peuvent être réalisés par les Services Officiels Vétérinaires, lesquels sont autorisés à inspecter les exploitations et à pénaliser si une non-conformité était constatée. Ces contrôles sont en réalité très rares. En résulte un global manque de sensibilisation des éleveurs quant aux potentiels risques liés à une mauvaise utilisation des antibiotiques...

## ***A Mayotte et en France***

Département français à part entière depuis 2009, Mayotte est concernée au même titre que la Réunion par la législation nationale en matière de médecine vétérinaire. Il

convient toutefois de préciser que le contexte local de la réalité de son application n'a pas été évalué.

### ***Droit de prescription :***

L'usage en général de traitements médicamenteux (dont traitement antibiotiques) sur les animaux d'élevage est autorisé (109), mais est soumis à certaines règles...

Seul un vétérinaire diplômé et inscrit à l'Ordre des vétérinaires est autorisé à prescrire des médicaments vétérinaires. (110) Ce dernier est libre dans l'exercice de ses activités de traitement et de prescription, mais « dans les limites posées par la loi et dans le respect Code la santé publique ». (111) Sa prescription doit non seulement prendre en compte la santé de l'animal, mais aussi les considérations économiques de propriétaire. Elle implique donc un examen clinique rigoureux de l'animal considéré. La prescription doit être accompagnée d'une ordonnance, permettant la délivrance des médicaments par un ayant droit et garantissant la traçabilité du traitement administré. (112) La prescription doit cibler en priorité un médicament « autorisé pour l'animal de l'espèce considérée et pour l'indication thérapeutique visée ». (113) Si aucun médicament correspondant aux conditions sus-citées n'est disponible, le vétérinaire s'attachera alors à respecter le dispositif « de la cascade » dans le choix d'un médicament alternatif.

### ***Cas particulier des animaux de rente :***

Dans le cas d'animaux d'élevage, des spécificités s'appliquent...

Le vétérinaire est le plus souvent salarié au sein d'un groupement d'éleveurs pour lequel il officie. Il n'est alors autorisé à délivrer des médicaments qu'aux membres du groupement uniquement. La prescription s'inscrit dans un programme global de « surveillance sanitaire » de l'élevage. (114) Il s'agit d'un ensemble d'interventions programmées selon un calendrier préétabli, et adaptées aux dominantes pathologiques spécifiques de l'élevage surveillé.

La liberté de principe du vétérinaire quant au choix du traitement est plus encadrée lorsqu'il est assigné à des animaux dont la chair ou les produits sont destinés à la consommation humaine. Les substances pharmacologiquement actives (et notamment antibiotiques) qu'il contient doivent être autorisées au niveau européen (115) garantissant leur innocuité à la fois vis-à-vis de l'animal et du consommateur.

L'existence d'une LMR (limite maximale de résidus) doit être évoquée, renforçant la nécessité d'un respect rigoureux des conditions d'administration du traitement à

l'animal. La LMR correspond à la teneur maximale de résidu acceptable dans les denrées alimentaires provenant d'animaux qui ont été traités. Des seuils spécifiques sont proposés par le Comité du Médicament Vétérinaire (CVMP) pour chaque molécule, espèce animale et voie d'administration, puis publiés au Journal Officiel Européen.

### ***Promoteurs de croissance :***

Jusqu'en 2006, l'usage d'antibiotiques en tant qu'additifs était autorisé dans l'Union Européenne. Leurs modalités d'emploi étaient encadrées sous la forme d'une liste positive. (116) (117) Ces pratiques étaient alors largement répandues : on estime qu'elles concernaient en France en 1998 de façon quasi-systématisées les porcelets (98%) et dindons (96%), et de façon largement majoritaire pintades (81%), porcs (70%) et poulets de chair (68%). Les poules (20%) et bovins (28%) étaient moins concernés. (118)

En 1981 la Suède se prononce en faveur d'un usage restrictif des antibiotiques en tant qu'additif, avant de les interdire complètement au 1er janvier 1986 et engage une réflexion générale sur l'intérêt de leur maintien dans leurs usages les moins vitaux. (119) En 1999, la réglementation européenne commence à suivre l'exemple suédois et réduit à quatre le nombre d'antibiotiques autorisés à des fins de croissance en production animale. Cette interdiction partielle a été considérée comme le premier pas mené dans la lutte contre l'usage déraisonné des antibiotiques dans l'agriculture. Les effets sont immédiats : en 2001, la Fédération Européenne pour la Santé de l'Animal enregistre une diminution de 50% de la quantité d'antibiotiques toujours utilisés à des fins d'élevage dans l'UE par rapport à 1997. (120)

Il faudra attendre le 1er janvier 2006 pour que l'UE interdise formellement l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance dans les aliments pour animaux. L'addition d'antibiotiques dans les aliments pour animaux n'est dorénavant envisagée qu'à des fins thérapeutiques ...

## **I.4.3. Quels antibiotiques en pratique ?**

### ***A Madagascar***

Il est difficile de connaître précisément les quantités d'antibiotiques importées sur la grande île, ainsi que leur provenance. Il apparaît qu'environ deux tiers des molécules disponibles proviendraient d'Inde et d'Asie, et un tiers d'Europe (France et Hollande principalement). (121) La distribution s'opère via des fournisseurs spécialisés basés dans les grandes agglomérations. Deux grandes classes de molécules seraient principalement utilisées : les tétracyclines et les bêta-lactamines (avec une place toute particulière des pénicillines). Les pénicillines sont en effet très largement utilisées à Madagascar et plus largement dans les pays en voie de développement du fait de leur faible coût et de leur disponibilité aisée dans les systèmes de vente en produits pharmaceutiques. Leurs indications étant au demeurant assez larges, cela suffit à en faire des antibiotiques de recours très fréquent à la différence de ce qui est observé en France notamment. Ces pénicillines sont souvent co-administrées (streptomycine en injection par exemple) pour élargir au maximum leur spectre d'action, d'autant plus lorsque l'identité microbiologique de l'infection s'avère incertaine, en l'absence de présence vétérinaire suffisante.

### ***A Mayotte et en France***

La filière animale française est encore très consommatrice de molécules antibiotiques. Même si cette tendance s'inscrit à la baisse, il apparaît en 2017 que la majorité des antibiotiques produits en France le seraient encore à visée vétérinaire. (717 tonnes allouées à la médecine humaine versus 761 pour la médecine vétérinaire). (122)

De façon générale, la majorité des familles antibiotiques sont partagées par les deux médecines. Selon l'AFFSA ANMV et l'AFSSAPS, 64% des classes d'antibiotiques ayant une AMM en médecine humaine en France en ont également une en médecine vétérinaire. Cependant, quelques spécificités existent. (123)

Classes d'antibiotiques	Comparatif des principales spécialités antibiotiques approuvées en France	
	Médecine humaine	Médecine vétérinaire
Aminoglycosides	oui	oui
<b>β-Lactamines :</b>		
- pénicilline G	oui	oui
- pénicilline V	oui	oui
- pénicilline M	oui	oui
- pénicilline A	oui	oui
- carboxypénicillines	oui	<b>non</b>
- uréidopénicillines	oui	<b>non</b>
- C1G	oui	oui
- C2G	oui	oui
- C3G	oui	oui
- C4G	oui	oui
- C5G	oui	<b>non</b>
- monobactames	oui	<b>non</b>
- carbapénèmes	oui	<b>non</b>
Fluoroquinolones	oui	oui
<b>MLSK :</b>		
- macrolides	oui	oui
- lincosamides	oui	oui
- streptogramines	oui	<b>non</b>
- pleuromutilines	<b>non</b>	oui
- kétolides	oui	<b>non</b>
Nitrofuranes	oui	oui
Polymixines	oui	oui
Sulfonamides	oui	oui
Tétracyclines	oui	oui
Glycylcyclines	oui	<b>non</b>
Trimethoprime	oui	oui
Glycopeptides	oui	<b>non</b>
Imidazolés	oui	oui
Anti-tuberculeux	oui	oui (rifamycine)
Acide fusidique	oui	oui
Bacitracine	oui	oui
Dapsone	oui	<b>non</b>
Daptomycine	oui	<b>non</b>
Fosfomycine	oui	<b>non</b>
Novobiocine	<b>non</b>	oui
Mupirocine	oui	<b>non</b>
Linézolide	oui	<b>non</b>
Thiostrepton	<b>non</b>	oui

Figure 8 - Tableau comparatif des classes d'antibiotiques autorisées à ce jour en médecine humaine et vétérinaire en France (d'après Moulin et al.) (124)

Seule la sous-famille des pleuromutilines (apparentées aux macrolides) apparaît spécifique à la médecine vétérinaire, avec notamment la fumagiline, la novobiocine et le thiostrepton. (125)

Au sein des familles d'antibiotiques autorisées pour les deux filières, certaines spécialités dites « d'importance critique » sont exclusivement réservées à l'usage humain. Leur utilisation est de fait interdite en médecine vétérinaire française. (126) A l'inverse, les molécules qui sont autorisées chez l'animal sont déclinées en un nombre de spécialités volontairement restreint afin d'en réduire les possibilités d'usage et d'éviter, *in fine*, une diffusion inter-filière des mécanismes de résistance qui s'y rapporteraient.

<b>Classes d'antibiotiques autorisées dans les deux filières</b>	<b>Spécialités interdites chez l'animal</b>
<b>C3G</b>	Ceftriaxone Céfixime Cefpodoxime Céfotiam Céfotaxime Ceftazidime
<b>C4G</b>	Céfépime Cefpirome
<b>Fluoroquinolones</b>	Lévofloxacine Loméfloxacine Péfloxacine Moxifloxacine Enoxacine
<b>Antituberculeux</b>	Rifampicine Rifabutine Capréomycine Isoniazide Ethionamide Pyrazinamide Ethambutol Clofazimine

**Figure 9 - Extrait des spécialités d'utilisation interdite en médecine vétérinaire en France. (d'après Moulin et al.) (124)**

De façon pratique, la filière animale française se caractérise par un recours préférentiel aux molécules antibiotiques anciennes, et s'avérant au demeurant les moins coûteuses. (127) Pour exemple, les tétracyclines représentaient en 2017 près de 38% du tonnage total d'antibiotiques de production française et à destinée animale. De la même façon, la majeure partie de la colistine et de l'association triméthoprim/sulfaméthoxazole produites l'étaient à visée animale. (124)

Afin de rendre compte des pratiques spécifiques relatives à chaque filière d'élevage, un état des lieux de l'utilisation des antibiotiques a été réalisé par les principaux représentant des Groupements Techniques Vétérinaires et la Société Française de

Buiatrie. Un bref résumé des pratiques observées par élevage et par catégorie d'individu apparaît nécessaire pour nous permettre de mieux appréhender les résultats observés dans la suite de notre travail. Un parallèle avec les ALEA (Animal Level of Exposure to Antimicrobials) par molécule pour l'année 2017 en France a été effectué pour mettre en exergue les principales classes thérapeutiques utilisées pour chaque filière animale, hors colistine. (98)

### **Bovins**

	<b>Infection fréquente / à redouter :</b>	<b>Traitement :</b>
<b>Nouveau-nés</b>	Entérite néonale à <i>Escherichia coli</i>	Amoxicilline + acide clavulanique ou colistine Si grave : C3G ou fluoroquinolone
<b>Veaux</b>	Pneumopathie à <i>Mannheimia haemolytica</i> (pasteurelle commensale de la muqueuse respiratoire des bovidés).	Fluoroquinolones ou macrolides Si grave : florfénicol (phénicolé à large spectre) car nécessite une fenêtre avant commercialisation
<b>Laitières</b>	Mammite infectieuse (fréquent +++)	Association tétracyclines-néomycine-bacitracine par voie intra-mammaire
	Tarissement (fréquent +++ traitement préventif)	Pénicillines ou céphalosporines par voie intra-mammaire (temps d'attente nul pour le lait)
<b>Bœufs adultes</b>	Panaris du pied	Tétracyclines

Selon l'ANSES, les bovins étaient en 2017 majoritairement traités par **tétracyclines**, pénicillines et aminoglycosides. (hors colistine)

### **Porcins**

	<b>Infection fréquente / à redouter :</b>	<b>Traitement :</b>
<b>Truies</b>	Cystite et métrite infectieuses (périodes de saillie et de gestation) (fréquent +++)	Tétracyclines ou sulfamides-triméthoprime ou bêta-lactamines (PO)
<b>Porcelets</b>	Diarrhée infectieuse lors du sevrage <i>NB : Lawsonia intracellularis</i> doit être systématiquement pris en compte (intracellulaire des cryptes intestinales à haut potentiel pathogène)	Associations colistine-tétracyclines ou colistine-macrolides (traitement systématique à visée préventive sous forme de pré-mélange, avec action intracellulaire nécessaire)
	Infection invasive à <i>Streptococcus suis</i>	Amoxicilline
<b>Porcs</b>	Infections respiratoires (rares)	Tétracyclines ou Amoxicilline (IM)

Les **tétracyclines** et pénicillines apparaissent comme les molécules les plus fréquemment utilisées dans le traitement des porcs français en 2017 (hors colistine)



## Volailles

	Infection fréquente / à redouter :	Traitement :
<b>Poussin</b>	Entérite nécrosante	Macrolides
<b>Poulets de chair</b>	Non traités (durée de vie courte, ne le justifiant pas)	
<b>Poules pondeuses</b>	Si possible : aucun traitement Entérite ou complication infectieuse post-virale	Tétracyclines ou colistine (délai d'attente avant commercialisation des oeufs : nul)

Pour les volailles, polypeptides, **tétracyclines** et pénicillines arrivent en tête des molécules les plus utilisées en 2017 en France (hors colistine)

## Cas de la colistine en médecine vétérinaire

La part de la colistine dans l'exposition totale aux antibiotiques des animaux d'élevage (à visée curative et prophylactique notamment) varie aussi selon les espèces. Selon l'ANSES, les élevages les plus concernés en France en 2014-2015 étaient les volailles (40% de l'ALEA total) contre 28% pour les porcs et 7% pour les bovins. Administrable par voie orale sous forme de prémélange médicamenteux, poudre pour aliments ou eau d'abreuvement, la colistine s'avère être un antibiotique particulièrement commode à l'usage en pratique vétérinaire. Faiblement absorbée au niveau du tractus gastro-intestinal, elle remplit aisément son rôle en cas de diarrhées infectieuses colibacillaires. Son élimination se faisant presque exclusivement par voie fécale, les temps d'attente avant commercialisation s'avèrent très courts. (128)

Espèce traitée :	Temps d'attente :
<b>Volailles :</b>	Viande et abats : 1 jour Œufs : 0 jour
<b>Veaux et porcins :</b>	Viande et abats : 1 jour

Figure 10 - Temps d'attente applicables en cas de traitement à la colistine chez l'animal de rente. (d'après les RCP de l'ANSES applicables pour la spécialité COLIVET)

## **I.4.4. Guides de bon usage et indicateurs**

### ***Guides de bon usage***

De nombreux guides de bon usage des antibiotiques en médecine vétérinaire ont été établis au niveau national et international. Ces derniers ont en commun d'exhorter à la nécessité d'un usage raisonné de ces molécules, et détaillent les responsabilités inhérentes aux éleveurs, vétérinaires, industriels ainsi que les institutions faisant autorités dans les pays ou régions concernées.

Au niveau international, le Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods (CCRVDF) (ou Code d'usage visant à réduire au minimum et à maîtriser la résistance aux antimicrobiens) fait office de référence pour de nombreux pays. Disponible en 6 langues et édité par la FAO et l'OMS, il fournit des recommandations générales destinées à prévenir ou réduire la sélection de micro-organismes résistants chez les humains et les animaux. Il fournit aussi des indications quant à la notion de LMR s'appliquant aux animaux destinés à la consommation. (129)

L'on peut aussi citer le rapport « Responsible and Prudent use of Antimicrobial agents in Veterinary Medicine » publié en 2001 par l'OIE et mis à jour en 2017 qui constitue une base documentaire de référence au moins équivalente à celle du CCRVDF. (130)

Au niveau national, le Guide de bonnes pratiques de l'antibiothérapie vétérinaire à l'usage des vétérinaires édité par la SNGTV (Société Nationale des Groupements Techniques Vétérinaires) constitue la base de la promotion d'une prescription et une utilisation raisonnée de l'antibiothérapie vétérinaire en France. Elaboré en prenant en compte les principales recommandations internationales (Codex Alimentarius, OIE9), il y intègre les spécificités de la réglementation nationale, et notamment en matière de prescription. (131)

# Indicateurs

Pour vérifier l'application de ces mesures de bon usage, des indicateurs ont été développés spécifiquement dans le monde animal. Ces outils permettent de rendre compte de façon objective et mesurable l'évolution des pratiques en matière d'antibiothérapie vétérinaire. Etant donné l'absence de données existant à ce sujet à Madagascar, nous nous attacherons uniquement à décrire les principaux indicateurs actuellement en place sur le territoire français.

A l'instar de ce qui est actuellement réalisé en médecine humaine, un suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques a été mis en place en France depuis 1999. Il s'agit d'un **indicateur de consommation**. Ce suivi est réalisé en collaboration avec le Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire (SIMV) et se base sur une déclaration annuelle des ventes par les laboratoires qui les commercialisent, par espèce de destination.

Les volumes de vente d'antibiotiques ne peuvent toutefois pas à eux seuls être le reflet direct de leur utilisation réelle et du niveau d'exposition appliqué aux animaux. Les antibiotiques les plus récents (et donc les plus efficaces) nécessitant une posologie moindre, une diminution du volume leur ventes ne traduira pas forcément une diminution de leur utilisation. (132) Il est ainsi apparu nécessaire de prendre en compte d'autres informations, et en particulier la posologie, la durée d'administration et l'évolution de la population animale au cours du temps. L'ALEA (*Animal Level of Exposure to Antimicrobials*) s'envisage ainsi comme **indicateur d'exposition**, marqueur le plus adapté pour estimer le niveau d'exposition des animaux aux antibiotiques.

Des **objectifs chiffrés** sont fixés : le plan national EcoAntibio mis en place en médecine vétérinaire en 2012 visait une réduction de 25 % de l'usage des antibiotiques (toutes familles confondues) sur 5 ans. Reconduit en 2017, ce nouveau plan insiste désormais préférentiellement sur la nécessité d'inscrire dans la durée les réductions observées, en favorisant notamment l'accès aux alternatives aux antibiotiques.

Une **surveillance de l'antibiorésistance** des bactéries d'origine animale est réalisée grâce au support du réseau RESAPATH. Initialement créé pour les bovins en 2001,

RESAPATH s'est progressivement étendu aux principales autres filières animales d'élevage. Il s'agit d'un réseau de surveillance « évènementielle » : des laboratoires d'analyses vétérinaires transmettent sur la base du volontariat leurs analyses en matière d'antibiorésistance (antibiogrammes, taux de résistance par espèce et par molécule antibiotique). Ces dernières peuvent alors être comparées à ce qui est retrouvé chez l'Homme, dans le cadre de l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA).

Au travers de cette mise en commun permanente, la détection d'éventuels phénomènes émergents d'antibiorésistance devient possible.

En 2017, 71 laboratoires vétérinaires étaient adhérents au réseau RESAPATH, avec une répartition toutefois strictement cantonnée au territoire métropolitain. Les régions d'Outre-Mer dont La Réunion et Mayotte n'en faisaient pas partie.

## II. Objectifs

Nous nous sommes proposés de continuer le travail initié en 2016 par Ramin-Mangata et *al.* (57) et nous sommes intéressés à deux autres îles de l'océan indien, voisines de la Réunion et nouant avec cette dernière des liens étroits : Madagascar et Mayotte.

Suivant la même méthodologie, l'objectif principal de ce travail était d'évaluer le **niveau de portage en E-BLSE** au sein des trois principales filières d'élevage en place dans ces deux îles (bovine, porcine et avicole).

L'**analyse génotypique** des souches ainsi collectées a été réalisée, nous permettant **dans un second temps** d'apprécier la répartition enzymatique des BLSE y circulant, et rendant dès lors possible une mise en perspective avec ce qui est retrouvé dans la littérature dans le reste du monde.

Enfin, nous avons tenté de dresser le **profil phénotypique** des souches d'E-BLSE (co-résistances) afin de le confronter aux pratiques décrites en matière d'antibiothérapie vétérinaire dans ces deux territoires. Une attention particulière a été portée à la prévalence des entérobactéries présentant une résistance plasmidique aux polymyxines (MCR-1), compte-tenu du caractère émergent de ce mécanisme de résistance.

# III. Matériels et Méthodes

L'objectif principal de ce travail était d'estimer la prévalence des E-BLSE au sein des élevages de rente malgaches et mahorais (bovins, volailles et porcins).

Les objectifs secondaires consistaient en une caractérisation génotypique puis phénotypique des souches d'E-BLSE ainsi isolées (co-résistances).

## III.2. Analytique

### III.2.1 Population : élevages sondés

La collecte des échantillons a été confiée aux équipes vétérinaires du CIRAD de l'île de la Réunion, au cours de deux missions de prélèvement spécifiquement dédiées.

#### ***Madagascar***

A Madagascar, la mission collecte s'est échelonnée sur une période de 12 jours. Etant donné l'étendue de ce vaste territoire, la zone des hauts plateaux du centre de l'île (à proximité des agglomérations d'Antananarivo et d'Antsirabe) a concentré l'essentiel des prélèvements réalisés.

31 fermes **bovines** ont été sondées entre le 7 et le 11 novembre 2016, et se trouvaient en périphérie d'Antsirabe pour la plupart. Les dérivés du lait sont la branche d'activité qui connaît actuellement le plus grand développement dans la région, permettant l'installation de vastes unités de transformation à proximité. (133) Avec une moyenne de 24 têtes par ferme, notons qu'il s'agissait pour la plupart d'exploitations modestes, regroupées en coopératives paysannes. (min : 3, max : 318, médiane : 7).

La collecte des fermes **avicoles** (n=30) s'est déroulée entre le 10 et le 15 novembre 2016. Les exploitations visitées étaient situées en périphérie de la capitale nationale Antananarivo, là où la demande en viande et en œufs est la plus forte. Elles répondaient ainsi pour la majorité à une logique d'élevage de type industriel, au sein de poulaillers clos faisant l'objet d'un management rationalisé. On dénombrait en moyenne 402 individus par exploitation. (min : 15, max : 1500, médiane : 250).

Enfin, 30 élevages **porcins** ont été sondés entre le 4 et le 16 novembre 2016. De la même façon que pour les volailles, les porcheries visitées se concentraient en proche banlieue d'Antananarivo, puisque s'y établissent la majorité des centres d'abattage dédiés. Cette filière frappe par la diversité de tailles des exploitations rencontrées (allant de la ferme particulière avec une gestion intra-familiale des animaux, jusqu'à la porcherie industrielle). On observait à ce titre une moyenne de 85 têtes par exploitant, mais avec des disparités dans la distribution des effectifs (min : 5, max : 312, médiane : 26).



Figure 11 - Répartition des élevages sondés à Madagascar



# Mayotte

A Mayotte, le sondage des élevages a d'abord intéressé la filière bovine (19 exploitations visitées entre le 26 et le 30 septembre 2016), pour se terminer par la filière avicole (23 exploitations, du 04 au 07 octobre 2016). A noter qu'il n'existe pas de filière porcine sur l'île du fait de raisons confessionnelles : 95 % des Mahorais sont d'obédience musulmane et de rite sunnite. Aucun prélèvement d'élevage de porcs n'a donc été pratiqué. (134)

Les fermes **bovines** visitées étaient majoritairement de type semi-traditionnel puisqu'on dénombrait en moyenne 24 têtes par exploitation, [min : 5 ; max : 70 ; médiane : 18]. Elles étaient pour la plupart localisées au sein de vastes étendues de steppes s'étendant entre les communes de Bandraboua au nord, jusqu'aux collines d'Ouangani au centre.

Les fermes **avicoles** se répartissaient quant à elles plus volontiers sur l'ensemble de l'île, et le plus souvent à proximité immédiate des grandes agglomérations. Il s'agissait d'exploitations à haut volume de rendement, avec une moyenne de 1543 têtes par ferme. [min : 178 ; max : 5000 ; médiane : 1462]. Les pratiques observées relevaient de process industriel, avec les contraintes sanitaires s'y rattachant.

