

**Faculté de pharmacie
et des sciences biomédicales**

L'usage des antibiotiques à bêta-lactame chez le bovin

Auteur : Augustin Jodogne

Promotrice: Bénédicte Callens

Année académique 2020-2021

Master en sciences pharmaceutiques à finalité spécialisée

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont aidé dans la rédaction de ce travail.

Ma promotrice, Bénédicte Callens, qui a accepté d'encadrer un étudiant sans jamais ne l'avoir rencontré. De par sa disponibilité hors pair et ses années d'expérience dans le domaine, elle était la personne la plus qualifiée pour me guider dans cette science que je ne connaissais pas. Elle n'a jamais cessé de le faire avec gentillesse et patience.

Ma lectrice, Isabelle Donnay pour ses suggestions et retours autant détaillés que bien fondés.

Mes correspondants, Marc de Falleur de l'INAMI et Cécile Boland de Sciensano pour leur aide et tout le temps qu'ils m'ont accordé face à mes demandes d'accès aux archives.

Mes parents, qui sont présents depuis le début, qui n'ont jamais cessé de l'être et grâce à qui j'ai pu me lancer dans ces magnifiques études.

Ma compagne, Florence, pour son soutien toujours irréductible à travers confinements et déconfinements.

Attestation de non-plagiat

Je déclare sur l'honneur que ce mémoire a été écrit de ma propre plume, sans avoir sollicité d'aide extérieure illicite, qu'il n'est pas la reprise d'un travail présenté dans une autre institution pour évaluation, et qu'il n'a jamais été publié, en tout ou en partie. Toute les informations (idées, phrases, graphes, cartes, tableaux...) empruntées ou faisant référence à des sources primaires ou secondaires sont référencées adéquatement selon la méthode universitaire en vigueur. Je déclare avoir pris connaissance et adhérer au Code de déontologie pour les étudiants en matière d'emprunts, de citations et d'exploitation de sources diverses et savoir que le plagiat constitue une faute grave.

Table des matières

| | |
|--|----|
| Introduction et objectifs du travail | 1 |
| Méthodes | 2 |
| I) <u>Les antibiotiques à bêta-lactame</u> | 4 |
| a) <u>L'arsenal thérapeutique bovin</u> | 4 |
| 1. Les benzylpénicillines..... | 5 |
| 2. Les aminopénicillines..... | 5 |
| 3. Les associations à l'acide clavulanique..... | 6 |
| 4. Les céphalosporines..... | 6 |
| b) <u>Pharmacodynamie</u> | 8 |
| c) <u>Pharmacocinétique</u> | 9 |
| 1. Administration..... | 9 |
| 2. Distribution..... | 11 |
| 3. Métabolisme..... | 12 |
| 4. Excrétion..... | 12 |
| 5. Effets indésirables, contre-indications, interactions..... | 13 |
| 6. Discussion..... | 14 |
| II) <u>Généralités</u> | 16 |
| a) <u>Une nouvelle tendance dans l'élevage</u> | 16 |
| b) <u>Analyse de la situation en Belgique</u> | 17 |
| 1. L'élevage bovin..... | 17 |
| 2. La vente d'antibiotiques vétérinaires en Belgique..... | 18 |
| 3. La lutte contre l'antibiorésistance en Belgique..... | 18 |
| 4. L'utilisation d'antibiotiques vétérinaires à bêta-lactame en Belgique..... | 20 |
| 5. L'utilisation d'antibiotiques à bêta-lactame chez le bovin en Belgique..... | 23 |
| 6. Discussion..... | 23 |
| c) <u>La situation en Europe et dans le monde</u> | 27 |
| 1. L'utilisation d'agents antimicrobiens vétérinaires dans le monde..... | 27 |
| 2. L'utilisation d'antibiotiques vétérinaires en Europe..... | 28 |
| 3. L'utilisation des bêta-lactamines en Europe..... | 29 |
| III) <u>La prise en charge thérapeutique du bovin</u> | 30 |
| a) <u>Soigner les bovins malades</u> | 30 |
| b) <u>L'approche prophylactique et métaphylactique</u> | 32 |
| IV) <u>La résistance bactérienne et ses risques</u> | 34 |
| a) <u>Mécanismes de résistance aux antibiotiques à bêta-lactame</u> | 34 |
| 1. Les pompes à efflux..... | 34 |
| 2. L'imperméabilisation..... | 35 |
| 3. L'inactivation enzymatique..... | 36 |
| 4. Les modifications de la cible..... | 37 |
| b) <u>Les zoonoses</u> | 39 |
| c) <u>La transmission latérale</u> | 41 |
| d) <u>Discussion</u> | 42 |
| <u>Conclusion</u> | 43 |
| <u>Liste des abréviations</u> | 44 |
| <u>Bibliographie</u> | 45 |
| <u>Annexes</u> | 50 |
| <u>Résumé</u> | 54 |