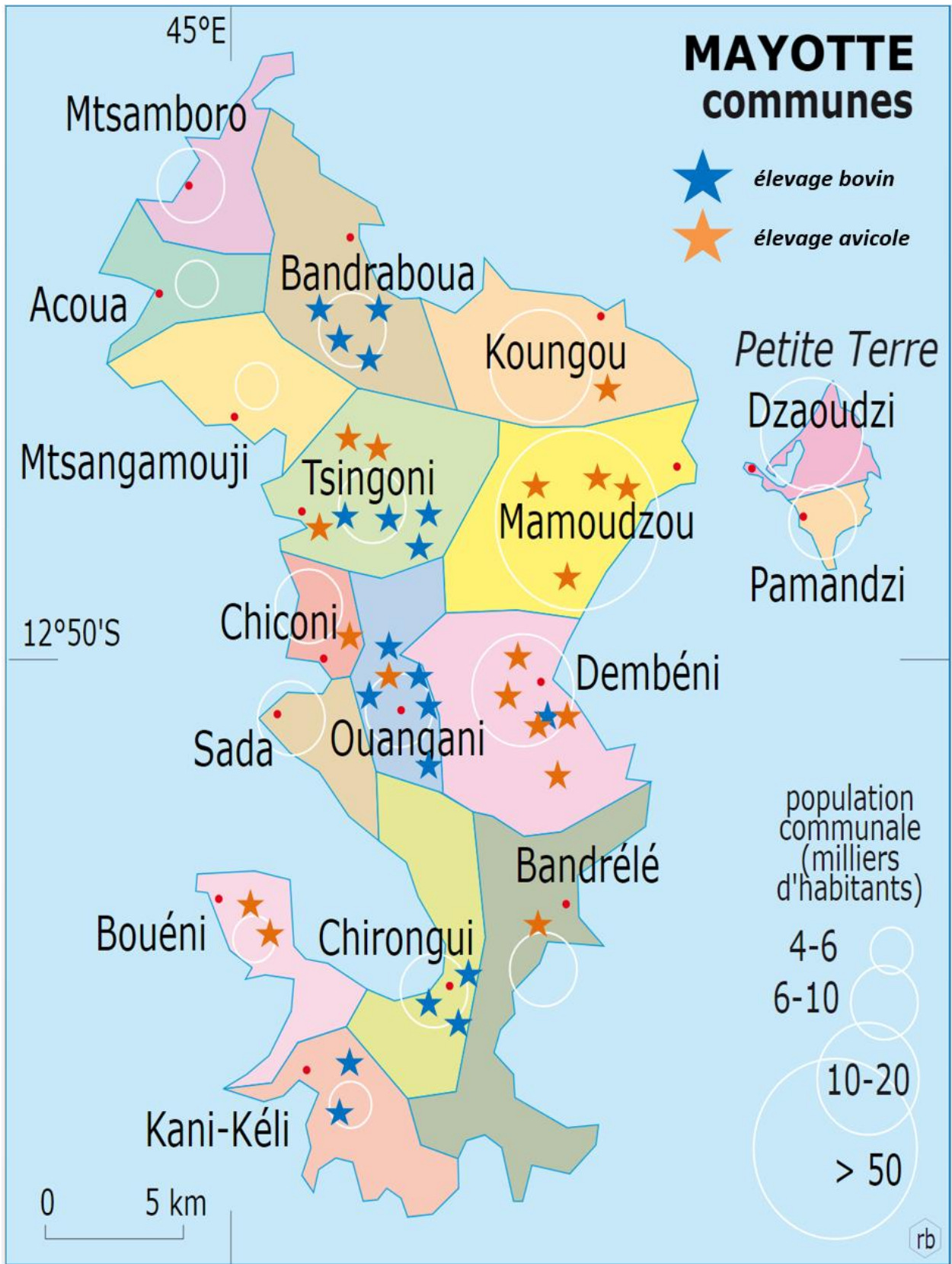


Figure 12 - Répartition des élevages sondés à Mayotte

## III.2.2. Conditionnement des échantillons

Le sondage des fermes s'est effectué par prélèvement « sous le pied » au moyen de pédichiffonnettes individuelles de type Sterisox®. Ces sur-chaussures stériles en coton tissé absorbant permettent de prospecter facilement de larges surfaces tout en assurant une collecte de matière suffisante pour l'exploitation bactériologique en découlant. Chaque paire devait couvrir au moins 50% de l'élevage considéré, avec un soin particulier dédié au passage sur les zones fraîchement souillées et/ou recevant de fortes densités d'animaux.

Un suremballage hermétique de type sac déchirable à refermeture par lien métallique était alloué à chaque pédichiffonnette ainsi prélevée, garantissant l'étanchéité des échantillons. L'identification complète des prélèvements était systématiquement réalisée, garantissant leur traçabilité et la fiabilité des résultats à émettre. Elle incluait notamment : le nom de l'éleveur, le numéro interne de l'élevage, le type d'animal associé, la date de prélèvement et le nom du préleveur.



**Figure 13 – Pédichiffonnettes**

(images d'illustration: <https://cbioclean.fr/chiffonnette/47-kit-pedichiffonnette.html>)

L'ensemble des pédichiffonnettes a été rapatrié de façon groupée au laboratoire de microbiologie du CHU Félix Guyon par convoi aérien pour exploitation analytique immédiate. Le transport en sac isotherme avec pain de glace garantissait un maintien en température basse des échantillons le temps du voyage (1h35 pour Madagascar et 2h10 pour Mayotte). A réception au laboratoire d'arrivée, les échantillons étaient

conservés à -20°C avant décongélation sélective en vue de la poursuite des investigations analytiques. Un soin particulier était apporté au maintien des échantillons en température négative au laboratoire afin de garantir la viabilité des éventuels micro-organismes d'intérêt. *In fine* et pour chaque collecte considérée, un délai inférieur à 10 semaines s'est écoulé entre la date de prélèvement et la clôture de l'expertise analytique.

### **III.2.3. Approbation et éthique**

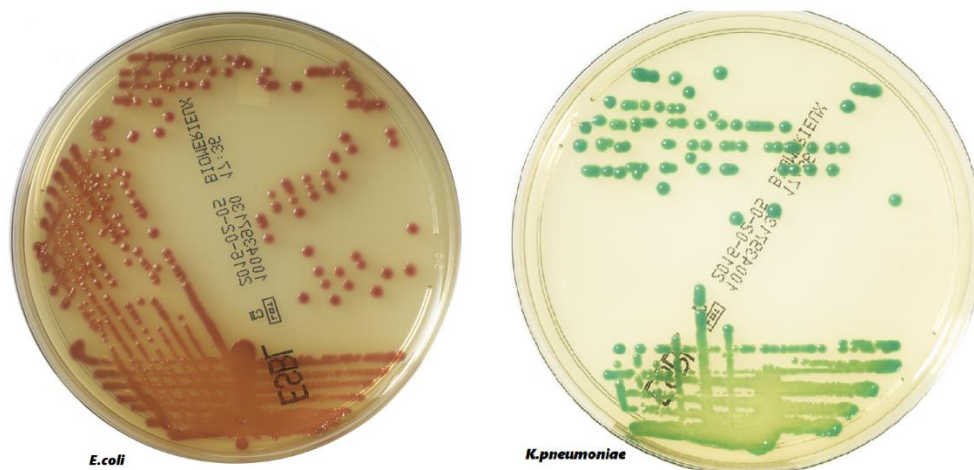
Le prélèvement par pédichiffonnettes étant de type non-invasif, il n'a pas été nécessaire de recueillir d'approbation éthique.

### **III.2.4. Enrichissement et isolement des colonies suspectes de BLSE**

Après décongélation lente, chaque pédichiffonnette était unitairement incubée dans un bouillon d'enrichissement (100mL d'eau stérile+ 2mL de bouillon infusion coeur cerveau (BioRad) pendant 20±4h à température ambiante. Notons que cette étape d'enrichissement vise à augmenter le seuil de détectabilité d'éventuelles E-BLSE présentes au sein d'une flore communément riche, polymorphe et potentiellement envahissante.

Après homogénéisation par retournement lent, 10µL de la suspension étaient ensemencés en quadrant sur gélose de type ChromID-ESBL (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) et incubés à 35+/-2°C sous atmosphère aérobie, conformément aux recommandations du fournisseur. (135) Cette gélose rendue sélective par l'adjonction d'antibiotiques (dont le cefpodoxime) se prête particulièrement bien à la détection rapide des entérobactéries résistantes aux C3G (dont celles productrices de BLSE), et s'avère d'usage courant au laboratoire dans son activité de routine.

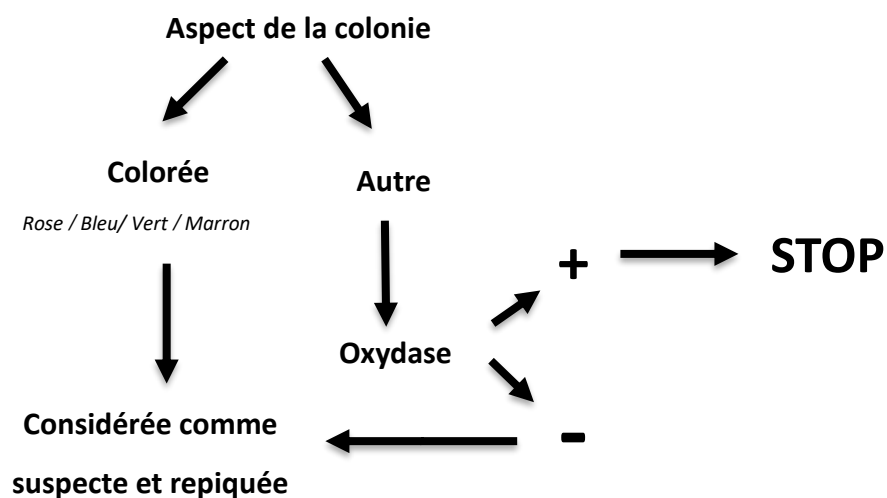
La lecture des cultures était facilitée par une coloration différentielle des colonies suivant leurs capacités métaboliques. Les colonies productrices de  $\beta$ -glucuronidase (dont *E. coli*) apparaissaient rose à bordeaux,  $\beta$ -glucosidase (dont *Klesbiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.* et *Citrobacter sp.*) bleu à vert, et celles à activité déaminase (dont *Providencia sp* et *Morganella sp*) apparaissaient marron.



**Figure 14 - Exemple de cultures positives sur milieu ESBL**

(image d'illustration : <https://www.biomerieux-diagnostics.com/chromidr-esbl>)

Ainsi, les souches présentant une coloration caractéristique étaient d'emblée considérées comme suspectes et repiquées sélectivement pour identification unitaire. Les souches non colorées quant à elles subissaient une recherche complémentaire d'oxydase (Oxydase test, Biorad) : les entérobactéries étant par définition oxydase négative, toutes les souches non colorées et oxydase négative étaient de même catégorisées comme suspectes et repiquées pour identification complémentaire.



**Figure 15 - Gestion des colonies à considérer comme suspectes**

## III.2.5. Identification bactérienne

L'identification des colonies suspectes a été réalisée à l'aide d'un spectromètre de masse MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Breme, Germany) à partir de colonies fraîchement ré-isolées. Les spectres obtenus étaient comparés à la banque de données fournie par le fabricant (Flex Control Software, Bruker Daltonik Microflex), et l'identification assortie d'un score de confiance :

- un score **> 2.00** conférait une identification à l'**espèce**,
- un score compris entre **1.70 et 1.99** conférait une identification au **genre**
- un score **<1.70** empêchait toute identification en l'état de la souche considérée.

Meaning of score value			
Rang	Description	Symbols	Color
2.300...3.000	Highly probable species identification	(+++)	Green
2.000...2.299	Secure genus identification, probable species identification	(++)	Green
1.700...1.999	Probable genus identification	(+)	Yellow
0.000...1.699	Not reliable identification	(-)	Red

Figure 16 - Score de confiance - Maldi-Tof (d'après la notice fournisseur MALDI Biotyper CA System)

Le recours à un ré-isolément et/ou à des techniques complémentaires d'identification (extraction puis ré-identification au Maldi, galerie de type Api20E) étaient alors envisagés.

## III.2.6. Confirmation des E-BLSE et détermination de leur profil phénotypique

Chaque entérobactérie suspecte de produire une BLSE était « antibiogrammée » par méthode de diffusion en gélose, conformément aux recommandations du CA-SFM / EUCAST de 2016.

Une suspension bactérienne en solution salée de turbidimétrie équivalente à 0.5 McFarland était préparée à partir de colonies fraîches grâce au recours au dispositif à usage unique INOCLIC® (I2a Diagnostics) permettant la standardisation de l'inoculum à partir d'une seule colonie. L'ensemencement était réalisé dans les 15 minutes par écouvillonnage sur la totalité d'une gélose de type Mueller Hinton E (bioMérieux) et dans trois directions.

La sensibilité à 15 antibiotiques d'intérêt a été d'emblée évaluée par méthode de diffusion en milieu solide. Il s'agissait d'antibiotiques d'usage commun entre l'homme et l'animal, figurant sur la liste standard du CASFM/EUCAST 2016.

Le dépôt des disques devait être effectué dans les 15 minutes suivant l'inoculation, sans dépasser 30 minutes et l'incubation à  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  en aérobiose pendant 16 à 24 h. Une souche d'*E. coli* ATCC 25922 a été utilisée en tant que contrôle interne de qualité pour garantir la validité des résultats présentés.

Antibiotique	Charge du disque ( $\mu\text{g}$ )
Amoxicilline	20
Amoxicilline/acide clavulanique	20/10
Ticarcilline	75
Cefixime	5
Cefadroxil	30
Ceftazidime	10
Cefotaxime	5
Cefepime	30

Ertapénème	10
Acide nalidixique	30
Ofloxacine	5
Gentamicine	10
Amikacine	30
Triméthopriime/Sulfaméthoxazole	1,25/23,75
Tétracycline	30

**Figure 17 - Liste des antibiotiques testés.**

La lecture des antibiogrammes a été réalisée de façon semi-automatisée grâce au support de l'automate SirScan2000 (i2a), afin de garantir l'objectivité et la traçabilité des mesures des diamètres d'inhibition. La catégorisation des isolats s'est ainsi faite en accord avec les diamètres critiques proposés par la SFM (CASFM-EUCAST 2016) dans le chapitre *Enterobacteriaceae*.

## ***Confirmation des E-BLSE***

D'un point de vue qualitatif, une entérobactérie était considérée comme productrice de BLSE si une synergie dite « en bouchon de champagne » était d'emblée visible à l'antibiogramme entre les disques d'amoxicilline/acide clavulanique (20/10) et au moins une C3G (ceftazidime 10, céfixime 5, céfotaxime 5) ou C4G (céfépime 30).

Dans le cas d'entérobactéries résistantes aux C3G sans synergie visible, une confirmation complémentaire par méthode dite « des disques combinés » (CDT) était réalisée conformément aux recommandations de l'EUCAST. (136)

Le test était considéré positif en cas d'augmentation  $\geq 5$  mm du diamètre d'inhibition d'un disque de céfotaxime 30, ceftazidime 30 et céfépime 30 combinés à l'acide clavulanique 10 comparativement à la zone d'inhibition autour de ces mêmes disques utilisés sans acide clavulanique.

*In fine*, un prélèvement était considéré comme positif lorsque la présence d'au moins une E-BLSE confirmée était retrouvée à la mise en culture. Dans le cas contraire, le prélèvement était étiqueté négatif. La comparaison des niveaux de prévalence en E-BLSE et des co-résistances entre élevages a alors été permise grâce à l'exécution d'un test exact de Fischer, le nombre d'observations supérieur à 30 s'y prêtant bien.



## CMI colistine

La majorité des souches d'E-RPP isolées à ce jour étant également co-productrices de BLSE (67), l'ensemble des E-BLSE confirmées ainsi isolées a bénéficié d'une détermination de sensibilité complémentaire vis à vis de cet antibiotique. Conformément aux recommandations émises par la SFM (CASFM-EUCAST 2016, chapitre *Enterobacteriaceae*, le recours à une méthode par dilution en milieu liquide à été privilégiée. (137)

### E-BLSE des élevages malgaches et mahorais:

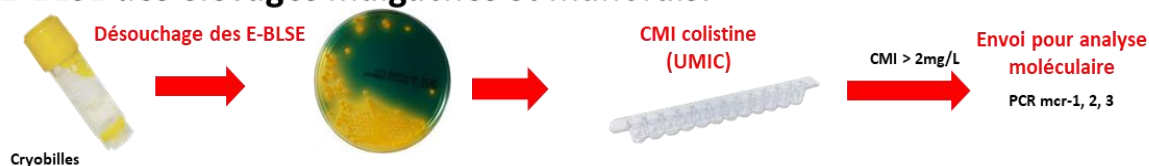


Figure 18 - Réalisation des CMI colistine (UMIC) (illustration personnelle)

Le kit UMIC ® Colistine (Biocentric) a été utilisé dans cette finalité du fait de sa simplicité d'utilisation et de ses bonnes performances (138). Il s'agit d'un test unitaire prêt à l'emploi constitué de barrettes de 12 puits : 1 pour le contrôle de croissance, et 11 contenant l'antibiotique à tester (la colistine dans notre cas) sous forme déshydratée de façon à réaliser une gamme de concentrations croissantes (de 0,25 à 8 mg/L).



Figure 19 - Aspect d'une cupule de CMI liquide (d'après la notice fournisseur : <https://www.biocentric.com/umic>)

Brièvement, une dilution au 200<sup>e</sup> dans un bouillon Mueller-Hinton II était réalisée pour chaque souche d'E-BLSE à partir d'un inoculum de 0,5 mcF issu de colonies fraîchement repiquées. La barrette était inoculée par dispensation à la pipette électrique de 100 µL dans chaque puits. L'ensemble était mis à incuber pendant 18+/-

2h à 35+/-1°C sous atmosphère humide. La lecture du résultat était réalisée de façon visuelle, par identification du premier puits limpide, c'est à dire ne démontrant pas de croissance bactérienne optiquement visible. La valeur du puits alors confrontée à la feuille de résultats fournie dans le kit permet *in fine* de déterminer la CMI de la colistine pour la bactérie testée.

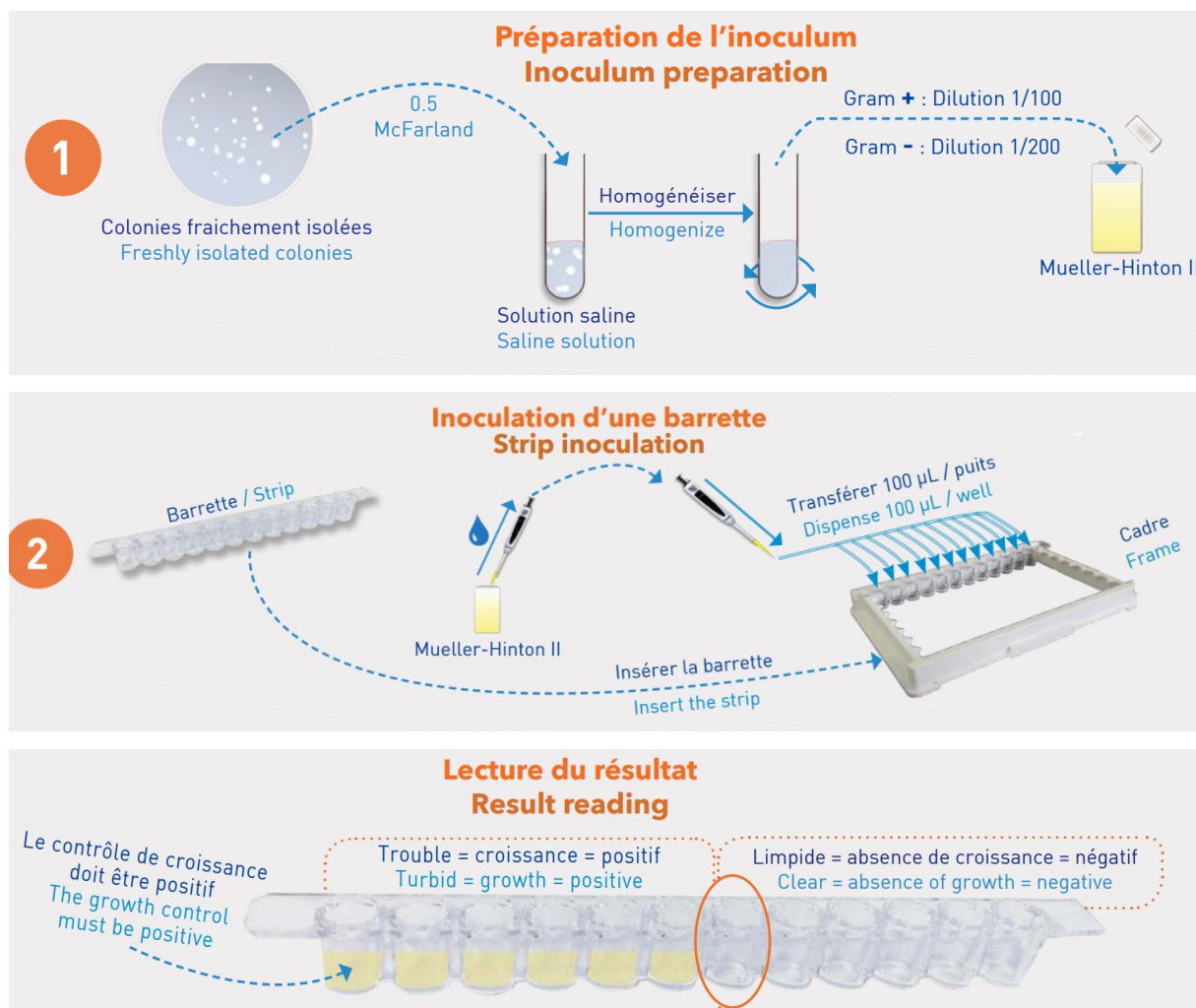


Figure 20 - Extrait de la notice simplifiée de réalisation d'une CMI colistine (UMIC) (<https://www.biocentric.com/umic>)

Une entérobactérie était considérée comme présentant une sensibilité diminuée aux polymyxines si elle démontrait une CMI à la colistine strictement supérieure à 2mg/L, comme précisé dans les recommandations de la SFM (CASFM-EUCAST 2016, chapitre *Enterobacteriaceae*). Un contrôle sur souche *E. coli* ATCC 25922 a été conjointement réalisé aux séries afin de vérifier la validité de nos résultats.

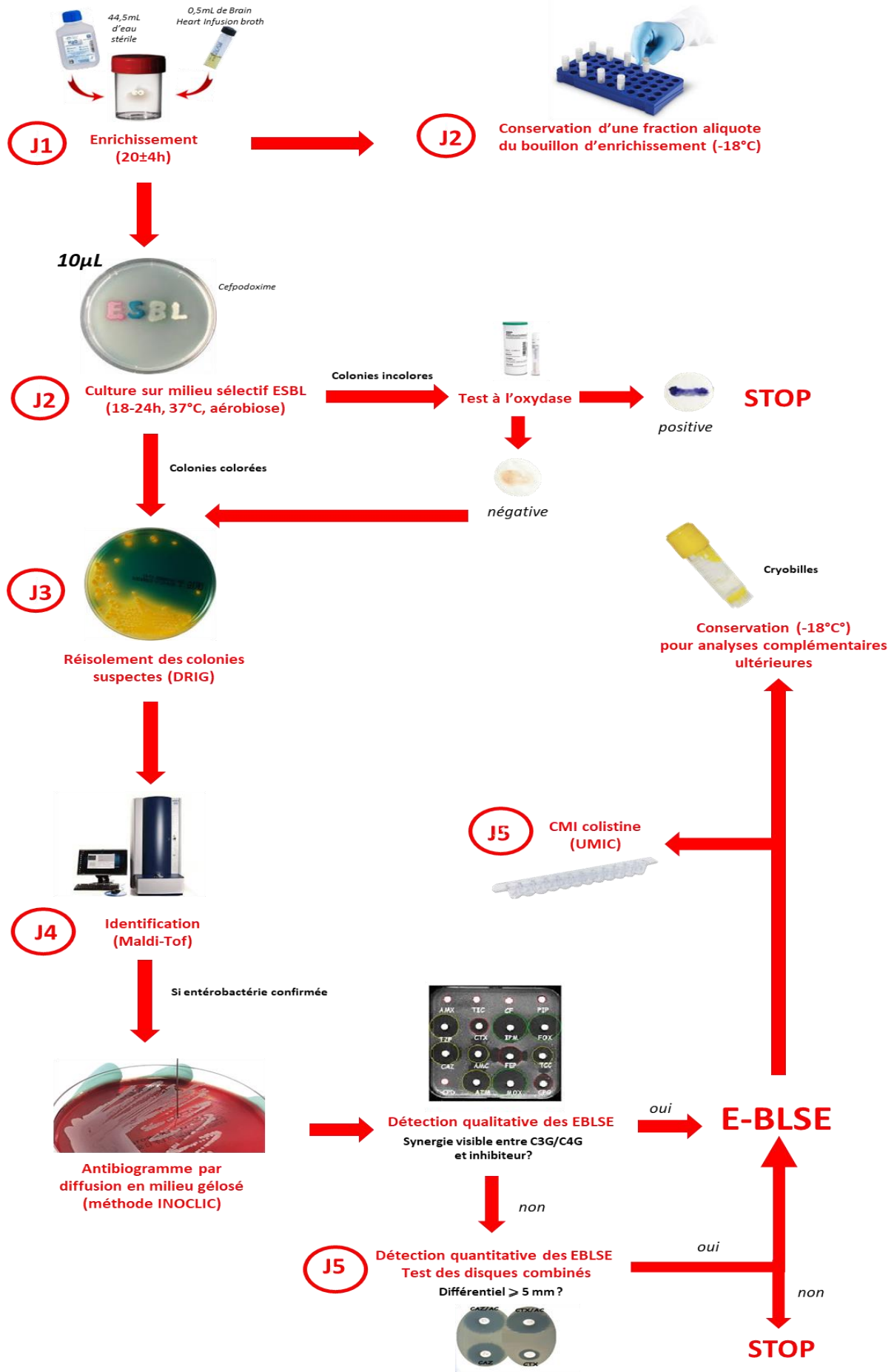


Figure 21 - Prise en charge commune des prélèvements en provenance de Mayotte et Madagascar. (illustration personnelle)

## **Screening complémentaire par gélose**

### **SuperPolymyxine (Madagascar uniquement)**

Pour ne pas méconnaître d'éventuelles souches d'E-RPP non productrices de BLSE, une stratégie complémentaire en deux étapes a été appliquée :

- screening initial par culture sur milieu SuperPolymyxine (ELITech MICROBIO) des entérobactéries présentant une résistance acquise aux polymyxines,
- recherche secondaire des gènes plasmidiques de résistance MCR-1, MCR-2 et MCR-3 par biologie moléculaire sur les souches ainsi isolées.

Seuls les prélèvements malgaches ont bénéficié de ce screening complémentaire par du fait d'une commercialisation récente de ce milieu de culture (postérieure à la campagne de récolte effectuée à Mayotte).

La gélose SuperPolymyxine (ELITech MICROBIO) est rendue sélective pour les BGN grâce à l'adjonction d'éosine/bleu de méthylène (EMB), de daptomycine et d'amphotéricine B. Une supplémentation optimale de 3,5mg/L de colistine assure la détection toutes les souches présentant une sensibilité diminuée aux polymyxines. A la différence des milieux de cultures existants jusqu'alors et contenant de fortes concentrations de colistine (adéquats pour le screening des espèces bactériennes intrinsèquement résistantes aux Polymyxines telles que *Serratia sp.* ou *Burkholderia sp.*), SuperPolymyxine est aussi adaptée au screening des isolats présentant des résistances acquises, à plus faibles niveau. (139) Une orientation quant à l'identification des espèces est possible: *E. coli* présente ainsi une coloration vert-métallisé caractéristique. Les bactéries fermentant le lactose donnent des colonies bleu foncé, et celles ne le fermentant pas des colonies incolores ou mauve.

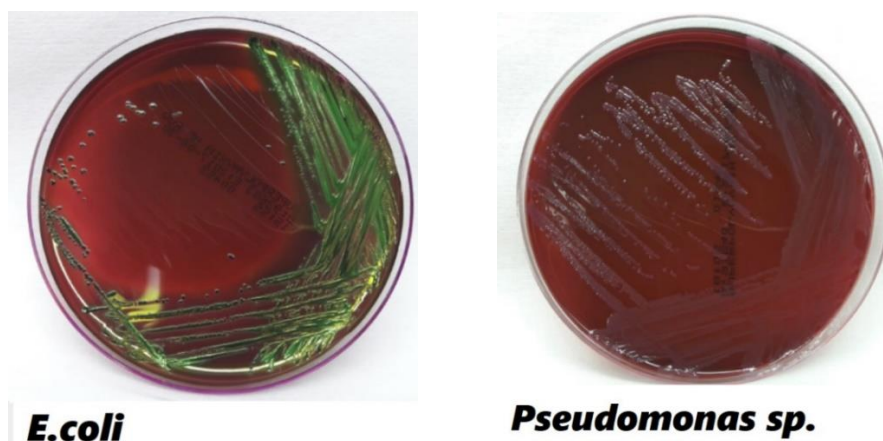


Figure 22 - Aspect des colonies d'*E. coli* et de *Pseudomonas sp.* sur gélose Superpolymyxine (image d'illustration : <https://www.elitechgroup.com/product/superpolymyxin>)

10µL du bouillon d'enrichissement ayant servi au dépistage des E-BLSE ont été ensemencés en cadran et incubés à 35+/-2°C sous atmosphère aérobie, conformément aux recommandations du fournisseur.

Une colonie était considérée comme suspecte si elle présentait une coloration caractéristique (vert métallisé, bleu foncé) ou si elle s'avérait oxydase négative pour les colonies supposément non-fermentantes (non-colorées ou mauves).

L'identification de l'ensemble des colonies était réalisée à l'aide du spectromètre de masse MALDI-TOF du laboratoire. (Bruker Daltonics, Breme, Germany) afin d'exclure de la suite des investigations les entérobactéries des genres *Morganella sp*, *Proteus sp*, *Providencia sp* et *Serratia sp*, présentant de façon chromosomique un haut niveau de résistance aux polymyxines.

Après remise en suspension (0,5 mcF) et dilution au 10<sup>e</sup>, les colonies suspectes étaient une nouvelles fois repiquée sur SuperPolymyxine à visée de confirmation, conformément aux indications de la notice du constructeur.

Ce n'est qu'à la condition d'une nouvelle pousse suite à cette étape de dilution intermédiaire que la détermination d'une CMI à la colistine par méthode UMIC était opérée.

## Elevages Malgaches uniquement:

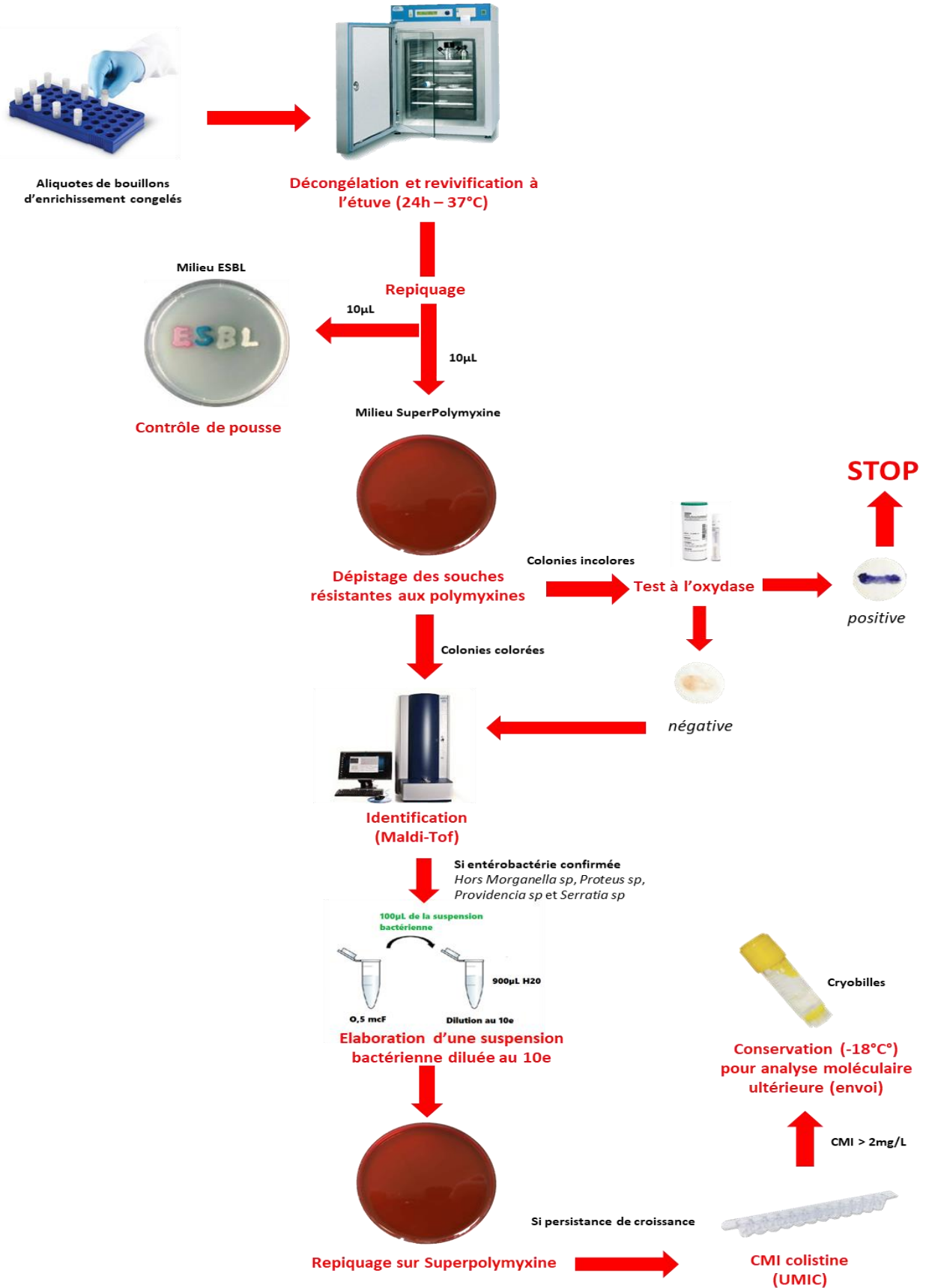


Figure 23 - Dépistage de la résistance plasmidique à la colistine par milieu SuperPolymyxine à prélèvements réalisés dans les élevages malgaches. (illustration personnelle)

## **III.2.7. Caractérisation génotypique des E-BLSE**

Pour chaque filière d'élevage et dans chaque île considérée, 10 souches d'E-BLSE étaient aléatoirement sélectionnées et testées afin de préciser le gène impliqué dans le phénotype BLSE observé.

Cette sélection aléatoire a été rendue possible grâce à la fonction dédiée « ALEA » sur la suite bureautique Office de Microsoft Excel, garantissant l'objectivité des résultats qui en découleraient.

### ***Extraction de l'ADN***

L'ADN total des E-BLSE ainsi sélectionnées a été extrait à partir de cultures fraîches et viables, grâce au support de l'extracteur automatisé NucliSens Easymag® (Biomérieux, Marcy l'Etoile, France) et conformément à la notice du constructeur. Les éluats obtenus ont été conservés à -80°C pour garantir l'intégrité du matériel lorsque l'analyse moléculaire était différée.

### **Puces à ADN**

La caractérisation moléculaire des E-BLSE s'est effectuée à l'aide de puces à ADN (kit Check-MDR CT103XL, Check-Points, Wageningen, Netherlands). Une puce à ADN est une surface polymère (plastique notamment) où sont fixées de façon covalente et en des endroits assignés un ensemble fragments d'ADN représentatif des gènes que l'on cherche à mettre en évidence dans l'échantillon.

Dans notre cas, le système repose sur une reconnaissance spécifique des éventuelles séquences de BLSE contenues dans l'éluat à tester par un ensemble d'amorces complémentaires. Chaque amorce est composée de deux fragments, et ces derniers ne se peuvent se raccorder à l'ADN cible que s'ils y correspondent parfaitement, garantissant ainsi la spécificité de la réaction (et ce même dans le cas d'une seule

différence nucléotidique). Après amplification des éventuels couples amorce-ADN formés (afin d'obtenir une quantité de matériel génétique suffisante), un marquage enzymatique des amplicons est effectué. Les séquences d'ADN marquées sont mises en contact avec la puce et s'hybrident en des endroits précis de cette dernière. Une réaction colorimétrique clôture la technique et assure la détectabilité des produits d'amplification.

La détection des produits colorés est permise grâce à un lecteur de puce Check-Points, lequel génère une image qui sera dès lors analysée et interprétée par un logiciel dédié. L'objectivité du résultat final de la technique est donc garantie.



Figure 24 - Puce à ADN et dispositif de lecture de la puce (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140)



Figure 25 - Aperçu de l'image interprétée par le logiciel dans le cas d'une E-BLSE + carbapénèmase (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140)



En pratique, le kit Check-MDR CT103XL permet la détection et l'identification d'une large gamme de gènes de bêta-lactamases se rencontrant chez les bactéries Gram négatif (principales familles et sous-familles de BLSE notamment).

La distinction entre variants BLSE et non-BLSE d'une même bêta-lactamase (tenant parfois à une unique substitution pour TEM et SHV) est possible grâce aux amorces spécifiques incluses dans le coffret.

Carbapenemase gene	Variants detected
GES-Carba	2,4-6,13-15,17,18,20,21
GIM	1
IMP	1,3-8,10,13,19,20,24-26,30
KPC	1 – 17
NDM	1 – 10
OXA-23 like	23,27,49,73,146,165-171,225,239
OXA-24 like	24-26,33,40,72,139,207
OXA-48 like	48,162,163,181,204,232,244,245,247,370
OXA-58 like	58,96,164
SPM	1
VIM	1 – 6 , 8 – 38
ESBL gene	Variants detected
BEL	1 – 3
CTX-M1 group	See appendix 2
CTX-M2 group	2,4-7,20,31,35,43,44,56,59,76,77,95,124,131
CTX-M9 group	9,13,14,16-19,21,24,27,38,45-51,55,57,64,65,67,81,93,102,104,105,106,110,111,112,113,121,122,123,126,134
CTX-M8/25 group	8,25,26,39-41,63,78,89,91,94
GES-ESBL	1,3,7-12,16,19,22
PER	1-7
SHV-ESBL	2-5,7,9,10,12,13,15,16,18-23,25,29,30,31,34,39,45,46,55,64,66,86,90,91,102,105,106,115,120,123,124,126,128,129,134,141,152,153,160,163-165
TEM-ESBL	3-12,15,17,18,21,22,24,26-29,42,43,46-50,52,53,56,60,61,63,66,68,71,72,75,85-89,91-94,101,102,106,107,109,111,113-115,118,120,121,123-125,129-134,136-138,139,142-144,147,149,151-155,158,165,167,177,187,188,193,195,197,199,205,211
VEB	1-8
AmpC gene	Variants detected
ACC	1,2,4
ACT	1,3,6,7,9,10
CMY	1,2-12,14,38,43-45,49-57,59-63,71,73,80,94,95,99,110
DHA	1-3,5-7
FOX	1-10
MIR	1-6
MOX	1,2,4

Figure 26 - Gamme de gènes de bêta-lactamases détectés par le kit Check-MDR CT103XL (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140)

Dans le cas de BLSE de type CTX-M (BLSE actuellement les plus répandues), le kit Check-MDR CT103XL fournit en général une réponse au groupe sur la base de leur séquence en acides aminés :

- **groupe CTX-M-1,**
- **groupe CTX-M-2,**
- **groupe CTX-M-9,**
- **et groupes CTX-M-8 / CTX-M-25.**

Le nombre important d'amorces spécifiques contenues dans le kit Check-MDR CT103XL permet même d'affiner l'identification enzymatique jusqu'au sous-groupe en cas de CTX-M du groupe 1 :

- CTX-M-1 **sous-groupe 1**
- CTX-M-1 **sous-groupe 15**
- CTX-M-1 **sous-groupe 3**
- CTX-M-1 **sous-groupe 32**

CTX-M1 group			
CTX-M1 subgroup	CTX-M15 subgroup	CTX-M3 subgroup	CTX-M32 subgroup
CTX-M-1	CTX-M-15	CTX-M-3	CTX-M-32
CTX-M-23	CTX-M-28	CTX-M-10	CTX-M-53
CTX-M-52	CTX-M-29	CTX-M-11	CTX-M-55
CTX-M-58	CTX-M-33	CTX-M-12	CTX-M-57
CTX-M-60	CTX-M-71	CTX-M-22	CTX-M-69
CTX-M-61	CTX-M-72	CTX-M-30	CTX-M-79
CTX-M-62	CTX-M-96	CTX-M-34	CTX-M-114
CTX-M-68	CTX-M-101	CTX-M-36	
CTX-M-116	CTX-M-103	CTX-M-37	
CTX-M-136	CTX-M-107	CTX-M-42	
CTX-M-139	CTX-M-108	CTX-M-54	
	CTX-M-109	CTX-M-66	
	CTX-M-117	CTX-M-88	
	CTX-M-132	CTX-M-133	
	CTX-M-142		

Figure 27 - Sous-groupes de CTX-M1 effectivement détectés (d'après le manuel d'utilisation Check-MDR CT103XL) (140)

# Confirmation moléculaire de la résistance plasmidique aux polymyxines

Les souches d'entérobactéries ayant présenté une sensibilité diminuée aux polymyxines éventuellement isolées ont été envoyées au CNR de la résistance aux antibiotiques du CHRU de Clermont Ferrand pour expertise complémentaire (confirmation du niveau de résistance) et recherche des gènes plasmidiques de résistance à la colistine MCR-1, MCR-2 et MCR-3 par biologie moléculaire.

## III.2.8 Identification de facteurs de risque d'E-BLSE

Pour tenter d'identifier des facteurs de risque potentiels quant à la présence d'E-BLSE dans les cheptels animaux, un questionnaire a été renseigné par les équipes vétérinaires du CIRAD lors de leur mission de collecte au sein de chaque élevage. (questionnaire disponible en annexe)

Ce questionnaire s'attachait à documenter un certain nombre de conditions d'élevage, afin d'isoler d'éventuelles pratiques à risque. Citons en particulier le relevé des caractéristiques du bâtiment d'élevage (enceinte fermée), la gestion des effluents, les modalités de nettoyage-désinfection, les mesures de biosécurité appliquées (traitement de l'eau), la lutte contre les vecteurs, l'utilisation éventuelle d'antibiotiques (motivation prophylactique/thérapeutique, date de dernier traitement) ainsi que l'origine des animaux constituant le cheptel. L'analyse statistique des données collectées a été confiée aux statisticiens du CIRAD.

Brièvement, la **variable dépendante** que nous avons cherché à expliquer était l'occurrence des E-BLSE au sein de chaque filière animale et dans chaque territoire.

Les **variables explicatives** considérées étaient qualitatives. Si moins de 5 observations étaient enregistrées dans une catégorie, alors la variable indépendante y référant était exclue.

Une analyse bivariée a été réalisée dans un premier temps grâce au test de Fischer ( $p < 0,05$ ). A noter que les variables présentant une valeur  $p$  inférieure à 0,20 ont aussi alors été soumises à une analyse complémentaire par modèle linéaire généralisé (GLM). Le modèle choisi était celui démontrant l'AIC (Akaike Information Criterion) le plus bas. Le logiciel « R software » a été utilisé dans cette finalité. (R Development Core team, 2012). A noter que la variable « territoire » n'a alors pas été incluse dans cette analyse car associée de façon significative aux autres variables étudiées.

# IV. Résultats

## IV.1. Prévalence des E-BLSE

### IV.1.1. Madagascar

A Madagascar, 92 prélèvements ont été effectués, avec respectivement :

- 31 pour les élevages bovins
- 30 pour les élevages avicoles
- 31 pour les élevages porcins

Toute filière confondue, de fortes prévalences ont été retrouvées avec 73% des prélèvements analysés se révélant positifs à au moins une E-BLSE (soit 67/92).

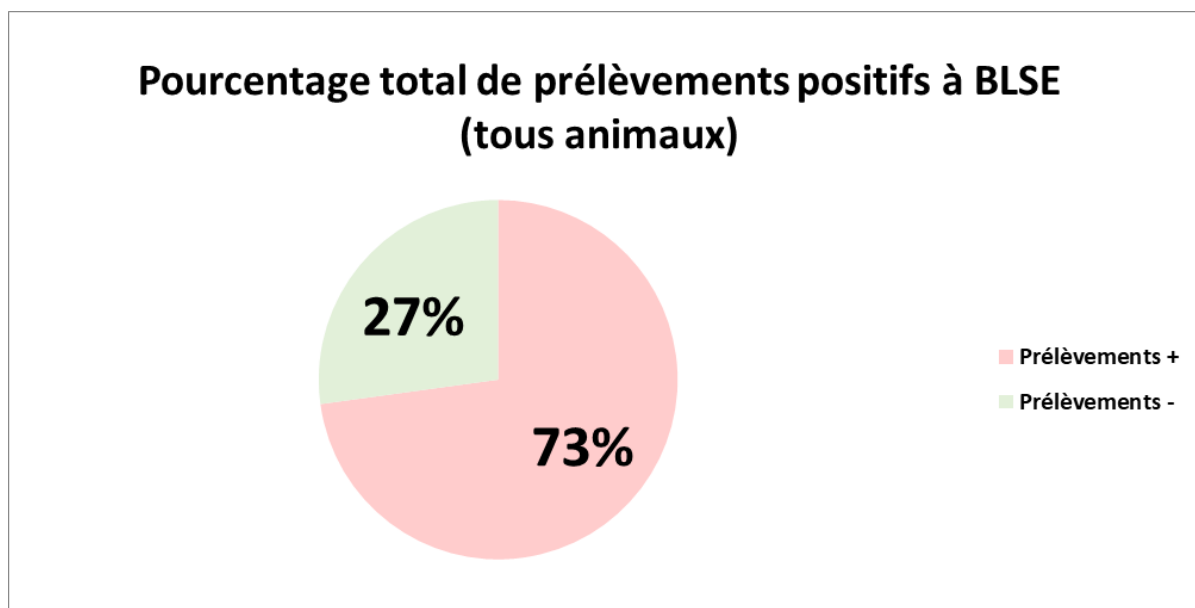


Figure 28 - Pourcentage total de prélèvements positifs à E-BLSE (tous animaux – Madagascar)

Les élevages de porcs se sont avérés les plus concernés puisque près de 84% des prélèvements réalisés dans cette filière ont été retrouvés positifs à au moins une E-BLSE (soit 26/31). Les élevages de volaille arrivent en seconde position avec une prévalence se situant aux alentours des 70% (soit 21/30). Enfin, la filière bovine demeure comparativement la « moins impactée », mais on y rapporte quand même 64.5% de prélèvements positifs (soit 20/31).

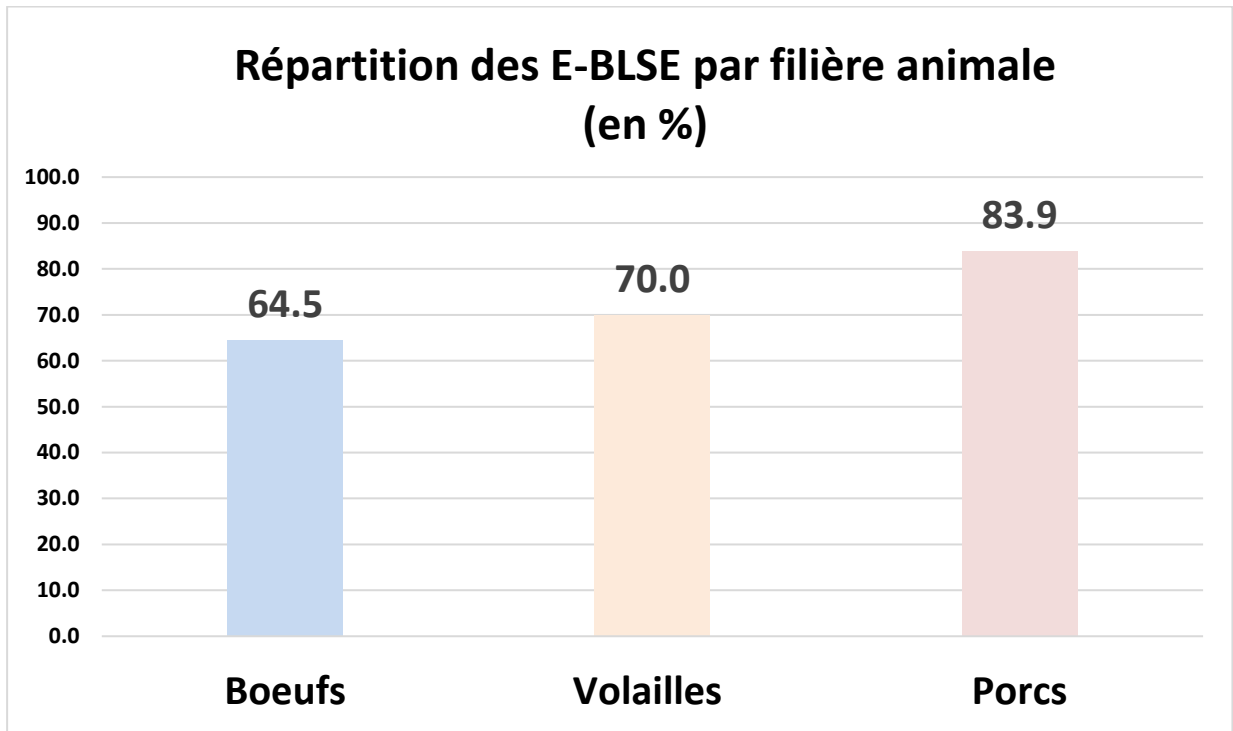


Figure 29 - Répartition des E-BLSE par filière animale – Madagascar

En ce qui concerne la répartition des E-BLSE par espèce, *E. coli* demeure l'espèce la plus prévalente puisqu'elle représente 83% (71/86) des E-BLSE recensées. Viennent ensuite respectivement *E. cloace complexe* (8% soit 7/86), *K. pneumoniae* (5% soit 4/86), *M. morgani* et *C. freundii complexe* (2% soit 2/86).

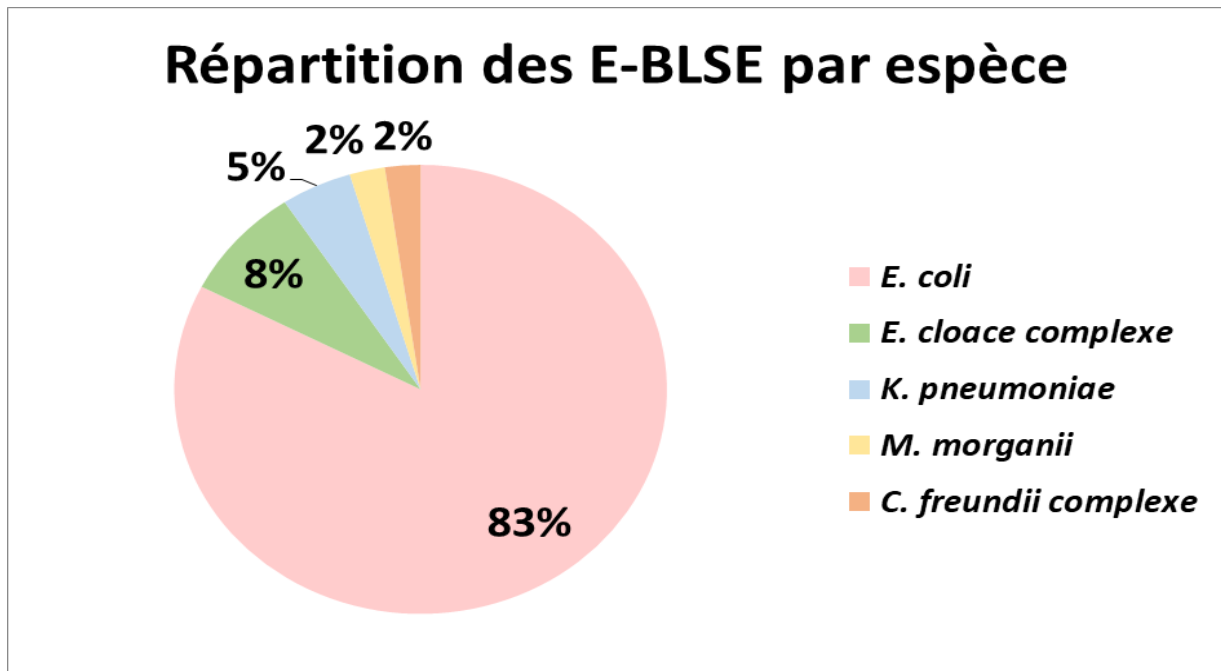


Figure 30 – Répartition des E-BLSE par espèce (Madagascar)

## IV.1.2. Mayotte

A Mayotte, seules les exploitations de volailles et de bovidés ont été sondées, l'inexistence d'une filière porcine tenant au fait de raisons confessionnelles sus-citées.