Introduction et objectifs du travail

Les antibiotiques à bêta-lactame sont cruciaux en médecine vétérinaire au même titre qu'en médecine humaine. Cette classe d'antibiotiques est symbolique dans l'antibiorésistance, d'une part parce qu'ils sont parmi les plus anciens de la médecine mais, surtout, parce qu'ils regroupent à la fois des molécules de première intention administrées en grandes quantités comme les pénicillines à large spectre et des molécules dites "critiques", à savoir les céphalosporines de troisième et quatrième générations, dont la préservation de l'efficacité est une priorité d'ordre planétaire.

Les propriétés pharmacologiques des antibiotiques à bêta-lactame chez les bovins sont peu différentes de celles chez l'Homme, toutefois les résidus d'antibiotiques dans le lait et la viande issus de l'industrie agro-alimentaire bovine sont à prendre en compte. Leur présentation se fera donc afin de comprendre ces enjeux et ceux de l'antibiorésistance. D'un point de vue microbiologique, une analyse de la connaissance actuelle des zoonoses avec le bovin sera également entreprise.

La situation actuelle en Belgique par rapport à l'antibiorésistance n'est pas un phénomène isolé, mais plutôt le reflet d'une tendance mondiale. Afin de comprendre les enjeux de la lutte contre l'antibiorésistance en Belgique et de la nouvelle approche du "*One Health*", un parallèle avec la situation en Europe et dans le monde est nécessaire et sera donc effectué en profondeur.

On distingue trois raisons d'utiliser des antibiotiques chez les bovins (Snary et coll., 2004 [5]). La première est l'usage curatif. Le but est de guérir un animal malade afin de restaurer son bien-être et de préserver celui du troupeau, mais aussi de réduire les pertes financières liées à leur incapacité à produire. Le deuxième usage est métaphylactique. Face au risque qu'un animal malade contamine le restant du troupeau, une antibiothérapie est mise en place pour tous les animaux exposés à l'animal malade. Le troisième usage est prophylactique. Même si aucun animal n'est atteint, parfois le risque de développement de maladies est si grand qu'une antibiothérapie est instaurée d'emblée. Cette utilisation concerne particulièrement la vache dans le cadre de la prévention des infections associées au tarissement, qui induisent des pertes économiques conséquentes, et, chez le veau pour la

prévention des diarrhées néo-natales qui sont souvent fatales. Il existe également un quatrième usage, surnommé AGP (“Antimicrobial growth promoters”), qui n’est plus d’actualité en Belgique mais qui l’a été et l’est encore dans diverses zones du globe. Nous évoquerons ses fondations et la raison pour laquelle il doit disparaître. Ce sont ces trois derniers usages, de par leur manque de spécificité par rapport aux germes impliqués qui engendrent le plus d’émergence de souches bactériennes résistantes.

L’objectif de ce travail ne sera pas de démontrer un phénomène mais plutôt de croiser et de remettre en question chaque source disponible afin d’en tirer un avis compréhensif et critique sur la situation passée et actuelle du problème. Notre analyse consistera donc à présenter les données disponibles afin de répondre aux questions suivantes : la surveillance de l’utilisation d’antibiotiques chez le bovin est-elle appropriée par rapport à la taille du problème ? Quels sont les risques concrets discernables pour l’Homme associés à l’usage des antibiotiques à bêta-lactame chez le bovin ?