Ce sont ainsi 42 prélèvements qui ont été réalisés, couvrant :

- 19 élevages bovins
- 23 élevages de volailles

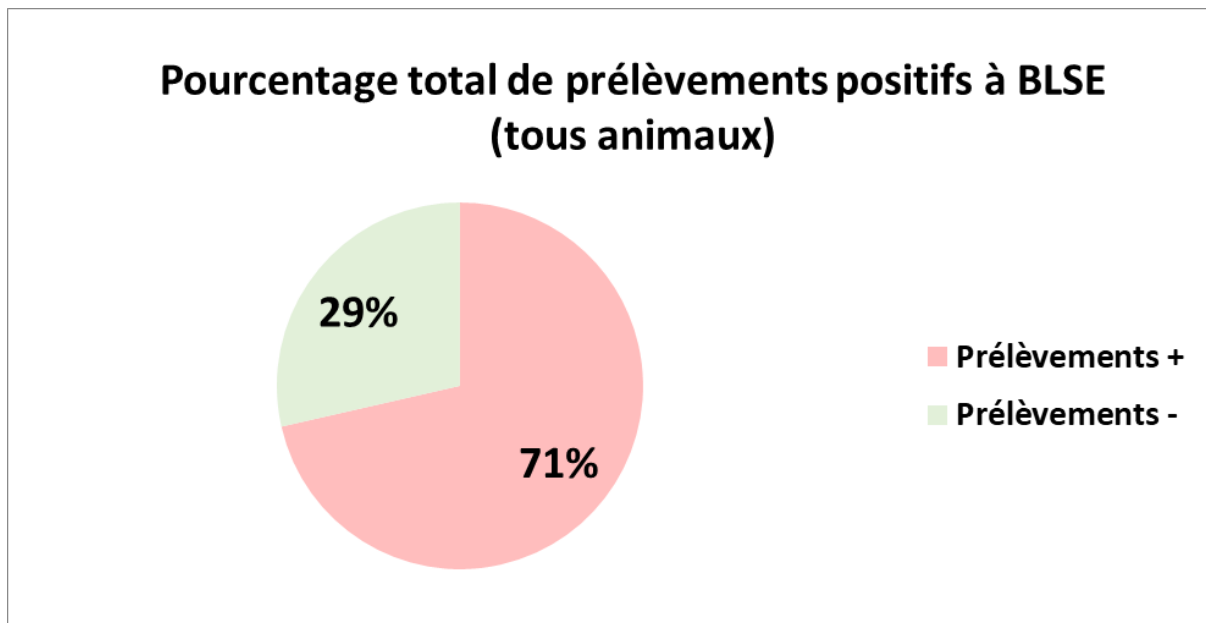


Figure 31 - Pourcentage total de prélèvements positifs à E-BLSE (tous animaux – Mayotte)

Des prévalences importantes ont ici aussi été retrouvées, avec un total de 71% des prélèvements positifs à au moins une E-BLSE (soit 30/42).

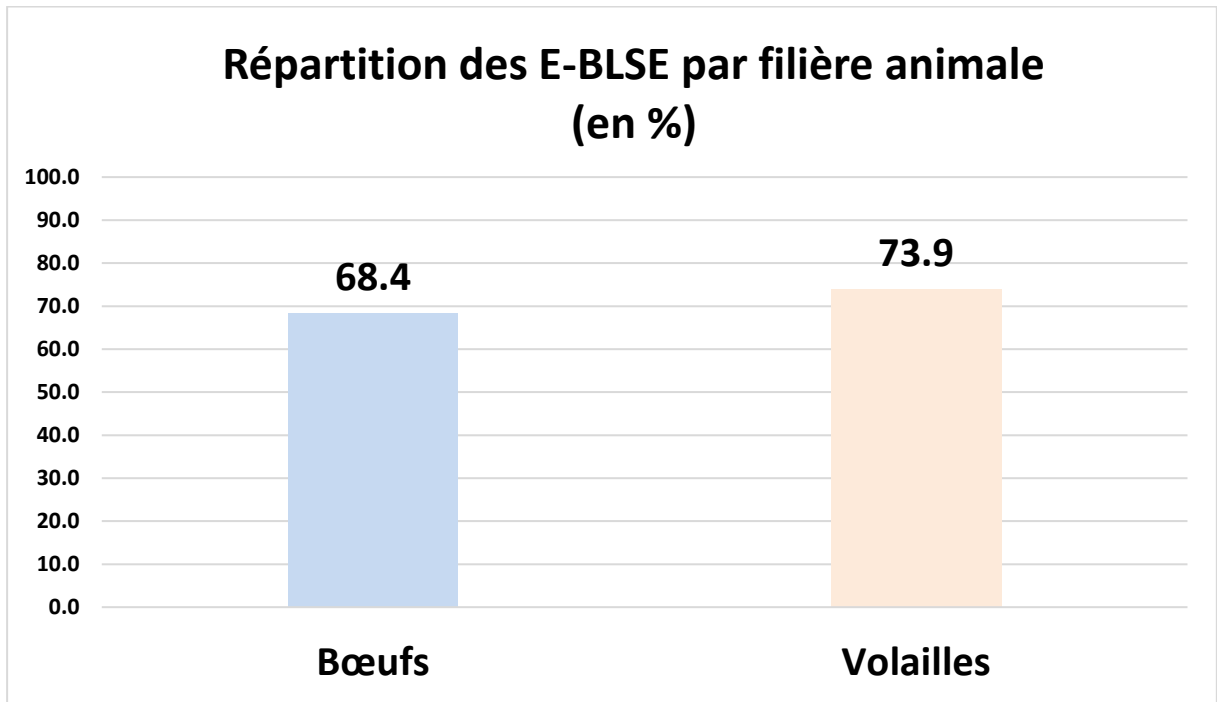


Figure 32 - Répartition des E-BLSE par filière animale – Mayotte

Les élevages de volailles mahorais démontrent ici une prévalence en E-BLSE voisine de ce qui est retrouvé dans les exploitations de bovidés, avec respectivement 73,9% de prélèvements positifs (soit 17/23) contre 68,4% (soit 13/19).

La diversité des espèces d'E-BLSE isolées s'est avérée cependant beaucoup plus restreinte (seulement 2 espèces différentes), avec une large majorité d'*E. coli* (94% des souches soit 34/36).

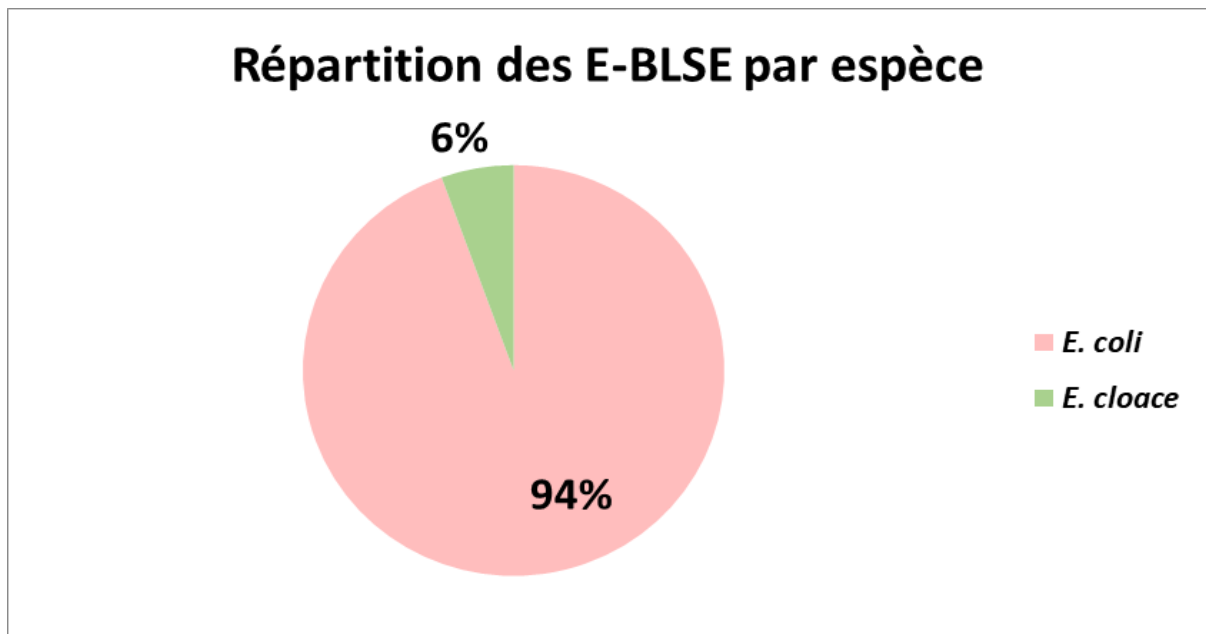


Figure 33 - Répartition des E-BLSE par espèce (Mayotte)



## IV.3. Caractérisation génotypique

Après sélection aléatoire pour chaque filière animale et chaque île de 10 E-BLSE, c'est un total de 50 souches qui ont été testées sur puces à ADN issues du kit Check-MDR CT103XL (Check-Points, Wageningen, Netherlands).

Cette technique s'est avérée concluante quant au typage de l'enzyme impliquée (c'est à dire une identification jusqu'au sous-groupe si nécessaire) dans 92% des cas (46/50). Pour 4 souches cependant, aucun résultat n'a pu être obtenu du fait de conditions analytiques non satisfaites après envoi de l'image des puces au fournisseur (contrôles internes d'extraction négatifs). Une expertise complémentaire a alors été demandée au CNR de la Résistance des entérobactéries du Pr Bonnet à Clermont Ferrand.

### IV.3.1 Madagascar

#### ***Bovins***

A Madagascar, l'ensemble des souches (100% soit 10/10) testées chez les bovins démontrait une enzyme relevant du **sous-groupe CTX-M15**.

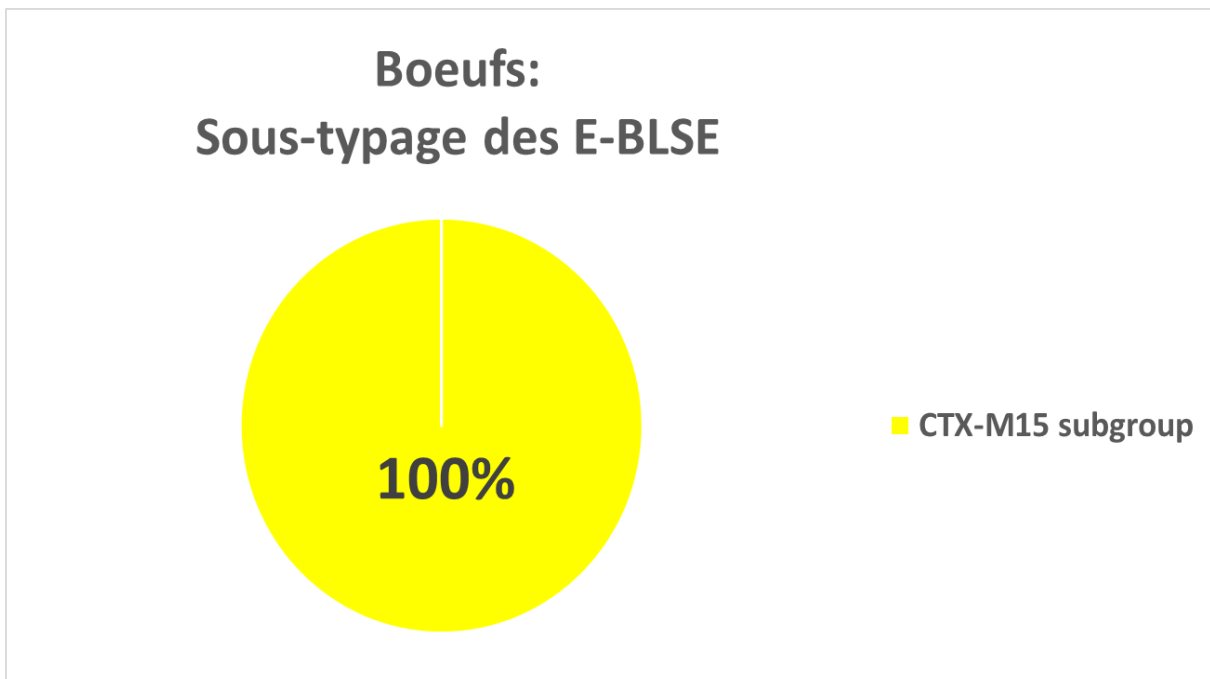


Figure 34 - Sous-typage des E-BLSE (Bœufs – Madagascar)

## Volailles

En ce qui concerne les volailles malgaches, la répartition s'est avérée plus bigarrée. La majorité des E-BLSE testées (70% soit 7/10) relevait d'une CTX-M du groupe 1, appartenant principalement au **sous-groupe CTX-M1** (50% soit 5/10) et dans une moindre mesure au sous-groupe M-15 (20% soit 2/10). Le groupe CTX-M9 concernait quant à lui une minorité de souches (30% soit 3/10).

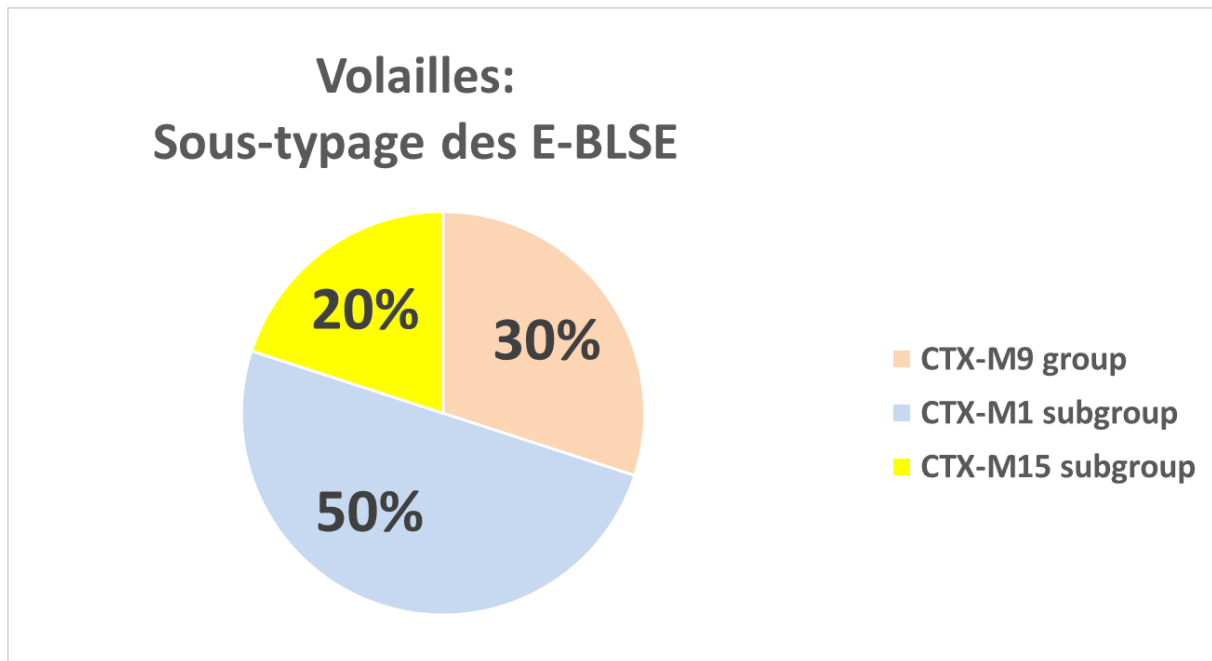


Figure 35 - Sous-typage des E-BLSE (Volailles - Madagascar)

## Porcs

Enfin, dans la filière porcine, l'intégralité des souches testées était rattachée au groupe M1, et en particulier **sous-groupe CTX-M15** (100% soit 10/10), à l'image de ce qui est retrouvé chez leurs homologues bovines.

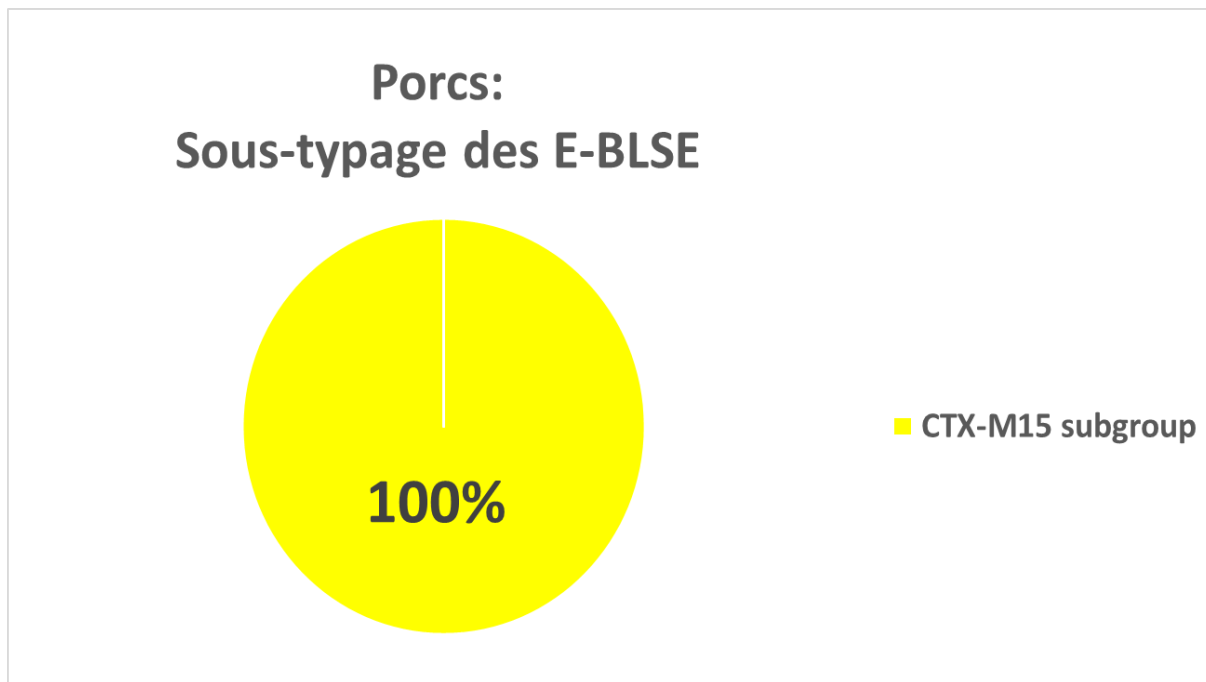


Figure 36 - Sous-typage des E-BLSE (Porcs - Madagascar)

## IV.3.2. Mayotte

### ***Bovins***

L'ensemble des souches d'E-BLSE bovines testées (100% soit 10/10) relevaient du groupe CTX-M1, au sein duquel le **sous-groupe CTX-M15** est ici aussi apparu largement représenté (80% des souches soit 8/10). Sont à noter de façon minoritaire les sous-groupes CTX-M1 (10% soit 1/10), et étonnamment CTX-M32 (10% soit 1/10).

### Boeufs: Sous-typage des E-BLSE

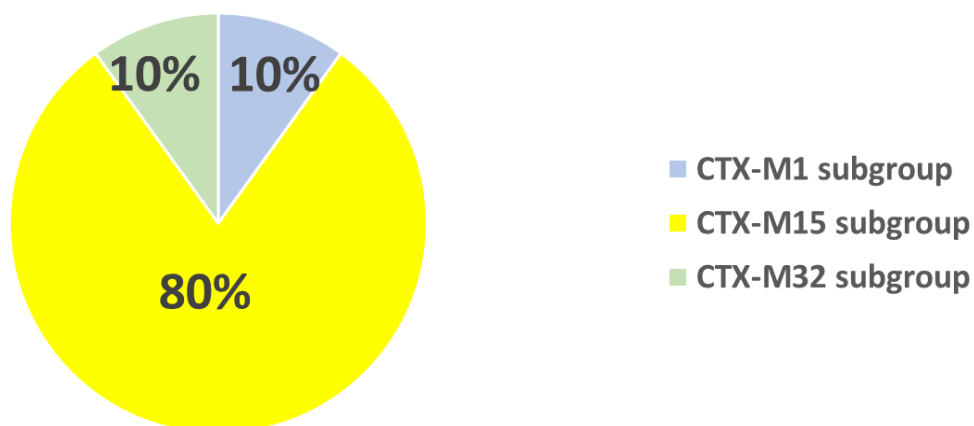


Figure 37 - Sous-typage des E-BLSE (Bœufs - Mayotte)

## Volailles

En ce qui concerne les volailles mahoraises, si l'intégralité des E-BLSE testées relevaient du groupe CTX-M1 (100% soit 10/10), le **sous-groupe CTX-M1** était cependant ici majoritaire (70% des souches soit 7/10).

### Volailles: Sous-typage des E-BLSE

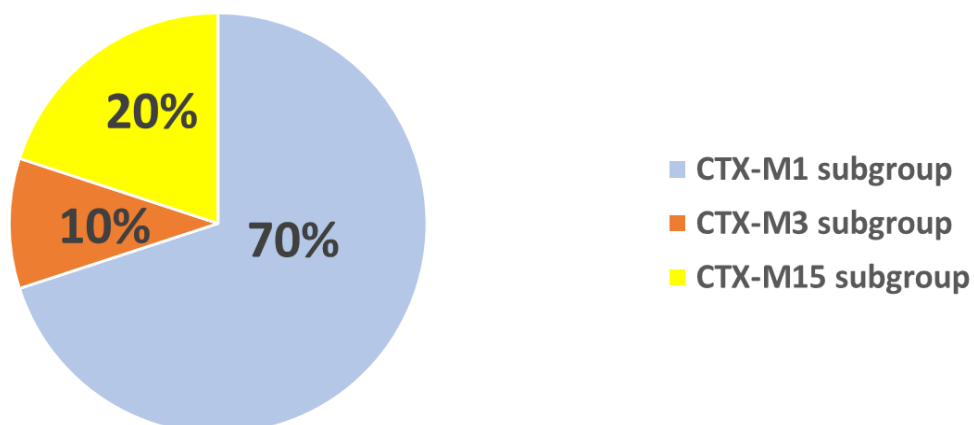


Figure 38 - Sous-typage des E-BLSE (Volailles - Mayotte)

## IV.2. Prévalence des co-résistances

### IV.2.1. Madagascar

#### *Prévalence globale*

De façon peu étonnante, les E-BLSE isolées à Madagascar arboraient pour la grande majorité au moins une co-résistance (91% des souches d'E-BLSE soit 61/67).

Les plus marquées concernaient la classe des **tétracyclines** (76,1% de résistance), puis celle de l'association **triméthoprim-sulfaméthoxazole** (70.1% de résistance).

La famille des **quinolones** n'est pas épargnée, plus de la moitié des E-BLSE isolées (59.7% soit 40/67) démontrant une résistance à l'acide nalidixique (premier rempart dans la résistance aux fluoroquinolones.)

Enfin, les **aminosides** semblent moins impactés puisque seules 13.4% des souches (9/67) ont été retrouvées résistantes à la gentamicine. L'amikacine est demeurée sensible pour l'ensemble des souches, témoignant d'un phénotype de résistance de type G. (AAC-3-I)

Aucune souche de sensibilité diminuée à l'**ertapénème** n'a été mise en évidence. L'ertapénème étant le carbapénème qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des EPC, nous avons ainsi considéré qu'il en était de même par extension pour les autres carbapénèmes. (Recommandations 2016 de l'EUCAST CASFM).

Aucune souche ne s'est par ailleurs révélée résistante à la **colistine** après réalisation d'une CMI en milieu liquide, conformément à ces mêmes recommandations.

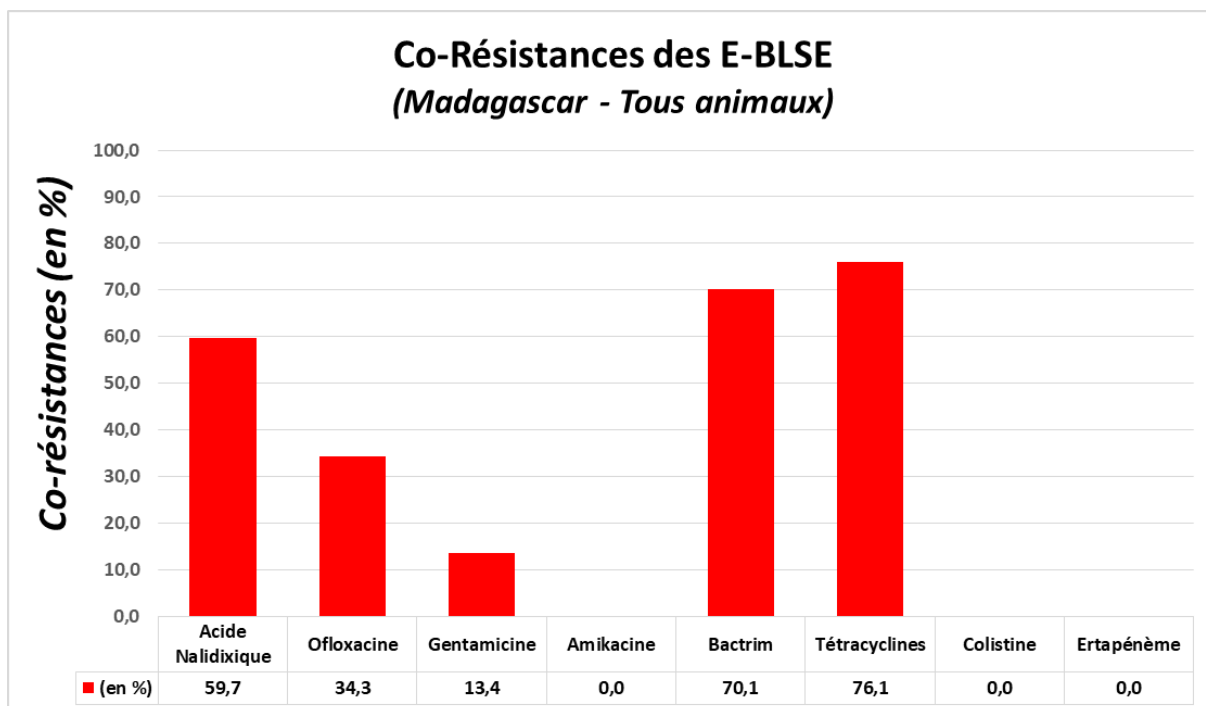


Figure 39 - Co-résistances des E-BLSE (Madagascar - tous animaux)

En ce qui concerne la stratégie de screening complémentaire des E-RPP par gélose SuperPolymyxin mise en place spécifiquement pour les élevages malgaches, 4 prélèvements ont démontré en culture la présence d'au moins une entérobactérie résistante à la colistine (4,3% soit 4 sur 92). Il s'agissait pour la grande majorité de prélèvements en provenance de la filière avicole (75% soit 3 sur 4). Parmi les 5 souches ainsi isolées, *E.cloace complexe* était l'espèce la plus représentée.