Méthodes

Nos sources seront essentiellement constituées de rapports annuels publiés par les organismes en charge de surveiller l’antibiorésistance chez les animaux (BAPCOC, EMA, AFSCA, AFMPS, AMCRA, ARSIA, BelVet-SAC, KCE, OECD, Sciensano). Un maximum de rapports seront analysés, comparés et critiqués dans leur contexte. Ces organismes n’étant apparus qu’à partir de l’an 2000 en Belgique, nous prendrons cette année comme point de départ. Toutefois des rapports plus anciens seront évoqués à l’échelle internationale. Les informations originaires de sites internet seront au maximum limitées, avec une exception pour les sites officiels et/ou agréés. Certaines données plus spécifiques et non publiées ont également été récoltées par correspondance avec des responsables, notamment de l’AFMPS et de l’INAMI. Notre attention porte sur l’usage des antibiotiques à bêta-lactame chez les bovins et nous ciblerons ces critères en priorité. Néanmoins il arrive que les données disponibles ne concernent que les bêta-lactames ou que les bovins, notamment à l’échelle de l’Europe et du monde. Ces données plus générales seront tout de même analysées quand ce sera nécessaire pour l’analyse des enjeux.

Les données pharmacologiques des antibiotiques à bêta-lactame seront regroupées à partir des Résumés des Caractéristiques du Produit (“RCP”) des spécialités concernées. Ces données seront complétées au nécessaire par d’autres sources comme drugbank.com. L'analyse des risques de zoonose et des transferts génétiques latéraux sera réalisée à partir des études et revues disponibles relatives aux bêta-lactamines et aux bovins.

Nous ne nous intéressons pas à une catégorie de bovin en particulier. La distinction entre les bovins (vaches viandeuses, vaches à lait, vaches allaitantes, taureaux, veaux) sera faite quand ce sera justifié.

Etant donné que beaucoup d’informations sont issues de rapports annuels et de RCP, par souci de lisibilité, le style de citation “numéré” a dû être employé. Toutefois les articles scientifiques seront également référenciés selon les règles de l’art.

Les mesh employés dans notre recherche sont les suivants: “cattle”, ”cow”, “veal”, ”bovine”, “beta-lactam”, ”amoxicilline”, “ampicillin”, “penicillin”, “cephalosporin”, “biodisponibility”, “mastitis”, “milk”, “zoonotic”, “antimicrobial”, “resistance”, “BLSE”, “rumen”, “prophylaxy”, “MRSA”, “residue”, “transfer”, “plasmid”.

I) Les antibiotiques à bêta-lactame

a) L'arsenal thérapeutique bovin

Les antibiotiques à bêta-lactame sont utilisés à vaste échelle pour le traitement de pathologies chez les bovins. Ils sont notamment utilisés en première intention dans le traitement de la mammite et en deuxième intention dans les affections gastro-intestinales. Il existe 91 spécialités à base d'antibiotiques à bêta-lactame sur le marché en Belgique. Trente de ces spécialités sont destinées au bovins: 8 benzylpénicillines, 5 aminopénicillines, 4 associations à base d'acide clavulanique et 13 céphalosporines.

Ces préparations sont affiliées à un code tricolore sur base de critères microbiologiques reprenant les spectres des mécanismes de résistance, les possibilités de transfert entre bactéries des gènes de résistance et l'importance de ces résistances en médecine humaine [6]. Ce code tricolore est établi par l'AMCRA vise à sensibiliser face à l'utilisation abusive d'antibiotiques critiques (céphalosporines de troisième et quatrième générations classées "rouge"). Il a été intégré dans la législation belge dans l'Arrêté Royal du 21 juillet 2016. Les RCP de ces spécialités rouges "critiques" font part de cette couleur et ont intégré dans leur notice un encadré d'avertissement quant au risque de résistance.

L'utilisation de spécialités classées "jaune" ne doit pas nécessairement être justifiée par les résultats d'un test microbiologique ou antibiogramme. Pour les spécialités classées "orange", un test microbiologique ou antibiogramme doit être réalisé pour assurer l'efficacité de la spécialité sur le pathogène, mais en l'absence d'examen, les résultats de tests antérieurs à un an pour le même élevage peuvent être utilisés. Les spécialités classées "rouge" nécessitent un test microbiologique ou antibiogramme qui démontrent l'efficacité de la substance et l'inefficacité des substances alternatives. En l'absence de ces tests l'utilisation d'un antibiotique classé "rouge" n'est pas justifiée.

Toutes les spécialités à base de bêta-lactame et destinées aux bovins ont été regroupées par sous-classes dans un tableau disponible en annexe (figure 1). Pour chaque spécialité, le code couleur AMCRA, le principe actif, la voie d'administration, le dosage, le temps de demi-vie, la concentration plasmatique maximale, le taux de liaison plasmatique, le délai d'attente

avant consommation de la viande ou du lait, ainsi que le spectre antibactérien (quantifié par la CMI90: la concentration minimale du produit pour laquelle 90% de la croissance des germes est inhibée) sont affichés tels qu'ils sont présentés dans les Résumés des Caractéristiques du Produit. Les cases noircies correspondent à des données manquantes dans les RCP. La présentation par sous-classe ci-dessous a également été réalisée à partir des RCP et complétée avec la base de données online Drugbank quand nécessaire.

1. Les benzylpénicillines

Les benzylpénicillines sont classées “jaune” selon le l'AMCRA. Cette classe compte deux substances actives: le pénéthamate, un ester de benzylpénicilline destiné au traitement intramusculaire des mammites et la benzylpénicilline procaine, une formulation à longue durée d'action commercialisée sous forme de suspension injectable intramusculaire.

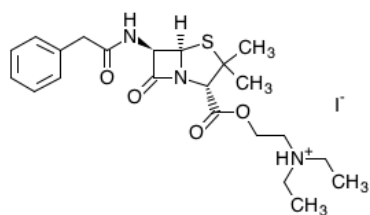


Figure 2: structure du pénéthamate

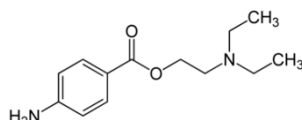
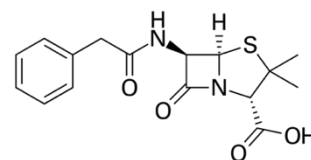


Figure 3: structure de la benzylpénicilline procaine



Ils sont tous les deux destinés à lutter contre les bactéries gram positif comprenant *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Trueperella pyogenes*, *Erysipelothrix rhusiopathiae*, *Listeria* spp., ainsi que certaines bactéries gram négatif (*E.coli*, *Pasteurella multocida*, *Fusobacterium necrophorum*). Leur activité est amoindrie voire nulle contre les bactéries gram négatif productrices de bêta-lactamases telles que certaines souches d' *E.coli* (ESBL) ainsi que chez certaines bactéries gram positif tels que le staphylocoque doré résistant à la méthicilline (MRSA).

2. Les aminopénicillines

Les aminopénicillines sont classées “orange” par l'AMCRA, témoignant de la nécessité à limiter leur usage dans la mesure du possible. Elles présentent un spectre plus réduit pour les bactéries gram positif mais qui s'étend à plus de bactéries gram négatif, à savoir notamment les entérobactéries telles que *E.coli*, *Salmonella enterica* et *Proteus* spp.. Elles trouvent leur

utilité de par ce spectre plus étendu, notamment pour le traitement d'infections gastro-intestinales, respiratoires, uro-génitales ainsi que pour les plaies et infections cutanées. Elles sont également non-efficaces pour le traitement de bactéries productrices de bêta-lactamases.

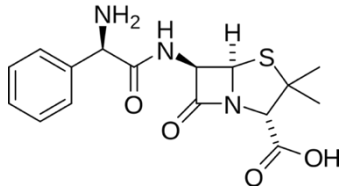


Figure 4: structure de l'ampicilline

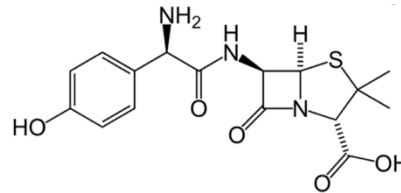


Figure 5: structure de l'amoxicilline

3. Les associations à l'acide clavulanique

L'acide clavulanique est un inhibiteur des bêta-lactamases, enzymes bactériennes capables de réduire l'activité des antibiotiques à bêta-lactame en clivant leur cycle. Les associations d'amoxicilline et d'un inhibiteur de bêta-lactamases tel que l'acide clavulanique ne sont indiquées que lors d'une présence démontrée ou suspectée de bêta-lactamases, courants chez les coliformes. En pratique, la spécialité intramusculaire n'est pas commercialisée; seule la forme injectable intramammaire pour le traitement des mammites et les comprimés per os pour traiter l'entérite néonatale bactérienne chez le veau sont actuellement disponibles en Belgique.