Elevage	Filière	Germes suspects d'E-PRR	CMI colistine (UMIC)
4	Volailles	<i>E.cloace complexe</i> <i>C.freundii complexe</i>	>64mg/L 16mg/L
46	Volailles	<i>E.cloace complexe</i>	>64mg/L
52	Volailles	<i>E.cloace complexe</i>	>64mg/L
80	Porcs	<i>E.cloace complexe</i>	>64mg/L

Figure 40 - Listing des souches malgaches ayant démontré une résistance à la colistine après procédure de screening par gélose Superpolymyxine.

Après expertise auprès du CNR de la résistance aux antibiotiques du CHRU de Clermont Ferrand, il est apparu qu'aucune de ces 5 souches n'était positive pour l'un des trois gènes plasmidiques de résistance à la colistine testés (MCR-1, MCR-2 et MCR-3). La prévalence finale en E-RPP au sein des élevages malgaches s'est donc avérée nulle. (0 sur 92).

## Par filière :

La filière avicole malgache s'illustre par ses niveaux très élevés de résistance aux **tétracyclines** : la quasi-totalité des E-BLSE isolées est apparue résistante à cette famille d'antibiotique (95.2% soit 20/21). La co-résistance aux tétracyclines des fermes avicoles malgaches s'est par ailleurs avérée statistiquement plus importante que celle observée au sein des deux autres filières malgaches sondées (p-value= 0.002).

Des niveaux élevés mais comparables de résistance à l'association **sulfamides-triméthopri**me sont observés entre les trois filières. (bœufs ↔ volailles : p-value=0,91 ; bœufs ↔ porcs : p-value=0,39 ; volailles ↔ porcs : p-value=0,45).

Enfin, si le niveau de co-résistances aux **quinolones** apparaît au premier abord plus faible chez les bovins malgaches (40% chez les bovins contre 66,7% chez les volailles et 69,2% chez les porcs), aucune différence statistiquement significative n'a pu être mise en évidence (bœufs ↔ volailles : p-value= 0.091 ; bœufs ↔ porcs : p-value= 0.051).

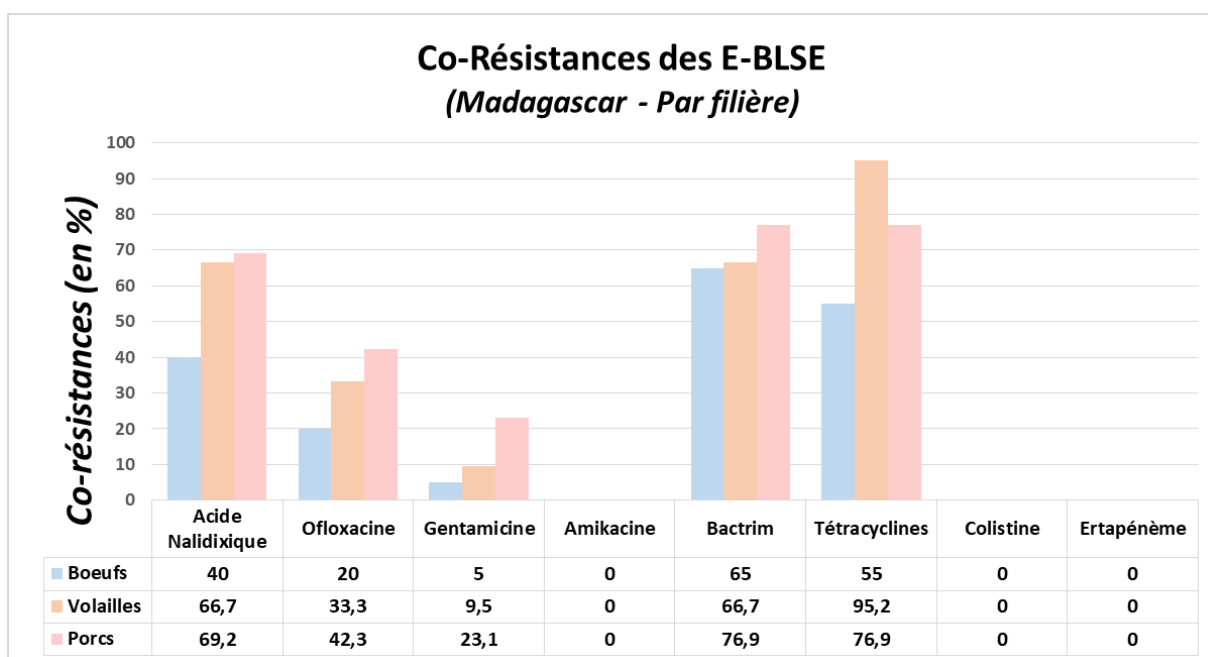


Figure 41 – Co-résistances des E-BLSE (Madagascar – par filière)

## IV.2.2. Mayotte

### Prévalence globale

La majorité des E-BLSE isolées à Mayotte arborait au moins une co-résistance (77% des souches d'E-BLSE analysées soit 23/30).

Ici aussi, la classe des **tétracyclines** apparaît comme la famille la plus touchée, avec une résistance globale frôlant les 60%.

Les **quinolones** arrivent en deuxième position, avec près de 37,9% des souches d'E-BLSE retrouvées résistantes à l'acide nalidixique.

Toute espèce confondue, l'association **triméthoprim-sulfaméthoxazole** semble plus préservée à Mayotte qu'à Madagascar, puisqu'elle n'arrive qu'en troisième position avec une résistance globale se situant aux alentours des 20%. (Mayotte ↔ Madagascar : p-value < 0,01).

Enfin, la résistance aux aminosides semble moins répandue comparativement aux autres classes, avec 17,2% des souches d'E-BLSE démontrant une résistance isolée à la gentamicine.

Aucune souche d'E-BLSE n'a été retrouvée résistante à la colistine, après réalisation d'une CMI en milieu liquide.

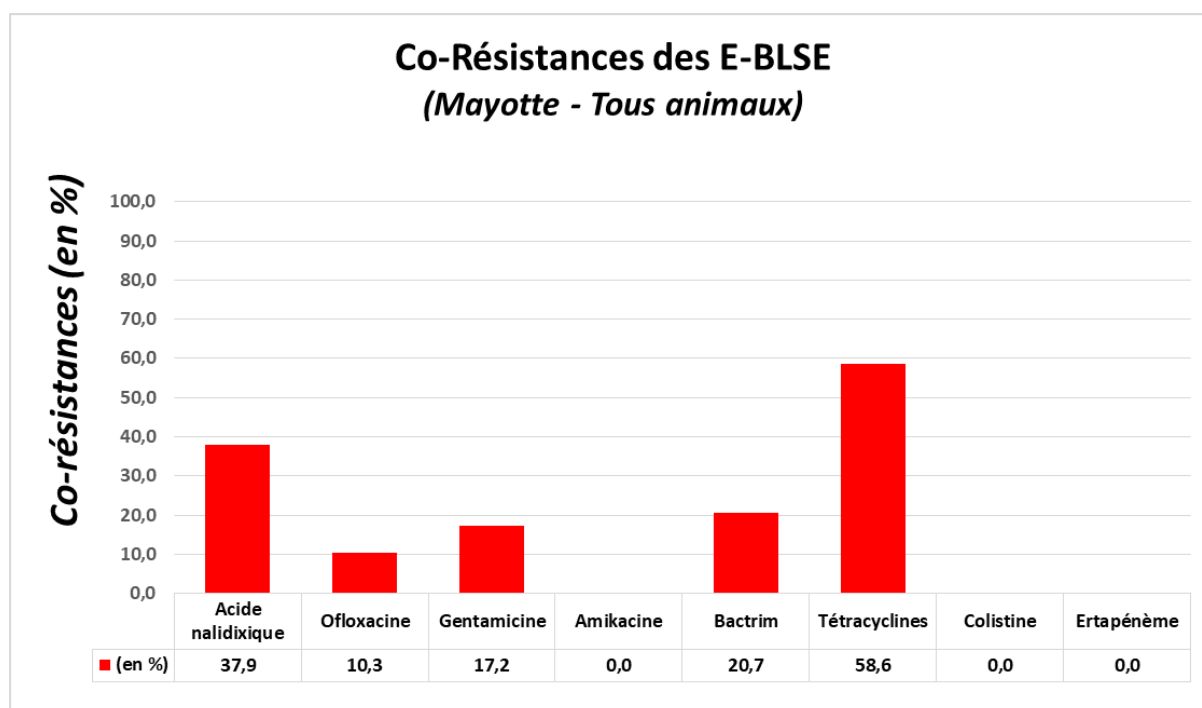


Figure 42 - Co-résistances des E-BLSE (Mayotte - tous animaux)



## Par filière :

Comme pour Madagascar, la famille des **tétracyclines** s'avère significativement plus impactée au sein de la filière avicole, avec 60,9 % des souches d'E-BLSE retrouvées résistantes (volailles ↔ bœufs: p-value= 0.02).

Chez les bovidés, avec 50% des souches d'E-BLSE démontrant une résistance à l'acide nalidixique, la famille des **quinolones** semble au premier abord plus touchée comparativement aux volailles (21,7%). Cependant, cette observation n'est pas retrouvée comme significative d'un point de vue statistique (bœufs ↔ volailles : p-value = 0.29).

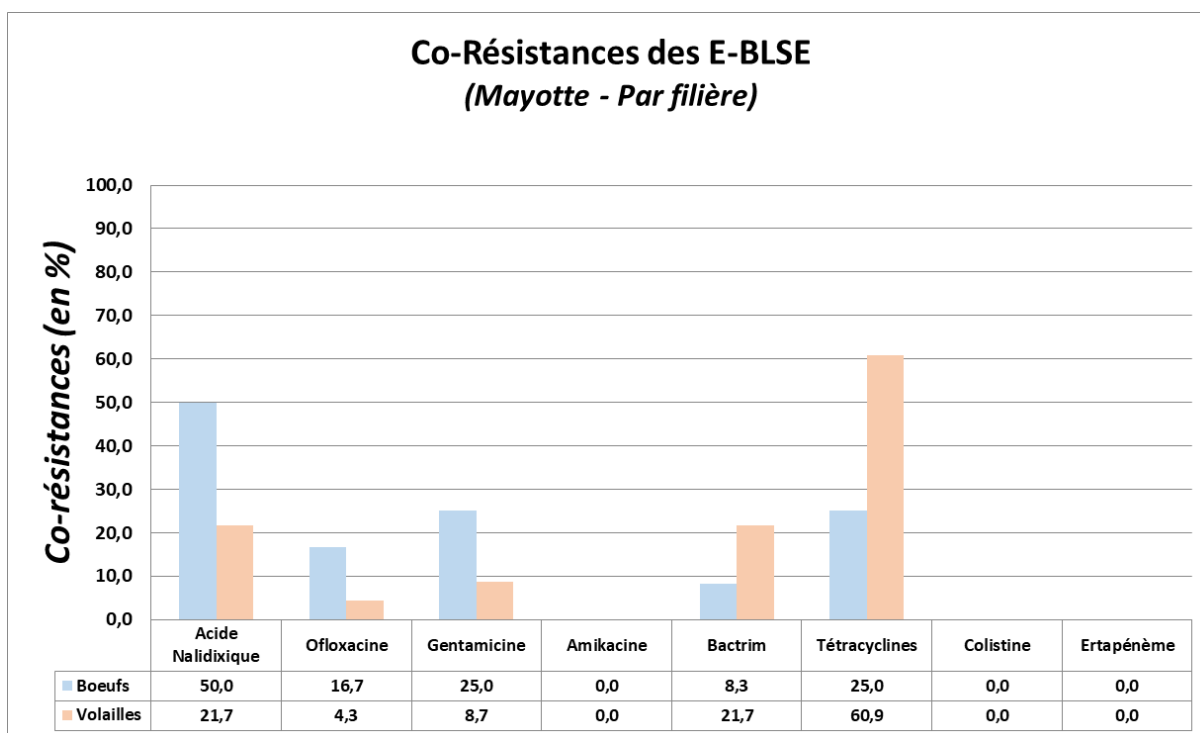


Figure 43 - Co-résistances des E-BLSE (Mayotte – par filière)

## IV.3. Facteurs de risque d'E-BLSE

En analyse bivariée et à Madagascar, les mesures de défrichage effectuées aux alentours des fermes bovines se sont avérées être un facteur protecteur quant à la présence d'E-BLSE dans au sein de l'élevage. L'absence d'importation de poussins au sein des fermes avicoles (auto-production) va dans ce même sens.

Territoire	Elevage	Variable explicative	OR, IC95%	p-value
Madagascar	Bovins	Défrichage autour de la ferme	0,00 [0,00-0,94]	0,03
	Volailles	Poussins produits dans la ferme	0,00 [0,00-0,91]	0,02
	Porcs	-	-	-
Mayotte	Bovins	-	-	-
	Volailles	Distance >500m d'une autre ferme avicole	13,39 [0,79-883,37]	0,04

Figure 44 - Analyse bivariée des facteurs de risque d'E-BLSE au sein des élevages malgaches et mahorais.

En modélisation linéaire généralisée, le meilleur modèle retenu au sein de chaque famille d'élevage (bovins : AIC=83,53 ; volailles : AIC=93,68 et porcs : AIC=65,09) mettait en évidence plusieurs variables, récapitulées dans le tableau ci-dessous et qui seront l'objet d'une discussion dans la suite de ce travail.

Variable dépendante	Variable explicative	Adj. OR, IC95%	p-value	AIC
Bovins	Taille du cheptel > 25	0,07 [0,02-0,28]	<0,01	83,53
	Usage récent d'antibiotiques (<1an)	3,94 [1,04-14,98]	0,04	
	Mesures de désinfection	0,19 [0,04-0,91]	0,04	
	Présence d'animaux	6,87 [1,13-41,67]	0,04	
Volailles	Contrôle de la qualité des eaux	0,12 [0,02-0,82]	0,03	93,68
Porcs	Sol mouillé	22,34 [1,51-330,98]	0,02	65,09
	Recours aux détergents dans le nettoyage	0,12 [0,02-0,75]	0,02	
	Usage récent d'antibiotiques (<1an)	8,82 [1,09-71,4]	0,04	

Figure 45 - Meilleur modèle expliquant l'occurrence des E-BLSE au sein des élevages de bœufs, volailles et porcs (tous territoires confondus)

# V. Discussion

Ce sont de fortes prévalences d'E-BLSE qui sont ainsi retrouvées dans les élevages de rente à Madagascar et Mayotte, l'insularité de ces deux îles de l'océan indien ne permettant visiblement pas d'échapper au phénomène de globalisation de l'antibiorésistance dans ce secteur d'activité.

**L'utilisation récente d'antibiotiques (< 1 an)** demeure le principal facteur de risque d'E-BLSE au sein de la majorité des filières d'élevage sondées (cheptels bovins : OR=3,94 [1,04-14,98] p=0,04 ; cheptel porcins : OR=8,82 [1,09-71,4] p=0,04). Cette observation s'intègre parfaitement à ce qui est actuellement retrouvé dans la littérature (141), et nous fait suggérer un recours particulièrement important (voire un mésusage) des antibiotiques en élevage de rente dans la zone océan indien.

Nous nous sommes donc attachés à mettre en perspective nos résultats avec les prévalences d'E-BLSE en élevage retrouvées :

- **au niveau régional** sur l'île voisine de la Réunion, grâce à une mission de collecte au sein des élevages de volailles et de porcs réalisée début 2016 par Ramin Managata et *al.*, suivant la même méthodologie que la présente étude ; (57)

- **au niveau national** grâce aux études réalisées en France métropolitaine dans le cadre de la surveillance de l'Antibiorésistance des Bactéries Pathogènes pour la volaille, le porc et le bovin (RESAPATH) ;

- et enfin **au niveau mondial**, par méta-analyse d'études portant sur des élevages d'animaux vivants, ayant rassemblé un nombre suffisant d'échantillons à tester (fixé arbitrairement à 50) et ayant affiné leurs analyses jusqu'à l'identification des enzymes au sous-groupe ont été retenues. Afin de garantir la comparabilité de nos résultats avec ceux de la littérature, un recalcul des prévalences observées a parfois été réalisé lorsque les auteurs englobaient dans leurs investigations le cas de résistances aux C3G hors BLSE (ex : bêta-lactamases de classe C).

En ce qui concerne les **élevages de bœufs** tout d'abord :

**A la Réunion** : aucune donnée s'attachant à évaluer la prévalence des E-BLSE au sein de ces élevages n'a présentement été publiée.

**Au niveau national**, une unique étude s'y est attachée. Madec et *al.* avancent à ce titre en 2008 le chiffre de 3,3% (soit 42/1264). Il s'agissait alors dans 92,9% de BLSE de type **CTX-M du sous-groupe 1**. Les auteurs ont d'ailleurs souligné la forte homologie de cette épidémiologie avec celle retrouvée dans la population française à l'époque (on notera cependant une incursion du sous-groupe CTX-M15 à partir de 2009). (142)

**Dans le reste du monde**, la prévalence des E-BLSE des élevages bovins ne dépassait pas les 10% dans les années 2010-2011 en Europe, au Japon et aux USA, ce qui contraste là encore avec les fortes prévalences retrouvées en zone océan indien. D'un point de vue moléculaire, une large majorité de **CTX-M du sous-groupe 1** a été rapportée sur le continent européen et nord-américain, ce qui tranche fortement avec les CTX-M15 mises en évidence à Madagascar et Mayotte.

Il est surprenant d'observer une telle proportion du sous-groupe CTX-M15 spécifiquement au sein des élevages bovins de l'océan indien. Ce sous-type s'avère par ailleurs majoritaire dans la population humaine. Notons que la présence de CTX-M15 a déjà été rapportée dès 2006 à Madagascar chez l'Homme, lors d'une épidémie d'infections pulmonaires chez des nouveau-nés à Antananarivo. Une source de contamination environnementale avait alors été mise en évidence (eau courant servant de liquide de rinçage lors de la réalisation d'aspirations trachéo-bronchiques). (49) En 2013, une étude rétrospective portant sur une collection de 239 E-BLSE hospitalières et communautaires avait aussi montré une très large proportion de CTX-M-15. (75.5%). (50) Ce succès écologique si particulier de l'enzyme CTX-M-15 au sein des cheptels bovins de la zone océan indien soulève ainsi la possibilité d'échanges relativement actifs ou privilégiés avec le compartiment humain. Rappelons que les élevages bovins sondés dans ces deux îles relevaient tous deux préférentiellement d'une logique d'exploitation de type traditionnel (médianes respectives à 18 et 7 têtes par exploitation), impliquant de ce fait une présence humaine plus forte par rapport aux élevages industriels, et ainsi des échanges inter-compartimentaux probablement favorisés. Pour illustration, il convient de remarquer que près de 72% des ménages

ruraux malgaches sont directement concernés par des pratiques ayant trait à l'élevage des animaux, et notamment de bovidés. (143)

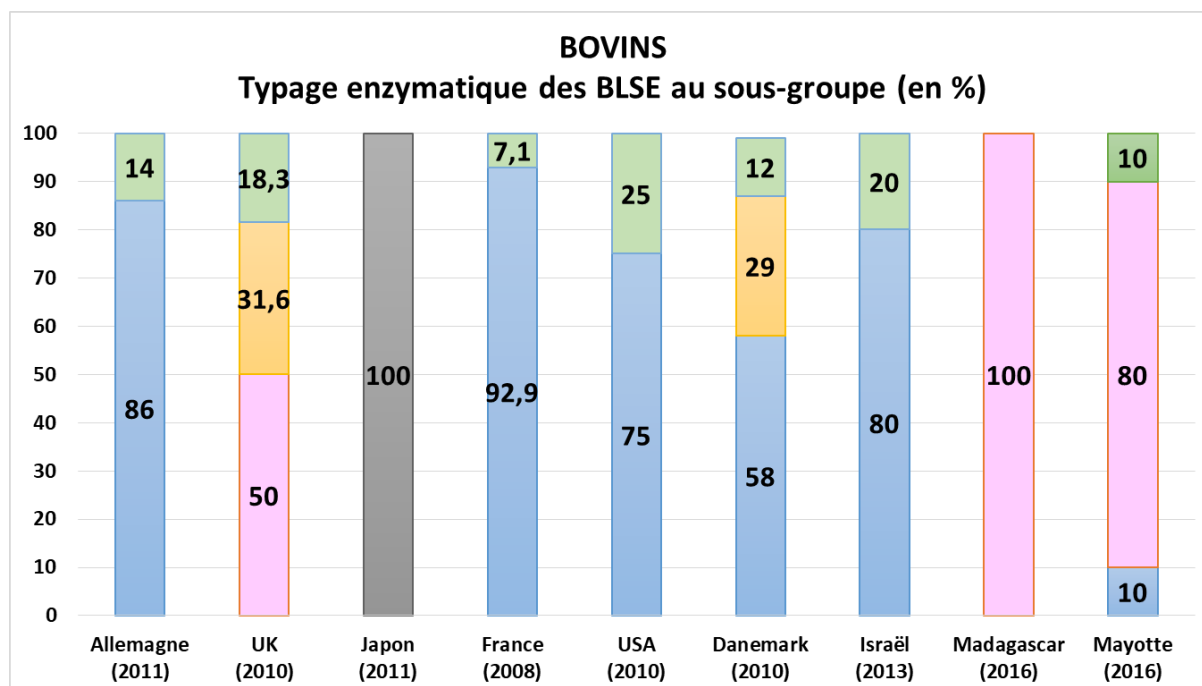
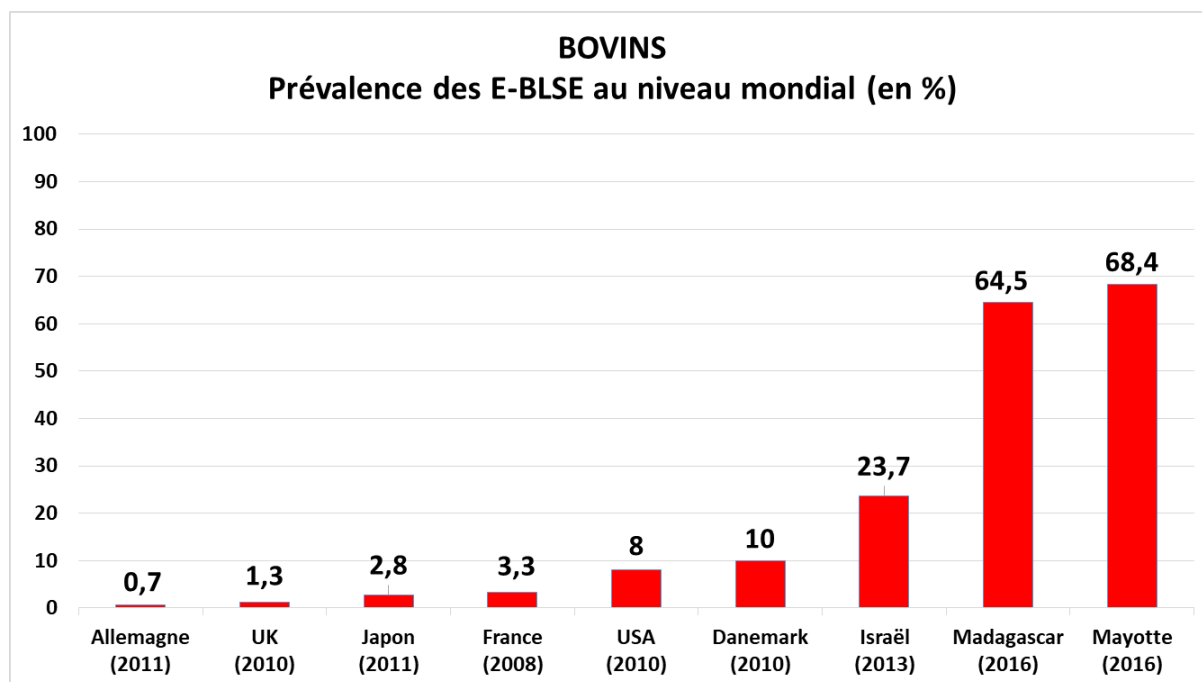


Figure 46 - Prévalence et typage des E-BLSE au niveau mondial (Bœufs)

- autres enzymes
- CTXM – sous-groupe 1 (= groupe 1)
- CTXM – sous-groupe 14 (= groupe 2)
- CTXM – sous-groupe 15 (= groupe 1)
- CTXM – sous-groupe 2 (= groupe 2)

D'un point de vue statistique, le **défrichage régulier** réalisé aux abords des élevages bovins malgaches s'est avéré être un facteur protecteur.  $p=0,03$  ;  $OR=0,00$  [0,00-0,94]. Ceci soulève la question du rôle du compartiment environnemental dans le phénomène d'antibiorésistance. Il n'y a qu'à rappeler que les CTX-M proviennent à l'origine du genre *Kluyvera spp.* (entérobactéries résidentes de la rhizosphère) pour faire argument d'autorité. Ce dernier peut d'ailleurs constituer le gîte privilégié de certains vecteurs d'E-BLSE bien identifiés (rongeurs de type rat notamment) (144), renforçant cette impression de place pivot qu'entretient l'environnement dans le phénomène d'antibiorésistance. (145)

Par ailleurs, spécificité étonnante des élevages bovins de la zone océan indien, la **présence d'autres animaux au sein des exploitations** (et notamment domestiques) est aussi apparue comme un facteur de risque à part entière d'E-BLSE ( $OR= 6,87$  [1,13-41,67]  $p=0,04$ ). Ceci soulève le rôle fondamental des animaux domestiques dans ce phénomène même phénomène, et renforce l'hypothèse d'échanges internes s'opérant au sein de chaque réservoir (animal notamment), sans réelle étanchéité. Santman-Bereds et *al.* ont aussi mis en évidence en 2017 l'impact de la présence de chats en tant de facteur de risque d'E-BLSE au sein des élevages issus de l'agriculture biologique aux Pays-Bas. (146) La prévalence des E-BLSE chez les animaux de compagnie a été négligée pendant de nombreuses années. Cependant, cette sous-catégorie s'affiche désormais comme un réservoir à part entière, entretenant même une plus grande proximité relative avec l'ensemble des autres compartiments. Une nette majorité de CTX-M-15 chez les animaux domestiques a été retrouvée en Europe (90%) dans étude multicentrique menée en 2010 auprès de cabinets vétérinaires, suggérant là aussi une évolution parallèle au réservoir humain. (147).

En ce qui concerne les **élevages de volailles** :

**A la Réunion** : Ramin et *al.* font état en 2016 de fortes prévalences d'E-BLSE au sein des élevages de volaille réunionnais. 70% (soit 21/30) des fermes avicoles sondées étaient alors retrouvées positives à au moins une E-BLSE. Il s'agissait de la filière la plus touchée, avec une prévalence particulièrement comparable à ce que nous avons retrouvé à Madagascar (70%) et Mayotte (73,9%). D'un point de vue enzymatique, les E-BLSE de volailles réunionnaises relevaient majoritairement du **sous-groupe CTX-M1** (72,5% soit 29/40) tout comme ce qui est retrouvé à Mayotte et Madagascar, et dans une moindre mesure de la classe des TEM (22,5% soit 9/40).

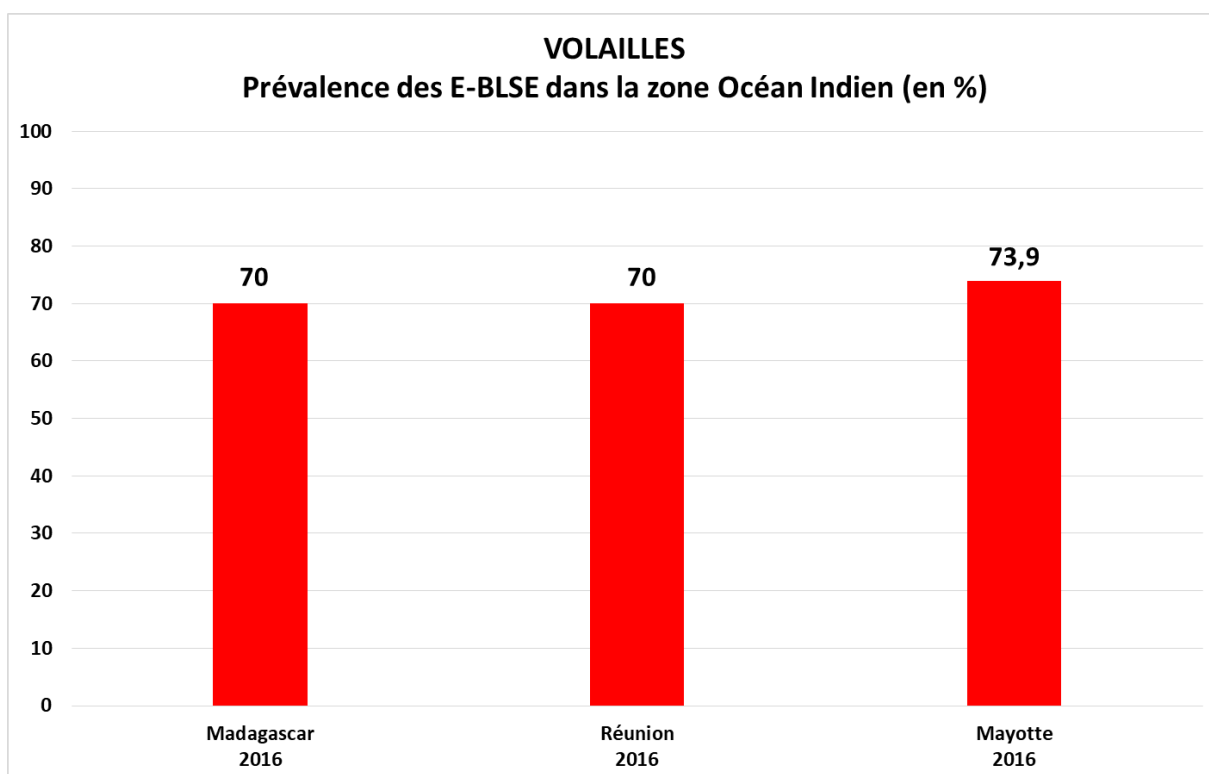


Figure 47 - Prévalence des E-BLSE dans le zone Océan Indien (Volailles)

**Au niveau national**, les premières observations d'E-BLSE en élevage avicole remontent au début des années 2000. Weill FX et *al.* mettent en évidence pour la première fois au sein d'un élevage de volailles du sud-ouest des souches de *Salmonella enterica* sérotype Virchow résistantes aux C3G du fait de la production d'une BLSE appartenant au groupe, alors « atypique », CTX-M-9. Une forte homologie est même retrouvée par PFGE avec une souche humaine de *S.enterica* isolée de façon concomitante. Déjà, l'hypothèse d'une possible contamination de l'homme via l'alimentation fut questionnée (148). Girlich et *al.* estiment en 2006 à 10,7% (12 /112) le taux d'E-BLSE au sein de de 7 élevages de volailles français, couvrant tout le

territoire national. Là aussi il s'agissait CTX-M du sous-groupe 1 (100% soit 11/11). (149)

En comparaison avec le **reste du monde**, les élevages avicoles de la zone océan indien s'illustrent par leurs prévalences très clairement supérieures à celles retrouvées en Europe et en Asie. A l'exception du Portugal et de la République Tchèque, on note une forte homologie de profil enzymatique pour les élevages avicoles entre le continent européen (dont la France) et la zone océan indien, avec une majorité de CTX-M du sous-groupe 1. Les volailles de la zone océan indien pourraient donc répondre à un même profil de résistance de type « européen ». (55) Cette hypothèse apparaît d'autant plus plausible si l'on considère que les élevages avicoles sondés à Mayotte et Madagascar relevaient tous deux d'une logique industrielle, à haut rendement de production, et nécessitant de ce fait l'importation d'œufs à couvrir et/ou de poussins en provenance d'Europe. (150)

Pour corroborer cette observation, il est apparu lors de l'analyse statistique que le **mode auto-productif des élevages** avicoles traditionnels malgaches (impliquant l'absence d'introduction de volailles extérieures au cheptel) s'avérait justement être un puissant facteur protecteur :  $p=0,02$  ;  $OR=0,00$  [0,00-0,91]. Ceci renforce l'hypothèse d'une origine extérieure aux E-BLSE rencontrées dans ces élevages, et expliquant de fait les fortes prévalences retrouvées spécifiquement au sein des élevages de type industriel. A la différence des exploitations traditionnelles, la filière avicole moderne se caractérise par une organisation pyramidale, au sommet de laquelle se trouvent les géniteurs de race améliorée (Great Grandparent Stock ou GGPS), lesquels produisent les œufs et poulets de chair exportés vers la majorité des exploitations du monde. Ce système est d'un point de vue microbiologique très vulnérable puisqu'un géniteur porteur d'E-BLSE, situé au sommet de la pyramide de production, les transmettra à tous les individus situés en aval si aucune mesure sanitaire n'est prise, permettant une diffusion de la RAM à l'échelle mondiale. Cette observation est en accord avec ce qui est retrouvé par ailleurs dans la littérature : Dierikx et *al.* ont à ce titre souligné en 2013 aux Pays Bas cette étroite relation entre importation de géniteurs au sein des cheptels et introduction concomitante de nouvelles souches d'*E. coli* BLSE. (151) De manière théorique, il est parfaitement envisageable d'améliorer l'état sanitaire des animaux reproducteurs situés au sommet des pyramides de production. Certains élevages porcins sont entièrement constitués à partir d'animaux mis à bas par césarienne, et donc indemnes de toute colonisation bactérienne extérieure. Ces animaux



reproducteurs « bactériologiquement sélectionnés » jouissent alors d'un état sanitaire excellent, permettant *in fine* de limiter le recours aux antibiotique de manière très ponctuelle dans les étages inférieurs, sous réserve d'un environnement lui aussi contrôlé. (152) L'élevage des individus s'envisage en un seul et même local, sans changer de congénères (stratégie du « wean to finish »). (153) Lorsqu'il pas possible d'envisager de telles pratiques d'assainissement, l'élimination des animaux infectés latents du troupeau s'envisage en tant qu'alternative efficace.

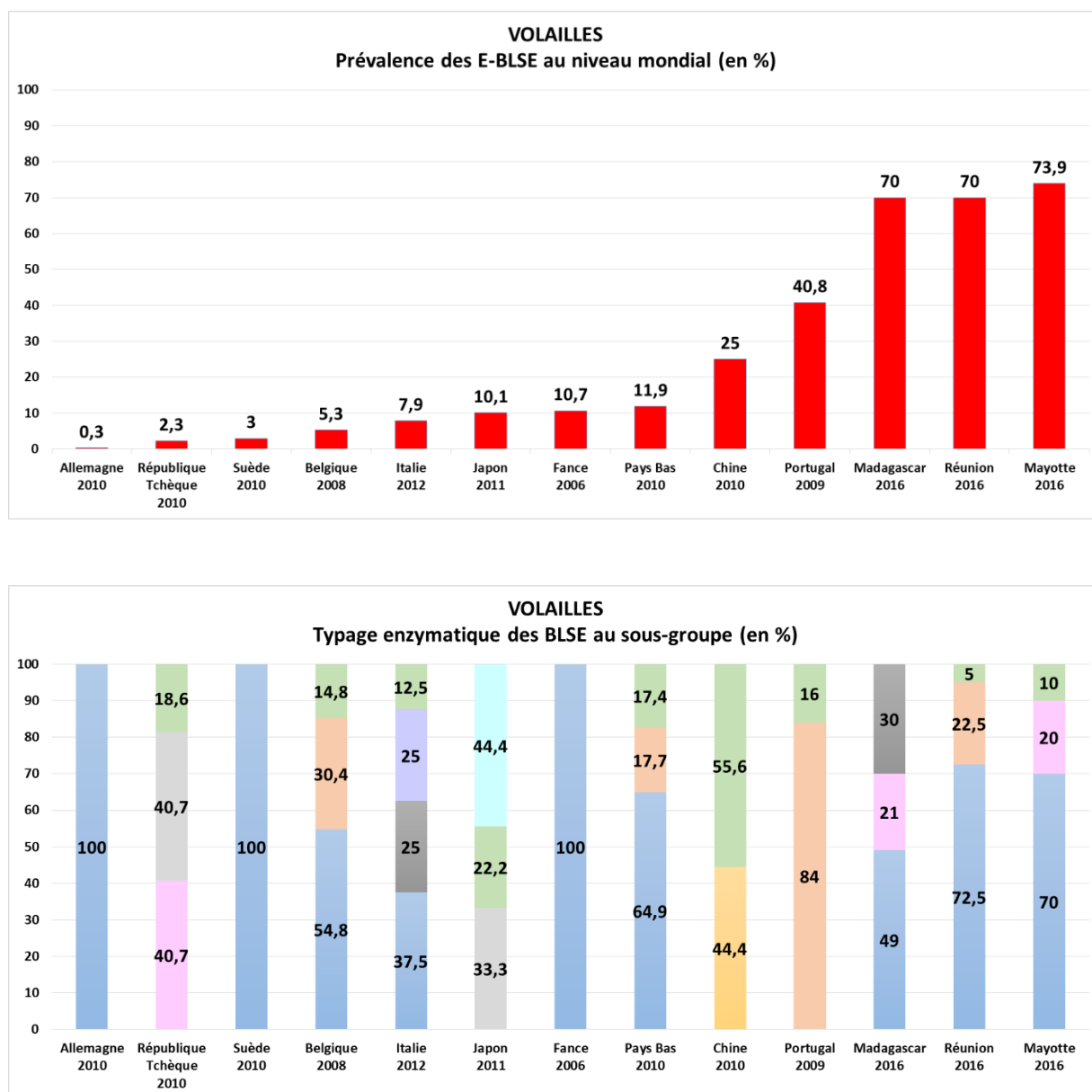


Figure 48 - Prévalence et typage des E-BLSE au niveau mondial (Volailles)

<ul style="list-style-type: none"> <li>vert</li> <li>bleu</li> <li>jaune</li> <li>rose</li> <li>noir</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Autres enzymes</li> <li>CTXM – sous-groupe 1</li> <li>CTXM – sous-groupe 14 (groupe 9)</li> <li>CTXM – sous-groupe 15</li> <li>CTXM – sous-groupe 2 (groupe 2)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>orange</li> <li>gris</li> <li>turquoise</li> <li>violet</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>TEM</li> <li>SHV</li> <li>CTXM – sous-groupe 25 (groupe 8/25)</li> <li>CTXM – sous-groupe 9 (groupe 9)</li> </ul>
---	--	---	--

Le contrôle de la **qualité des eaux** au sein des cheptels avicoles de la zone océan indien est par ailleurs apparu comme un facteur protecteur fort (OR=0,12 [0,02-0,82] p=0,03). Lorsqu'elles sont directement issues de sources aquatiques de surface comme dans les pays en voie de développement, les eaux de nettoyage et de boisson s'avèrent souvent largement contaminées par des résidus d'antibiotiques et seraient ainsi le théâtre d'une pré-sélection intense de BMR. (154) La concentration en antibiotiques des eaux de rivière augmenterait en parallèle de la pression anthropique exercée sur le milieu, et notamment en aval des hôpitaux où les traitements antibiotiques sont fréquents. Cela s'applique tout naturellement aussi aux élevages de rente, où la pression antibiotique exercée s'avère d'ailleurs parfois beaucoup plus importante. Tout comme les Hommes, les animaux peuvent excréter des résidus d'antibiotiques dans leurs fèces et urines, sous leur forme initiale ou sous forme d'un ou plusieurs métabolites. (155) Les BMR retrouvées dans le milieu aquatique peuvent y transiter à plus ou moins long terme en s'établissant au sein de véritables biofilms, et transférer leurs gènes à des bactéries environnementales. (156) Cet événement concourt à un enrichissement progressif du résistome environnemental. La chloration des eaux avant utilisation au sein de l'exploitation permet alors le plus souvent de remédier à cet écueil. Par ailleurs, la plupart de ces souches disparaissent généralement assez rapidement par rapport aux bactéries résidentes aquatiques du fait d'un désavantage évolutif et d'un stress important lors de leur arrivée dans ce milieu. Il est d'ailleurs intéressant de remarquer que le dossier d'AMM de chaque antibiotique doit comporter des données écotoxicologiques d'impact sur l'environnement (PEC ou évaluation des concentrations prévisibles dans l'environnement), et notamment sur les organismes animaux et végétaux susceptibles d'y être exposés. Si le risque est jugé non acceptable ou trop difficile à évaluer, l'AMM peut être éconduite.

En ce qui concerne les **élevages de porcs** :

**A la Réunion** : la filière porcine semblait en 2016 relativement plus « préservée » puisque la présence d'E-BLSE ne concernait la moitié des fermes étudiées (50% soit 10/20). Ceci contraste clairement avec les fortes prévalences malgaches (où 83,9% des élevages ont été retrouvés positifs). La majorité des souches porcines réunionnaises était associée au groupe TEM (8/15 soit 53,3%) et au sous-groupe CTX-M1 (46,7% soit 7/15).

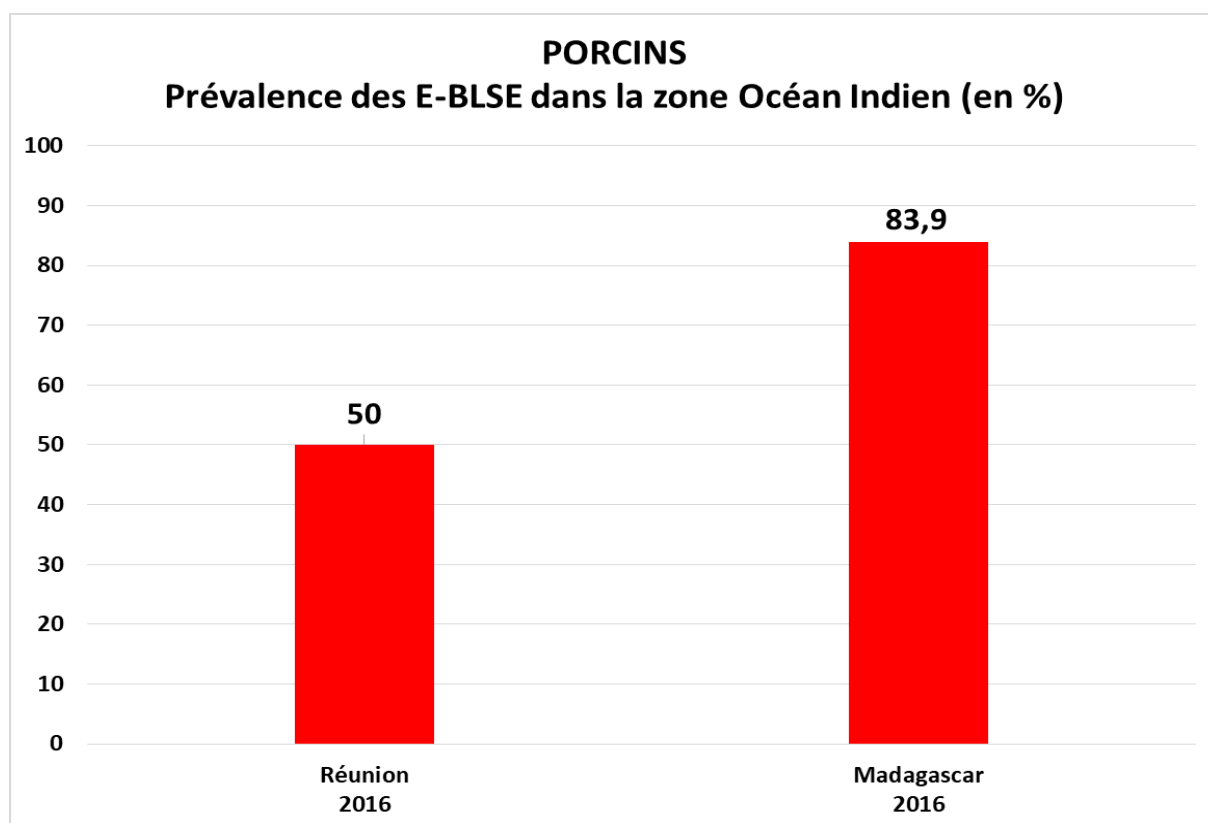


Figure 49 - Prévalence des E-BLSE dans le zone Océan Indien (Porcs)

**En France métropolitaine** : aucune étude ne s'est à ce jour intéressée à l'évaluation de la prévalence des E-BLSE au sein des élevages porcins.

**Au niveau mondial**, si les prévalences retrouvées en Europe dans les élevages de porcs ne dépassent pas les 30%, celles du continent asiatique seraient encore plus basses. Ainsi, la zone océan indien apparaît encore une fois beaucoup plus impactée que le reste du monde. Les profils enzymatiques retrouvés à Madagascar font figure d'exception par rapport à ce qui circule dans le reste du monde, et notamment avec le continent Européen où une large majorité de CTX-M du sous-groupe 1 est retrouvée. Là encore, la possibilité d'échanges relativement actifs ou privilégiés avec le compartiment humain transparait. Rappelons que les élevages porcins malgaches sondés relevaient aussi notamment de pratiques de type traditionnel.

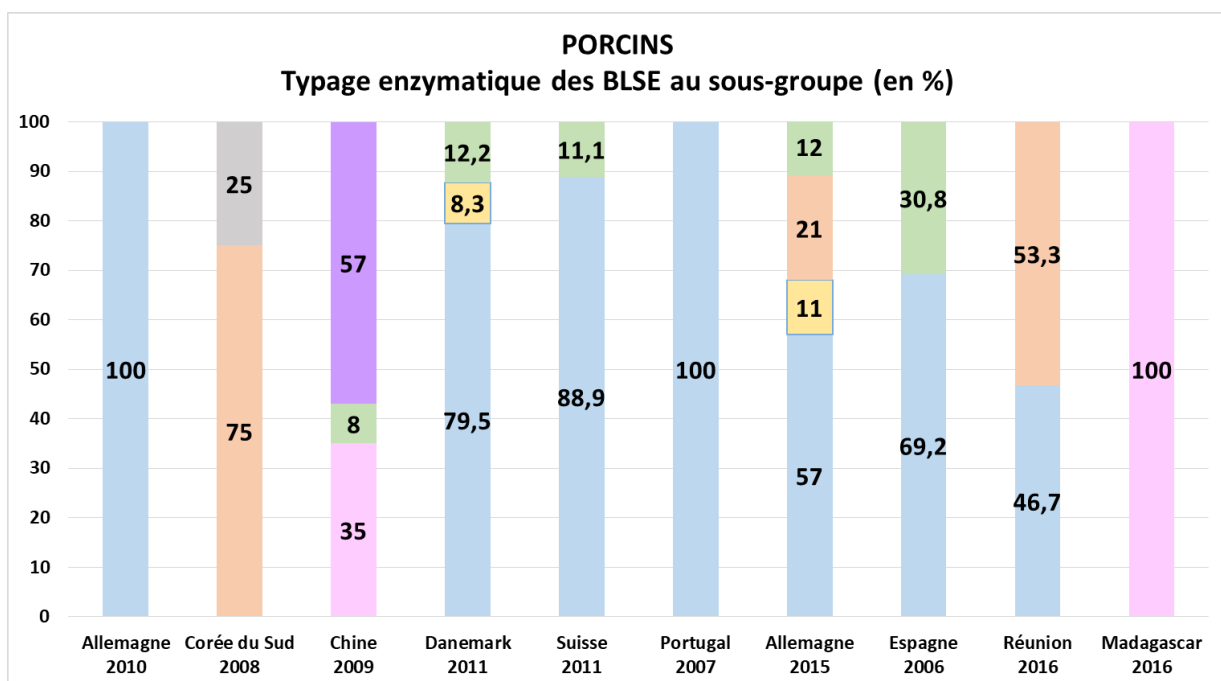
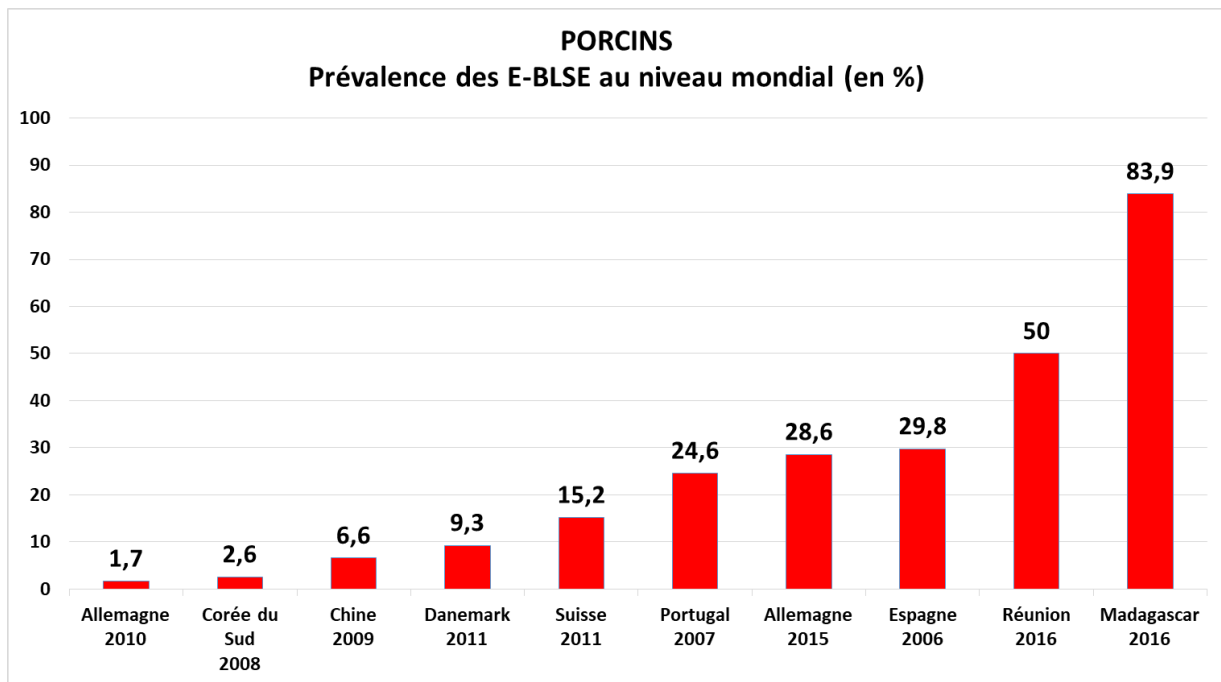


Figure 50 - Prévalence et typage des E-BLSE au niveau mondial (Porcs)

<ul style="list-style-type: none"> <li><span style="color: green;">■</span> Autres enzymes</li> <li><span style="color: blue;">■</span> CTXM – sous-groupe 1 (= groupe 1)</li> <li><span style="color: yellow;">■</span> CTXM – sous-groupe 14 (= groupe 9)</li> <li><span style="color: pink;">■</span> CTXM – sous-groupe 15 (= groupe 1)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><span style="color: purple;">■</span> CTXM – sous-groupe 22 (= groupe 3)</li> <li><span style="color: orange;">■</span> TEM</li> <li><span style="color: grey;">■</span> SHV</li> </ul>
--	--

D'un point de vue statistique, l'utilisation de produits détergents lors du **nettoyage des exploitations porcines** s'est avérée associée à une plus faible prévalence d'E-BLSE (OR=0,12 [0,02-0,75] p=0,02), ce qui s'entend parfaitement. L'observation stricte de process en matière d'hygiène et de désinfection apparaît comme une étape cruciale dans la gestion du péril bactérien et a déjà fait la preuve de son efficacité. (157)

D'un point de vue phénotypique, il apparaît que la diffusion des BLSE est très liée à celle d'autres gènes de résistance, ces derniers intervenant en tant que facilitateurs de co-sélection. (158) Il est donc intéressant de remarquer que les E-BLSE isolées dans les élevages de Mayotte et Madagascar ne dérogent pas à la règle : 91% des souches malgaches et 77% des souches mahoraises arboraient au moins une co-résistance.

Les filières avicoles malgache et mahoraise se sont d'ailleurs illustrées par leur niveau particulièrement élevé de résistance aux **tétracyclines**. Comme nous l'avons vu précédemment, cette famille d'antibiotiques est souvent utilisée en première intention dans le traitement des volailles et revêt plusieurs avantages. D'un point de vue pratique, les tétracyclines s'avèrent très commodes à utiliser en médecine vétérinaire. Administrables dans l'eau de boisson, de larges effectifs de volailles peuvent ainsi être traités. Les caractéristiques pharmacocinétiques mêmes de cette classe thérapeutique autorisent des durées de traitement relativement courtes chez les volailles (en moyenne 3 à 5 jours), et n'empêchent pas la commercialisation des œufs lorsqu'un traitement est initié chez les populations de poules pondeuses notamment. (159) Il s'agit par ailleurs d'une molécule ancienne et au demeurant très économique à l'usage (160).

Des niveaux significativement plus élevés de co-résistances à l'association **triméthoprim/sulfaméthoxazole** ont été spécifiquement retrouvés au sein des élevages malgaches comparativement à leurs homologues mahorais. Cela concernait aussi bien les élevages de bœufs (Madagascar ↔ Mayotte : p-value <0,01) que de volailles (Madagascar ↔ Mayotte : p-value=0,02). Bénéficiant d'un spectre d'activité large et d'un coût peu élevé, cette association synergique apparaît souvent comme un traitement probabiliste de recours aisé, toutes espèces confondues. (161) D'un point de vue pharmacocinétique, la distribution du triméthoprim/sulfaméthoxazole s'avère bonne dans la plupart des tissus et organes, mais impose théoriquement des temps d'attente avant commercialisation non-négligeables. Un traitement par triméthoprim/sulfaméthoxazole chez le poulet de chair implique pour illustration un délai supplémentaire avant commercialisation équivalent à 25% du temps consacré à son élevage, ce qui freine bien souvent son utilisation. La majorité des élevages malgaches sondés relevant pourtant de pratiques industrielles, les forts taux de résistance qui y sont spécifiquement retrouvés soulèvent dès lors la question du respect de ces considérations sanitaires.

<b>Espèce traitée :</b>	<b>Temps d'attente :</b>
<b>Volailles :</b> - viande : - oeufs :	12 jours ne pas utiliser pendant la ponte.
<b>Bœufs:</b> - viande : - lait :	5 jours 48 heures
<b>Porcs :</b>	12 jours

**Figure 51 - Temps d'attente en cas de traitement par Triméthoprim/Sulfaméthoxazole chez l'animal de rente (extrait des RCP ANSES applicables aux spécialités AMPHOPRIM / ADJUSOL)**

Aucune souche d'E-BLSE résistante aux **carbapénèmes** n'a pu être mise en évidence dans cette étude. Si un tel résultat s'entend aisément d'un point de vue réglementaire et se veut de prime abord rassurant (pour rappel, l'usage des carbapénèmes n'est pas autorisé en médecine vétérinaire), quelques observations viennent cependant nuancer nos propos. D'un point de vue analytique, la recherche d'éventuelles EPC au sein des prélèvements étudiés a essentiellement consisté en une mesure du diamètre critique de l'ertapénème pour l'ensemble des souches d'E-BLSE isolées. Il n'a cependant pas été réalisé de dépistage par gélose dédiée au diagnostic d'EPC (bioMérieux, CHROMID® Carba Smart notamment), dont les performances élevées se seraient mieux prêtées à la détection effective d'un tel phénotype de résistance, et notamment dans le cas des carbapénémases de classe D de la classification d'Ambler, type oxacillinase. Ces dernières présentent très souvent une sensibilité conservée aux C3G et échappent au dépistage par gélose de type ESBL. Même si les carbapénèmes ne sont pas autorisés en pratique vétérinaire, de nombreux articles commencent à faire état de leur présence au sein des élevages de rente sur les quatre continents. (162). A noter que l'épidémiologie des EPC dans la zone océan indien démontre une très large majorité de carbapénémases de classe B (type NDM) (163).

Aucune résistance plasmidique à la **colistine** n'a pu être mise en évidence à l'issue de ce travail. Cette affirmation est surtout valable pour les élevages de Madagascar grâce à la stratégie de screening par gélose SuperPolymyxine qui y a été spécifiquement appliquée. La réalisation d'une unique CMI colistine sur les souches d'E-BLSE mahoraises a possiblement sous-estimé la prévalence réelle des E-RPP au sein des élevages de l'île, et s'inscrit en tant que facteur limitant dans les conclusions que nous formulons ici. Cependant, il convient de noter que la majorité des souches animales d'entérobactéries MCR-1 isolées à ce-jour dans le monde démontre aussi

un phénotype BLSE (67), nous laissant espérer un impact moindre des considérations analytiques décrites pour Mayotte.

L'absence d'E-RPP au sein des élevages malgache et mahorais contraste avec les prévalences parfois élevées retrouvées ailleurs dans le monde, et justifierait la poursuite de nouvelles investigations : appliquer la stratégie de screening par géloses SuperPolymyxine à un nombre plus conséquent d'exploitations, élargir le spectre des filières animales testées, sonder d'autres îles de la zone océan indien (Comores, Maurice et Seychelles notamment).

Si aucune épidémie d'importance clinique majeure n'a encore été décrite chez l'homme, toutes les caractéristiques pour une diffusion efficace dans ce compartiment existent, laissant craindre le pire scénario dès lors qu'une pression de sélection sera appliquée. Cela suffit dès lors à justifier des efforts particuliers en matière de détection (stratégie de dépistage) et d'utilisation (usage rationalisé des polymyxines). Dans l'état actuel des connaissances, le HCSP recommande en France depuis septembre 2016 de tester la résistance à la colistine et de rechercher la présence de MCR-1 chez toutes les souches d'EPC isolées :

- soit lors du dépistage systématique à l'admission des patients aux antécédents d'hospitalisation hors territoire métropolitain dans l'année,
- soit dans un prélèvement à visée diagnostique dans un contexte nécessitant le recours à la colistine. En cas de recherche positive, les précautions complémentaires d'hygiène seront mises en place en plus des précautions standard, à l'instar de ce qui est recommandé pour les BHRé, et le signalement réalisé au CNR de la résistance aux antibiotiques. (164). Cependant, des cas de colonisation chez des patients de retour de voyage à l'étranger sans notion d'hospitalisation ayant déjà été rapportés, certains auteurs recommandent si les moyens du laboratoire le permettent, de dépister plus largement l'ensemble patients de retour de voyage à l'étranger à l'admission. Les personnes travaillant au contact des animaux d'élevage constitueraient de même une population à risque, à inclure dans ces stratégies de dépistage. (165)

Au total, ce sont de fortes homologues qui transparaissent entre les trois îles, non seulement en matière de prévalence des E-BLSE, mais aussi en ce qui a trait à la nature même des enzymes circulant au sein de chaque filière d'élevage. Si les cheptels avicoles et bovins de l'océan indien ont en effet tendance à s'accorder en genre et en diversité enzymatique, (large majorité de CTX-M du sous-groupe 15), les cheptels avicoles démontrent quant à eux une prédominance du sous-groupe M-1. Plus généralement transparaît l'idée d'un succès écologique de certains plasmides de résistance aux antibiotiques chez l'animal, et ce de façon transversale aux organisations professionnelles par filières. (166) Des investigations supplémentaires au niveau local apparaissent nécessaires pour affiner ces observations. L'augmentation des effectifs étudiés nous permettrait par exemple d'augmenter la puissance statistique nécessaire à l'identification d'éventuels facteurs de risque / protecteurs supplémentaires. Un élargissement du screening vers les autres compartiments d'antibiorésistance potentiels serait de même souhaitable pour mieux appréhender la répartition effective de ce phénomène. (environnement, animal de compagnie, faune sauvage) .

Les fortes prévalences d'E-BLSE retrouvées au sein des élevages de la zone océan indien contrastent clairement avec celles retrouvées au cours de cette revue de la littérature ailleurs dans le monde. De nombreux facteurs limitants empêchent une totale comparabilité de nos résultats, et nécessitent d'être précisés.

- D'un point de vue analytique tout d'abord, il convient de noter pour chaque prélèvement ayant démontré la présence de colonies suspectes après culture sur milieu ESBL, une seule colonie de chaque morphotype bactérien a servi à la réalisation de l'antibiogramme par méthode INOCLIC® (I2a Diagnostics), conformément aux recommandations alors formulées par le fabricant. Il aurait été cependant préférable de prélever plusieurs colonies afin de mettre en évidence d'éventuels antibiotypes différents partageant la même morphologie.

- L'ensemencement des géloses ESBL s'est réalisé conformément aux recommandations du fournisseur, mais n'a pas suivi le protocole appliqué par l'ANSES quant à l'identification d'E-BLSE en santé animale (incubation des géloses à 44°C pour diminuer l'influence des flores envahissantes (167). En pratique, il n'a pas été noté d'envahissement particulier des cultures après incubation empêchant potentiellement la croissance des E-BLSE d'intérêt. Dans tous les cas, le risque encouru se tournerait



vers une minoration des résultats, négligeable compte-tenu des prévalences très importantes que nous avons retrouvées.

- D'un point de vue statistique, l'effectif des souches caractérisées moléculairement par puce à ADN a été fixé à 10 par filière et par île. Avec le recul, cela s'avère probablement insuffisant et pourrait expliquer la faible diversité enzymatique retrouvée dans la plupart des élevages sondés. Bien que les biopuces soient des techniques performantes et relativement novatrices, elles s'avèrent encore coûteuses à l'achat et parfois laborieuses à mettre utiliser (personnel dédié).

- Peu d'études récentes ou synchrones à la collecte des échantillons de la zone océan indien (réalisée en 2016) ont pu effectivement être incluses dans ce travail. Compte-tenu de l'augmentation constante du phénomène de résistance anti-microbienne (décrite dans tous les compartiments), les prévalences observées au niveau mondial ont probablement été sous-estimées au moment des collectes pour notre étude (la majorité des études incluses dans cette bibliographie datant des années 2010-2011).  
(168)

- Aucune étude ne s'est attachée à estimer la prévalence des E-BLSE dans certaines zones géographiques d'importance en termes d'élevage, telles que l'Afrique, l'Inde et l'Amérique du Sud. Cela vient tout naturellement grèver les comparaisons ici effectuées. Il aurait pourtant été intéressant de confronter ces chiffres à ceux de pays partageant parfois les mêmes spécificités d'élevage, et plus largement le même niveau de développement économique-social.

# VI. Conclusion

Ce travail réalisé en collaboration avec les équipes vétérinaires du CIRAD vient concrétiser les linéaments de l'initiative « One Health » en tentant de dresser un « instantané » des prévalences constatées en matière d'antibiorésistance dans les élevages de la région Océan Indien, zone géographique où la prise de conscience de ce phénomène n'est pas encore factuelle. Tout comme le reste du monde, Madagascar et Mayotte n'échappent à l'augmentation de la résistance aux antimicrobiens, et seraient même plus concernées que la plupart des autres zones géographiques sondées à ce jour.

A défaut d'avoir la prétention de faire diminuer les prévalences observées en matière d'antibiorésistance, ce travail a pour vocation d'alerter et de sensibiliser les principaux intervenants en matière de santé humaine et animale à la nécessité de mettre en place des actions prioritaires au sein des élevages, guidées par les facteurs de risques qui ont ici pu être mis en évidence. L'utilisation de molécules antibiotiques animales (C3G, tétracyclines et triméthoprim/sulfaméthoxazole entre autres) demeure le principal facteur de risque d'E-BLSE, et a déjà été incriminé dans la plupart des études menées à ce sujet. (141) L'Homme trouve dès lors une responsabilité directe dans l'organisation des systèmes d'élevage qu'il met en place. L'usage des antibiotiques doit non seulement être raisonné, mais surtout drastiquement réduit. Traquer les usages abusifs est certes essentiel, mais reconsidérer les usages moins utiles doit aussi s'avérer factuel. D'autant plus lorsqu'il s'agit d'antibiotiques d'importance critique, intervenant parfois en dernier recours. Notons à ce titre qu'un usage plus modéré des antibiotiques en élevage a pourtant déjà fait la preuve d'un impact rapidement favorable sur les prévalences d'E-BLSE qui y seront ensuite observées. (169)

Bien entendu, cette volonté se conçoit plus facilement dans les élevages industriels et modernes, où le recours aux antibiotiques apparaît très souvent comme une composante indissociable des contraintes économiques attendant aux systèmes de production alimentaire actuels. L'impact de telles mesures est plus difficile à envisager dans les petites exploitations traditionnelles encore très fréquentes dans ces îles de l'Océan Indien, où la pratique de l'élevage s'entend avant tout comme un moyen de

subsistance. La promotion de certaines mesures de salubrité réalisables à bas coût y apparait cependant tout à fait envisageable (ex : défrichement).

L'antibiorésistance s'affiche ainsi comme un réel défi, arborant une complexité encore difficile à décrypter où le rôle spécifique de chacun des autres réservoirs nécessite une surveillance rigoureuse. Le contexte actuel de globalisation rend cette problématique d'autant plus difficile à appréhender et à contenir puisqu'elle favorise la dispersion des gènes de résistance à grande échelle. (170) La généralisation de ce type d'étude sur d'autres zones géographiques pour l'heure exemptes de toute politique de surveillance (continent africain notamment) devrait être encouragée. Dans la même optique, un élargissement du screening à d'autres mécanismes de résistance d'intérêt (entérobactéries productrices de carbapénèmase, *E. faecium* résistants aux glycopeptides et SARM notamment) peut être envisagé dans la zone Océan Indien.

De façon pragmatique, nous garderons à l'esprit pour l'heure que certaines situations de contact étroit entre le monde animal et humain peuvent constituer des voies de transmission privilégiées de l'antibiorésistance. Si chaque réservoir s'enrichit d'abord des gènes de résistance de son propre usage, le passage inter-réservoir existe, justifiant dès lors la promotion d'une surveillance renforcée de ce phénomène. (171) L'avènement du séquençage nouvelle génération (NGS) permettra probablement d'affiner notre discernement quant au sens de ces échanges. (172) Il deviendra dès lors intéressant de préciser l'environnement génétique attendant aux gènes de résistance que nous avons étudiés, pour les comparer à ce qui est retrouvé en particulier chez l'Homme.

Comme l'avait auguré Robert Virchow il y a 150 ans, tout cela ne peut se concevoir sans un rapprochement conjoint des deux principales sphères médicales : rassembler médecins et vétérinaires dans une lutte commune est nécessaire afin d'harmoniser à égale importance les protocoles de surveillance mis en place. Le ralliement à cette cause des pouvoirs politiques compétents en matière de santé publique ne semble pas non plus négociable puisqu'après tout, humain ou animal, il s'agit là d'une seule et même Santé.

# Références

1. Rapport de Santé Publique France. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée durable. Novembre 2016.
2. Déclaration de Keiji Fukuda (Sous-Directeur général de l'OMS pour la sécurité sanitaire). 27 mai 2015.
3. Gibbs E.. The evolution of One Health: a decade of progress and challenges for the future. Veterinary Record 2014;174, 85-91.
4. Fifth International Ministerial Conference on Avian and Pandemic Influenza (IMCAPI). 2007. New Delhi.
5. Figuié M, Peyre MI. Le concept "Une seule santé" : une réponse à l'incertitude dans la gouvernance internationale des zoonoses émergentes ? Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, 2013;v.66,n.2,p.41-46,ISSN 1951-6711.
6. Saunders L.Z. Virchow's contributions to veterinary medicine: celebrated then, forgotten now. Vet Pathol. 2000 May;37(3):199-207.
7. Bernard Vallat, Directeur Général de l'OIE. Editorial « Une seule santé » 2013
8. CDC. Antibiotic Resistant Threats in the United States. 2013.
9. CDC. One Health Basics. Article consulté sur <https://www.cdc.gov/onehealth/index.html> le 22 mars 2019.
10. 2009, EMA/ECDC. Technical Report: The bacterial challenge : Time to react. Available on: [https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0909TER\\_The\\_Bacterial\\_Challenge\\_Time\\_to\\_React.pdf](https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/0909TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf).
11. CDC. Antibiotic resistance threats in the United States. 2013.
12. Déclaration de Jim O'Neill (Secrétaire d'Etat britannique au Commerce). The Review on Antimicrobial Resistance. 2014.
13. Communication personnelle de Faye A. (Directeur de cabinet du Ministère du Commerce, de la Consommation, du Secteur informel et des PME). 2017.
14. CASFM, EUCAST 2016. Résistances naturelles aux antibiotiques.
15. AFSSA. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. Janvier 2006.
16. Van der Auwera P, Pensart N, Korten V et al. Influence of oral glycopeptides on the fecal flora of human volunteers : selection of highly glycopeptide-resistant enterococci. J Infect Dis. 1996 May;173(5):1129-36.

17. Résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale : actions en cours dans le secteur vétérinaire - P. Sanders - 2010 - MedSci -26 : 930-5.
18. Petsaris O, Miszczak F, Gicquel-Bruneau M. et al. Combined antimicrobial resistance in *Enterococcus faecium* isolated from chickens. *Appl Environ Microbiol*. 2005 May; 71(5): 2796–2799.
19. AFSSA. Communiqué de 2006.
20. Antibiorésistance : le passage animal - Homme, mythe ou réalité ? - Madec J.Y. - Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation - ANSES .
21. Botrel MA, Haenni M, Morignat E et al. Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhone-Alpes, France. *Foodborne Pathog Dis*. 2010 May;7(5):479-87.
22. Massot M, Picard B, Denamurabe E et al. Diversité des populations d'*Escherichia coli* et leurs variations au cours du temps au sein du microbiote intestinal. *Revue Francophone des Laboratoires*, Volume 2016, Issue 486, November 2016, p.35-43.
23. OMS. Antibacterial agents in clinical development – an analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis. Communiqué du 20 septembre 2017.
24. Doi Y, Iovleva A, Bonomo R. The ecology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the developed world. *J Travel Med*. 2017 Apr 1;24:S44-S51.
25. Karanika S , Karantanos T, Arvanitis M et al. Fecal colonization with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* and risk factors among healthy individuals: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2016; 63:310–8.
26. Pitout JD. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: a combination of virulence with antibiotic resistance. *Front Microbiol*. 2012; 3: 9.
27. Lewis JS, Herrera M, Wickes B et al. First report of the emergence of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) as the predominant ESBL isolated in a U.S. health care system. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Nov;51(11):4015-21.
28. Walther-Rasmussen J, Høiby N. Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Can J Microbiol*. 2004 Mar;50(3):137-65.
29. Cantón R, Novais A, Valverde A et al. Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Jan;14 Suppl 1:144-53.
30. Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB et al. Emergence of *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother*. 2005 Jul;56(1):52-9.
31. Decousser JW, Poirel L, Nordmann P. Characterization of a chromosomally encoded extended-spectrum class A  $\beta$ -lactamase from *Kluyvera cryocrescens*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Dec;45(12):3595-8.

32. Genetic support of extended-spectrum beta-lactamases - Poirel L. et al - 2008 - Clin Microbiol Infect.
33. Pai H, Kim MR, Seo MR et al. A nosocomial outbreak of Escherichia coli producing CTX-M-15 and OXA-30 beta-lactamase. Infect Control Hosp Epidemiol. 2006 Mar;27(3):312-4.
34. Oteo J, Pérez-Vázquez M, Campos J. Extended-spectrum -lactamase producing Escherichia coli: changing epidemiology and clinical impact. Curr Opin Infect Dis. 2010 Aug;23(4):320-6.
35. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis. 2008 Mar;8(3):159-66.
36. Dolejska M, Frolkova P, Florek M et al. CTX-M-15- producing Escherichia coli clone B2-O25b-ST131 and Klebsiella spp. Isolates in municipal waste water treatment plant effluents. J Antimicrob Chemother. 2011 Dec;66(12):2784-90.
37. Lahlaoui H, Ben Haj Khalifa A, Ben Moussa M. Epidemiology of Enterobacteriaceae producing CTX-M type extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL). Med Mal Infect. 2014 Sep;44(9):400-4.
38. Nicolas-Chanoine MH, Blanco J, Leflon-Guibout V et al. Intercontinental emergence of Escherichia coli clone O25: H4-ST131 producing CTX-M-15. J Antimicrob Chemother. 2008 Feb;61(2):273-81.
39. Rogers BA, Sidjabat HE, Paterson DL. Escherichia coli O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain. J Antimicrob Chemother. 2011 Jan;66(1):1-14.
40. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 2017 Aug 1;72(8):2145-2155.
41. Bevan ER, Jones AM, Hawkey PM. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. J Antimicrob Chemother. 2017 Aug 1;72(8):2145-2155.
42. Robin F, Beyrouthy R, Bonacorsi S et al. Inventory of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in France as assessed by a multicentric study. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Feb 23;61(3).
43. Padget M, Tamarelle J, Herindrainy P et al. BIRDY Study Group; A community survey of antibiotic consumption among children in Madagascar and Senegal. J Antimicrob Chemother. 2017 Feb;72(2):564-573.
44. Rasamoelisoa JM, Tovone XG, Andriamady C et al. Evaluation de l'utilisation des antibiotiques en milieu hospitalier pédiatrique - Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar; 1999;vol65issue1.

45. Chiarella Mattern. Thèse de docteur en sciences politiques et sociales: Le marché informel du médicament à Madagascar : une revanche populaire. 2017. Université Catholique de Louvain.
46. Randrianirina F, Soares JL, Carod JF et al. Antimicrobial resistance among uropathogens that cause community-acquired urinary tract infections in Antananarivo, Madagascar. *J Antimicrob Chemother.* 2007 Feb;59(2):309-12.
47. Randrianirina F, Vaillant L, Ramarokoto CE et al. Antimicrobial resistance in pathogens causing nosocomial infections in surgery and intensive care units of two hospitals in Antananarivo, Madagascar. *J Infect Dev Ctries.* 2010 Mar 8;4(2):74-82.
48. Andriatahina T, Randrianirina F, Hariniana ER et al. High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar. *BMC Infect Dis.* 2010; 10: 204.
49. Randrianirina F, Vedy S, Rakotovo D et al. Role of contaminated aspiration tubes in nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-2 and CTX-M-15 extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J Hosp Infect.* 2009 May;72(1):23-9.
50. Rakotonirina HC, Garin B, Randrianirina F et al. Molecular characterization of multidrug-resistant extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated in Antananarivo, Madagascar. *BMC Microbiol.* 2013 Apr 17;13:85.
51. Epidémiologie des souches d'entérobactéries productrices de BLSE à la Réunion - Robin F. et al - RICAI 2014 . Paris: Réunion Inter-disciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (2014). Available from: <http://www.ricai.fr/archives>.
52. Communication de l'ARS Océan Indien - Projet de Santé 2018-2017 - Schéma de Santé (SRS) 2018-2023 - Volet 3 - Mayotte.
53. Données du Réseau ATB-Raisin - 2014.
54. Batchelor M, Threlfall EJ, Liebana E. Cephalosporin resistance among animal-associated Enterobacteria: a current perspective. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005 Jun;3(3):403-17.
55. Ewers C, Bethe A, Semmler T et al. Extended-spectrum b-lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Jul;18(7):646-55.
56. Miltgen G, Cardinale E, Traversier N et al. Prévalence des E-BLSE chez les animaux d'élevage sur plusieurs îles de l'Océan Indien. Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse; (2014). Available from: <http://www.ricai.fr/archives>.
57. Ramin Mangata S, Jegou M, Naze F et al. Occurrence and characteristics of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae (E-ESBL) in poultry and pig farms, Reunion Island. Journées scientifiques qualiREG; 2016.
58. Biswas S, Brunel JM, Dubus JC et al. Colistin: an update on the antibiotic of the 21st century. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012 Aug;10(8):917-34.

59. Hayakawa K, Marchaim D, Divine GW et al. Growing prevalence of *Providencia stuartii* associated with the increased usage of colistin at a tertiary health care center. *Int J Infect Dis.* 2012 Sep;16(9):e646-8.
60. Zhiliang Y, Yuanning C, Wangrong Q et al. Polymyxin E Induces Rapid *Paenibacillus polymyxa* Death by Damaging Cell Membrane while Ca<sup>2+</sup> Can Protect Cells from Damage. *PLOS ONE* 10(8): e0135198.
61. Peptide antibiotics - Hancock RE et al -1997 - *Lancet*.
62. Velkov T, Thompson PE, Nation RL et al. Structure and activity relationships of polymyxin antibiotics. *J Med Chem.* 2010 Mar 11; 53(5): 1898–1916.
63. Velkov T, Roberts KD, Nation RL et al. Pharmacology of polymyxins: new insights into an ‘old’ class of antibiotics. *Future Microbiol.* 2013 Jun;8(6):711-24.
64. Powers JP, Hancock RE. The relationship between peptide structure and antibacterial activity. *Peptides.* 2003 Nov;24(11):1681-91.
65. Liu YY, Wang Y, Walsh TR et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* 2016 Feb;16(2):161-8.
66. Wang X, Wang Y, Zhou Y et al. Emergence of a novel mobile colistin resistance gene, *mcr - 8*, in NDM - 253 producing *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg Microbes Infect.* 2018 Jul 4;7(1):122.
67. Dortet L, Bonnon R, Jousset A et al. Emergence de la résistance à la colistine chez les entérobactéries : une brèche dans le dernier rempart contre la pan-résistance ! *Journal des Anti-infectieux.* 2016;18(4):139-159.
68. Shen Z, Wang Y, Shen Y et al. Early emergence of *mcr1* in *Escherichia coli* from food-producing animals. *Lancet Infect Dis.* 2016 Mar;16(3):293.
69. Kusomoto M, Ogura Y, Gotoh Y et al. Colistin-resistant *mcr-1*-positive pathogenic *Escherichia coli* in swine, Japan, 2007—2014. *Emerg Infect Dis.* 2016 Jul; 22(7): 1315–1317.
70. European Medicines Agency. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. EMA/231573/2016. Available on: <https://www.ema.europa.eu/en/documents>.
71. Liakopoulos A, Mevius DJ, Olsen B et al. The colistin resistance *mcr-1* gene is going wild. *J Antimicrob Chemother.* 2016 Aug;71(8):2335-6.
72. Giamarellou H. Epidemiology of infections caused by polymyxin-resistant pathogens. *Int J Antimicrob Agents.* 2016 Dec;48(6):614-621.
73. Malhotra-Kumar S, Xavier BB, Das AJ et al. Colistin resistance gene *mcr-1* harboured on a multidrug-resistant plasmid. *Lancet Infect Dis.* 2016 Mar;16(3):283-4.



74. Irrgang A, Roschanski N, Tenhagen BA et al. Prevalence of mcr-1 in E. coli from Livestock and Food in Germany, 2010—2015. PLOS ONE 11(7): e0159863.
75. Haenni M, Poirel L, Kieffer N et al. Co-occurrence of extended spectrum  $\beta$  lactamase and MCR1 encoding genes on plasmids. Lancet Infect Dis. 2016 Mar;16(3):281-2.
76. Perrin-Guyomard A, Bruneau M, Houée P et al. Prevalence of mcr-1 in commensal Escherichia coli from French livestock, 2007 to 2014. Euro Surveill. 2016;21(6).
77. Stein A, Raoult D. Colistin: an antimicrobial for the 21st century? Clin Infect Dis. 2002 Oct 1;35(7):901-2.
78. Castanheira M, Griffin MA, Deshpande LM et al. Detection of mcr-1 among Escherichia coli clinical isolates collected worldwide as part of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program in 2014 and 2015. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Aug 22;60(9):5623-4.
79. Poirel L, Kieffer N, Brink A et al. Genetic Features of MCR-1-Producing Colistin-Resistant Escherichia coli Isolates in South Africa. Antimicrob Agents Chemother. 2016 Jun 20;60(7):4394-7.
80. Leroy AG, Naze F, Dortet L et al. Plasmid-mediated colistin resistance gene mcr-1 in a clinical Escherichia coli isolate in the Indian Ocean Commission. Med Mal Infect. 2018 Sep;48(6):426-428.
81. Enquête prioritaire auprès des ménages malgaches - Institut National de la Statistique - 1999. Available on: [http://siteresources.worldbank.org/INTSTATINAFR/Resources/bulletin09\\_mdg\\_1999.pdf](http://siteresources.worldbank.org/INTSTATINAFR/Resources/bulletin09_mdg_1999.pdf).
82. Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt - Politiques agricoles à travers le monde - Fiche pays - Madagascar, 2015. Available on: [https://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/fichepays2014-MADAGASCAR\\_cle8433a6.pdf](https://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/fichepays2014-MADAGASCAR_cle8433a6.pdf).
83. Les comportements de l'éleveur et du zébu à Madagascar - Communication personnelle du Dr Ribot J.J (Vétérinaire). Available on: [http://madarevues.recherches.gov.mg/IMG/pdf/terre-mg21\\_4\\_.pdf](http://madarevues.recherches.gov.mg/IMG/pdf/terre-mg21_4_.pdf).
84. Le zébu, une richesse malgache en péril - Article de Presse MadaPlusInfo - 21 Juin 2012. Available on: [https://www.madaplus.info/Madagascar-Le-zebu-une-riche-esse-malgache-en-peril\\_a4721.html](https://www.madaplus.info/Madagascar-Le-zebu-une-riche-esse-malgache-en-peril_a4721.html).
85. Inter Réseaux Développement rural. Filières de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche, Actions du Ministère de l'Agriculture, de l'Élevage et de la Pêche. Available on: [http://www.inter-reseaux.org/IMG/pdf\\_207\\_Filiere\\_Aviculture\\_traditionnelle.pdf](http://www.inter-reseaux.org/IMG/pdf_207_Filiere_Aviculture_traditionnelle.pdf).
86. Collignan A, Petit T, Cardinale E. Rapport d'expertise de l'amélioration de la qualité des produits de volaille. Cirad/Université de la Réunion/INTERREGIIB. Available on: [https://agritrop.cirad.fr/526057/1/document\\_526057.pdf](https://agritrop.cirad.fr/526057/1/document_526057.pdf).
87. La filière avicole - Chambre de commerce et d'industrie d'Antananarivo - 2011.

88. Conférence « Agriculture et Pauvreté, Elevage et Pauvreté à Madagascar » - Eliane Ralison - 20 mars 2003. Available on: <http://www.ilo.cornell.edu/images/th5.4.pdf>.
89. Synthèse illustrée du recensement agricole 2010 - Données Agreste Mayotte – Juin 2011. Available on: [http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf\\_D97611A07.pdf](http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf_D97611A07.pdf).
90. Perspectives d'évolution du marché de l'œuf à Mayotte - DAAF - Données Agreste Mayotte - N°73 - Février 2017. Available on: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/D97618A02.pdf>.
91. Rapport filière poulet de chair à Mayotte - DAAF - Données Agreste Mayotte - Mars 2016. Available on: <http://agreste.agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/D97616A08.pdf>.
92. OMS - Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Communication de 2001. Available on: [https://www.who.int/drugresistance/WHO\\_Global\\_Strategy\\_English.pdf](https://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf).
93. Hollis A, Ahmed Z. Preserving Antibiotics -. N Engl J Med 2013; 369:2474-2476.
94. Définition du mot Antibiotique - Larousse 2018.
95. Définition du mot zootechnique proposée par le Centre National des Ressources Textuelles et Lexicales - 2018.
96. Weiss RA, McMichael AJ. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. Nat Med. 2004 Dec;10(12 Suppl):S70-6.
97. OIE. Stratégie pour la réduction des menaces biologiques. 2012. Available on: <http://www.oie.int/fr/expertise-scientifique/reduction-des-menaces-biologiques/strategie-de-loie-pour-la-reduction-des-menaces-biologiques>.
98. ANSES/ANMV. Rapport annuel 2018: Suivi des ventes d'antibiotiques vétérinaires en France en 2017. Available on: <https://www.anses.fr/fr/content/suivi-des-ventes-dantibiotiques-v%C3%A9t%C3%A9rinaires>.
99. Chardon H. Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes. Cahiers Sécurité Sanitaire Santé Animale. 2014.
100. OECD. The Use of Antimicrobials in the Livestock Sector . 2014. Available on: <https://www.oecd.org/tad/policynotes/antimicrobials-livestock-production.pdf>.
101. Corptet D.E Mechanism of Growth Promotion by Antimicrobial. Revue Médecine Vétérinaire, 2000, 151, 2, 99-104 .
102. Okumura J, Hewitt D, Salter DN et al. The role of the gut microflora in the utilization of dietary urea by the chick. British Journal of Nutrition, 36(2), 265-272.
103. Stewart LL, Kim BG, Gramm BR et al. Degradation of amino acids by the intestinal microflora of pigs, influence of nutritional doses of virginiamycin and spiramycin. J Anim Sci 2010.88:1718-1724. .

104. Michel MC, Boche S. Flore intestinale et métabolisme de l'azote. Influence de quelques substances antibiotiques. Annales de biologie animale, biochimie, biologie animale, biochimie, biophysique, 1961, 1 (2), pp.213-221.
105. Michel MC, Boche S. Métabolisme de la flore intestinale du porc : Dégradation des formes L et D des acides aminés. Annales de biologie animale, biochimie, biophysique, 1966, 6 (1), pp.33-46.
106. Moulin G. Annual report on the use of antimicrobial agents in animals. OIE. 2016. Available on: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our\\_scientific\\_expertise/docs/pdf/AMR/Survey\\_on\\_monitoring\\_antimicrobial\\_agents\\_Dec2016.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Our_scientific_expertise/docs/pdf/AMR/Survey_on_monitoring_antimicrobial_agents_Dec2016.pdf).
107. Rakotoharinome M, Pognon D, Randriamparany T et al. Prevalence of antimicrobial residues in pork meat in Madagascar. Trop Anim Health Prod. 2014 Jan;46(1):49-55.
108. Randrianomenjanahary RN. Investigation sur la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine aviaire commercialisés à Antananarivo (Madagascar) : cas du muscle et du foie. Thèse de Dcoteur Vétérinaire. 2006.
109. Article L. 243-2 du Code Rural et de la Pêche Maritime.
110. Article L. 241-1 du Code Rural et de la pêche maritime.
111. Arrêté du 22 juillet 2015 relatif aux bonnes pratiques d'emploi des médicaments contenant une ou plusieurs substances antibiotiques en médecine vétérinaire.
112. Journal officiel du 26 avril 2007 - Décret n° 2007-596.
113. Article L. 5142-4 du Code de la Santé Publique.
114. Article L. 5143-6 du Code de la Santé Publique.
115. Règlement n°470/2009 du Parlement Européen et du Conseil - 6 mai 2009.
116. Directive 70/524/CEE du Conseil du 23 novembre 1970 concernant les additifs dans l'alimentation des animaux - JOCE n°L270 du 14/12/1970.
117. Directive 87/153/CEE du Conseil du 16 février 1987 portant fixation de lignes directrices pour l'évaluation des additifs dans l'alimentation des animaux - JOCE n° L064 du 07/03/1987.
118. Rapport Bories et Louisot - Utilisation des facteurs de croissance en alimentation animale - Février 1998.
119. Corpet DE. Antibiotiques en élevage et résistances bactériennes: vers une interdiction? Revue Médecine Vétérinaire, 2000, 151, 2, 99-104 .
120. Bories G. Utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale. 1998 .

121. McEwen SA, Fedorka-Cray PJ. Antimicrobial use and resistance in animals. Clin Infect Dis. 2002 Jun 1;34 Suppl 3:S93-S106.
122. ECDC/EFSA/EMA. Second joint report on the integrated analysis of the consumption of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals. EFSA Journal 2017;15(7):4872.
123. Moulin G, Cavalié P, Pellanne I et al. A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. J Antimicrob Chemother. 2008 Sep;62(3):617-25.
124. Moulin G, Cavalié P, Pellanne I et al. A comparison of antimicrobial usage in human and veterinary medicine in France from 1999 to 2005. J Antimicrob Chemother. 2008 Sep;62(3):617-25.
125. AFSSA. Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine. 2006. Available on: <https://www.anses.fr/fr/system/files/SANT-Ra-ABR.pdf>.
126. 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.
127. Sanders P. L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. Bull. Acad. Vét. France — 2005 - Tome 158 - N°2 (137-141).
128. ANSES - Index des Médicaments vétérinaires autorisés en France- RCP des AMM centralisées - Dernière mise à jour du 14/02/2019- COLIVET 5 000 000 UI/ML.
129. OIE/ FAO. Codex Alimentarius. Limites Maximales de Résidus (LMR) et recommandations de gestion des risques (RGR) des résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments. 2018.
130. Anthony F, Acar J, Franklin A et al. Antimicrobial resistance: responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine. Rev Sci Tech. 2001 Dec;20(3):829-39.
131. Guide des bonnes pratiques de l'antibiothérapie en production animale - SNGTV - Version 25 septembre 2009. Available on: [https://www.sngtv.org/4DACTION/Telechargement\\_Action/Fichier3056.pdf](https://www.sngtv.org/4DACTION/Telechargement_Action/Fichier3056.pdf).
132. Arrêté du 22 juillet 2015 relatif aux bonnes pratiques d'emploi des médicaments contenant une ou plusieurs substances antibiotiques en médecine vétérinaire .
133. Chiffre du recensement communal – ILO 2001 - Ministère du tourisme d'Antsirabe.
134. Chiffres de la préfecture de Mayotte - Mise à jour le 17/10/2017.
135. Notice Biomérieux - ESBL. Available on: <http://www.biomerieux-diagnostics.com/chromidr-esbl>.

136. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance - Version 1.0, December 2013.
137. CLSI-EUCAST Polymyxin Breakpoints Working Group. Recommendations for MIC determination of colistin (polymyxin E). 2016.
138. Evaluation comparative du test de détermination de la sensibilité à la colistine UMIC® (Biocentric) chez *Pseudomonas aeruginosa* - Jeannot K. et al. - RICAI 2016 - CNR de la Résistance aux Antibiotiques.
139. Froelich JM, Tran K, Wall D. A *pmrA* constitutive mutant sensitizes *Escherichia coli* to deoxycholic acid. *J Bacteriol.* 2006 Feb;188(3):1180-3.
140. Manuel d'utilisation - Check-MDR CT103XL - Version 1.1, Issued 01-12-2015. Available on: [http://www.check-points.eu/downloads/manuals/Check-MDR\\_CT103XL\\_IFU\\_022-02\\_EN\\_01dec2015.pdf](http://www.check-points.eu/downloads/manuals/Check-MDR_CT103XL_IFU_022-02_EN_01dec2015.pdf).
141. Snow LC, Warner RG, Cheney T et al. Risk factors associated with extended spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* (CTX-M) on dairy farms in North West England and North Wales. *Prev Vet Med.* 2012 Oct 1;106(3-4):225-34.
142. Meunier D, Jouy E, Lazizzera C et al. CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int J Antimicrob Agents.* 2006 Nov;28(5):402-7.
143. Enquête prioritaire auprès des ménages malgaches - INSTAT Institut National de la Statistique - 1999.
144. Cochard et al. Estimation du portage d'Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération et productrices de BLSE chez les populations de *Rattus sp.* à La Réunion et à Mayotte en 2013-2014 et 2017. Mémoire de fin d'études. CIRAD.
145. Woerther PL, Burdet C, Chachaty E et al. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M. *Clin Microbiol Rev.* 2013 Oct;26(4):744-58.
146. Gonggrijp MA, Santman-Berends IMGA, Heuvelink AE et al. Prevalence and risk factors for extended-spectrum  $\beta$ -lactamase or AmpC-producing *Escherichia coli* in organic dairy herds in the Netherlands. *J Dairy Sci.* 2016 Nov;99(11):9001-9013.
147. Poirel L, Nordmann P, Ducroz S et al. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type ST274 in companion animals. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(5):2372–2375.
148. Weill FX, Lailier R, Praud K et al. Emergence of extended-spectrum-beta-lactamase (CTX-M-9)-producing multiresistant strains of *Salmonella enterica* serotype Virchow in poultry and humans in France. *J Clin Microbiol.* 2004 Dec;42(12):5767-73.

149. Girlich D, Poirel L, Carattoli A et al. Extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-1 in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry in France. *Appl Environ Microbiol*. 2007 Jul;73(14):4681-5.
150. Dorado-García A, Smid J1, Van Pelt W et al. Molecular relatedness of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from humans, animals, food and the environment: a pooled analysis. *J Antimicrob Chemother*. 2018 Feb 1;73(2):339-347.
151. Dierikx CM, van der Goot JA, Smith HE et al. Presence of ESBL/AmpC - Producing *Escherichia coli* in the Broiler Production Pyramid: A Descriptive Study. *PLoS One*. 2013 Nov 7;8(11):e79005.
152. Cariolet R, Callarec J, Cutertre C et al. Validation et gestion d'unités protégées en élevage porcin. 2000. Journées Rech. Porcine en France, 32, 25-32.
153. Pedersen B. K. Production in pigs raised in the same pen from narrow to finish or from weaning to finish. 2000. Communication personnelle. 16e Congrès IPVS.
154. Zhang X, Li Y, Liu B et al. Prevalence of Veterinary Antibiotics and Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in the Surface Water of a Livestock Production Region in Northern China. *PLoS One*. 2014 Nov 5;9(11):e111026.
155. Communiqué du Ministère de l'Environnement – Antibiorésistance et environnement - Février 2017.
156. Schwartz T, Kohnen W, Jansen B et al. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiol Ecol*. 2003 Apr 1;43(3):325-35.
157. Schmithausen RM, Kellner SR, Schulze-Geisthoevel SV et al. Eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and of Enterobacteriaceae Expressing ESBL on a Model Pig Farm. *Appl Environ Microbiol*. 2015 Nov;81(21):7633-43.
158. Morosini MI, García-Castillo M, Coque TM, et al. Antibiotic coresistance in extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(8):2695–2699. of tigecycline.
159. Fiche antibiotique TETRATIME® Poudre - Oxytétracycline, Substance active - Med'Vet - Mise à jour le 8 novembre 2017.
160. Sanders P. L'antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. *Bull. Acad. Vét. France* — 2005 - Tome 158 (137-141).
161. Hémonic A, Chauvin C, Correge I. Les utilisations d'antibiotiques en élevage de porcs : motifs et stratégies thérapeutiques associées. 2014. Journées Recherche Porcine, 46, 135-140.
162. Köck R, Daniels-Haardt I, Becker K et al. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2018 Dec;24(12):1241-1250.

163. Holman AM, Allyn J, Miltgen G et al. Surveillance of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the Indian Ocean Region between January 2010 and December 2015. *Med Mal Infect.* 2017 Sep;47(5):333-339.
164. Entérobactéries résistantes à la colistine : mesures pour les établissements de santé. HCSP – 27 septembre 2016.
165. Arcilla MS, van Hattem JM, Matamoros S et al. Dissemination of the mcr-1 colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis.* 2016 Feb;16(2):147-9.
166. Madec JY. Résistance aux antibiotiques chez l'animal : quel risque pour l'Homme ? *Journal des Anti-infectieux* 2013;15(4):178-186.
167. Isolement d'Escherichia coli producteurs de BLSE, AmpC et carbapénémase dans les caeca - Méthode d'analyse en santé animale - Version 02 - Février 2018.
168. Broad-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae of animal origin: molecular aspects, mobility and impact on public health -Smet A. et al - 2010 - FEMS Microbiol Rev.
169. Hammerum AM, Larsen J, Andersen VD et al. Characterization of ESBL-producing Escherichia coli obtained from Danish pigs,pig farmers and their families from farms with high or no consumption of cephalosporins. *JAntimicrob Chemother.* 2014 Oct;69(10):2650-7.
170. Al-Jasser A. Extended spectrum beta-lactamases (ESBL): a global problem. *Kuwait Med J.* 2006 38. 171-185.
171. Strommenger B, Kehrenberg C, Kettlitz C et al. Molecular characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains from pet animals and their relationship to human isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2006 Mar;57(3):461-5.
172. Ewers C, Bethe A, Semmler T et al. Extended-spectrum b-lactamase-producing and AmpC-producing Escherichia coli from livestock and companion animals, and their putative impact on public health. *Clin Microbiol Infect.* 2012 Jul;18(7):646-55.

# Risk factors of Extended-Spectrum $\beta$ Lactamase producing Enterobacteriaceae occurrence in farms in Reunion, Madagascar and Mayotte Islands, 2016–2017

Noellie Gay \*, Alexandre Leclaire, Morgane Laval, Guillaume Miltgen, Maël Jégo, Ramin Stéphane,  
Julien Jaubert, Olivier Belmonte and Eric Cardinale

Name and code of the farmer : ..... Territory :  
..... Date : / /16

Animal species	Herd size

## Building

Presence of a water source near	River	Pond	Purification station or other	None
If yes, distance from the farm	<100m	>100m		
Closed building	Yes	No		
Concrete access to building	Yes	No		
More than one building	Yes	No		
if Yes  Building number in the exploitation	1	2	≥2	



Age of the livestock exploitation				
Other livestock species in the farm	No	Cow	Pig	Poultry
Distance from another farm (same species)	< 500 m		> 500 m	
Distance from another farm (other species raised)	< 500 m		> 500 m	
If Yes Type of species	Cow		Pig	Other :
Vegetable production on the farm	Yes	No	Type :	
Clean condition around the farm	Yes	No		

## Hygiene and biosecurity

<b>Hygiene measure</b>			
Presence of a vestibule at building entrance	Yes	No	
Boot bath at building entrance	Yes	No	
Presence of a lavabo closeby	Yes	No	Showers ?
Change of work clothes at building entrance	Yes	No	
Change of shoes/boots at building entrance	Yes	No	
Clothes and shoes	Durty	Clean	
Entrance frequency in the building by day	≤3	4	>4
Other farmers visiting the exploitation	Yes	No	
Share equipement with an other exploitation	Yes	No	
Share workers with an other exploitation	Yes	No	
Boot bath at building entrance	Yes	No	
Respect of biosecurity measures	Yes	No	
<b>Rendering</b>			
Management of dead livestock	Consumption	Buried	Burned
			Thrown

<b>Water</b>				
Type of water used in the exploitation	Public	River	Rain	
			Other: well, etc.	
Water storage presence	Yes	No		
Potable quality control	Yes	No		
Water filtration	Yes	No		
Water treatment	Yes	No		
Water quality control	Yes	No		
Cleaning of water pipes	Yes	No	No pipes	
<b>Vector control</b>				
Rodent presence	Yes	No		
Rodent control	None	By farmer	By a society	
If yes Type of control	Poison	Traps	Other :	
Clearing around the farm	Yes	No		
Desinfestation	Yes	No		
Pet presence in the farm	Yes	No	Species :	
Could bird enter the building	Yes	No		
Presence of flies	Elevated	Moderate		
<b>Quarantine</b>				
If buying breeding stock				
Quarantine before entering the stock	Yes	No		
Quarantine in a different building	Yes (>50m)	Yes (10-50m)	No	

All in all out practice	Yes	No	
Cleaning before next batch	Yes	No	
<b>Effluents</b>			
Manure storage on exploitation	Yes		No
Spreading of the manure on the exploitation	Yes		No
Si Yes			
Distance from the farm			
Spreading of the manure on another farm	Yes		No
<b>Cleaning and disinfection</b>			
Scraping manure	Yes	No	
Soaking surface	Yes	No	
Water use for cleaning	Public	River	rain Other :
Detergent use for cleaning	Yes	No	
Cleaned surfaces	Ground	Ceiling	Wall
		Through	
Application	Bucket	Sprayer	Lather Other :
Pickling	Yes	No	
Lightning in the building	Good	Moderate	Bad
Crawlspace	Yes	No	
Two desinfectations	Yes	No	
Clean condition around the farm	Clean	Durty	

**B – Antibiotic use :**

➤ **Motivation** : Therapeutic Prophylactic

**Last antibiotic treatment :** <1 year >1 year

**Antibiotic use in :** previous livestock sampled one



## SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

**Titre : Prévalence et caractérisation phénotypique et génotypique des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE) dans les élevages de rente de Mayotte et Madagascar.**

**Introduction:** La présence des Entérobactéries productrices de Bêta-Lactamase à Spectre Elargi (E-BLSE) en élevage de rente a largement été rapportée dans le monde. Les E-BLSE représentent actuellement l'une des principales menaces dans le traitement des infections, tant chez l'homme que chez l'animal. Peu de données ayant trait à l'antibiorésistance en élevage existent lorsqu'il s'agit de territoires éloignés tels que la zone Océan Indien. L'objectif de cette étude était d'évaluer la prévalence des E-BLSE et de caractériser les souches impliquées dans les élevages de rente de deux îles de cette région : Madagascar et de Mayotte. **Méthodes:** 133 élevages ont été sondés à l'aide de pédi-chiffonnettes. Les principales filières animales ont été ciblées [Madagascar : bovins (n=31) volailles (n=30) porcins (n=30) ; Mayotte : bovins (n=19) volailles (n=23)]. Les exploitations microbiologiques ont brièvement consisté en une caractérisation phénotypique des E-BLSE (co-résistances notamment) suivie d'une identification moléculaire des enzymes impliquées. **Résultats:** De fortes prévalences en E-BLSE ont été retrouvées dans toutes les filières sondées [Madagascar : cattle (64,5%) poultry (70%) pigs (83,9%) ; Mayotte : cattle (68,4%) poultry (73,9%) ]. CTX-M15 apparaît comme le sous-type enzymatique le plus répandu au sein des élevages bovins et porcins, tandis que la filière avicole démontrait une majorité de CTX-M1. De forts niveaux de co-résistances ont été mis en évidence, mais aucune souche présentant une résistance plasmidique à la colistine de type MCR-1 n'a pu être identifiée. **Discussion:** Cette étude est la première à chiffrer la prévalence des E-BLSE au sein des élevages dans ces deux îles. Les forts niveaux d'antibio-résistance observés renforcent la possibilité d'un réservoir animal à ce phénomène. La caractérisation moléculaire des souches isolées permet quant à elle d'ouvrir des pistes quant à l'origine d'un tel phénomène.

**Mots-clés :** Océan Indien ; Entérobactéries productrices de Bêta-Lactamase à Spectre Elargi; Antibio-Résistance ; One Health ; Elevage ; *mcr-1*.

**Title : Prevalence and characterization of the Extended-Spectrum Beta-Lactamase producing Enterobacteriaceae (E-ESBL) in the livestock farms of Mayotte and Madagascar islands.**

**Introduction:** The presence of Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae (E-ESBL) in livestock farming has been widely reported in several countries. E-ESBL are currently considered as one of the main threats for the treatment of infections in both humans and animals. However, data for distant territories such as Indian Ocean are very scarce. In this study, we aimed to assess the animal E-ESBL prevalence and characterize the strains involved in Madagascar and Mayotte islands. **Methods:** 133 livestock farms were sampled using boot swabs. The main livestock sectors were targeted [Madagascar : cattle (n=31) poultry (n=30) pigs (n=30) ; Mayotte : cattle (n=19) poultry (n=23) ]. The microbiological investigations consisted in a phenotypical characterization of the ESBL strains (e.g co-resistances) and a molecular identification of the involved enzyme. **Results:** High prevalences were observed in all the production sectors [Madagascar : cattle (64,5%) poultry (70%) pigs (83,9%) ; Mayotte : cattle (68,4%) poultry (73,9%) ]. CTX-M15 subtype was the most common in the cattle and pigs farms whereas CTX-M1 were more associated with poultry holdings. High level of co-resistances were highlighted, but no MCR-1 resistance. **Discussion:** This study was the first to cipher the E-ESBL resistance in these two islands. The high prevalences found reinforce the possibility of an animal reservoir with antimicrobial resistance, and the molecular characterization provides interesting discussion tracks to its origin.

**Keywords :** Indian Ocean ; Extended-Spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae ; Antimicrobial resistance ; One Health ; Livestock ; *mcr-1*.