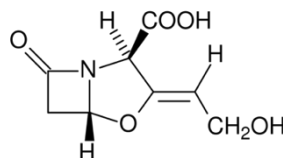


Figure 6: structure de l'acide clavulanique

4. Les céphalosporines

Les céphalosporines présentent un noyau bêta-lactame condensé avec un cycle dihydrothiazine, appelé noyau "céphème". Leur spectre d'activité comprend les bactéries gram positif, mais aussi négatif. Elles sont différenciables en 5 générations selon leur ordre d'apparition en médecine mais seules des spécialités de première, troisième et quatrième générations sont disponibles chez les bovins.

Les céphalosporines de première génération sont classées "jaune" par l'AMCRA. Leur spectre d'activité concerne majoritairement les bactéries à gram positif (essentiellement

streptocoques et staphylocoques non résistants à la méthicilline) et dans une moindre mesure les bactéries à gram négatif (*E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp.*,...). La céfazoline n'est disponible que sous forme injectable intramammaire pour traiter les mammites tandis que la céfalexine est disponible en injection intramusculaire (notamment pour le traitement des plaies et abcès, mais aussi les mammites par voie systémique).

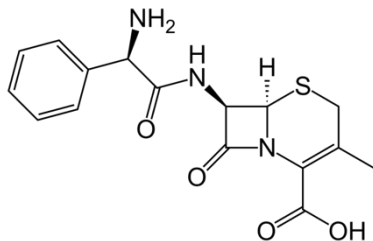


Figure 7: structure de la céfalexine

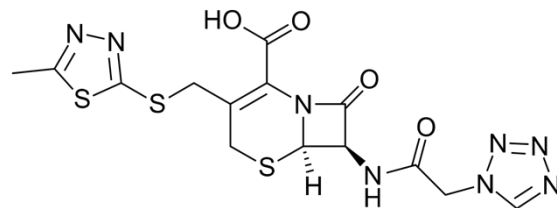


Figure 8: structure de la céfazoline

La seule céphalosporine de troisième génération disponible est le ceftiofur. Il est classé "rouge" par l'AMCRA, témoignant de la nécessité à maintenir son utilisation au strict minimum. Il présente un spectre élargi à de nombreuses bactéries à gram négatif (*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp.*, *Pasteurella spp.*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter spp.*, ...) en plus de son activité face aux bactéries à gram positif qui est semblable à celle des céphalosporines de première génération.

La seule céphalosporine de quatrième génération disponible est le cefquinome. Comme le ceftiofur, il est classé "rouge" par l'AMCRA. Il présente un spectre similaire au ceftiofur mais présente une activité encore supérieure à ce dernier face aux bactéries à gram positif.

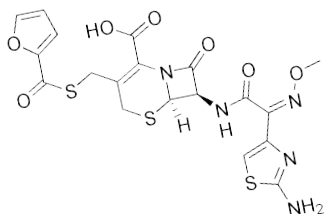


Figure 9: structure du ceftiofur

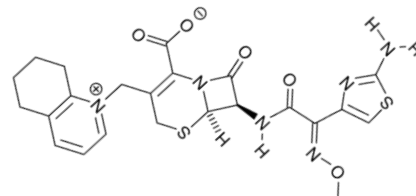


Figure 10: structure du cefquinome

Les pénèmes, penams et monobactams n'ont pas leur place dans l'arsenal thérapeutique vétérinaire.

b) Pharmacodynamie

Les bactéries présentent une paroi externe à la bicouche lipidique. Cette paroi, qui est plus épaisse chez les bactéries gram positif, est constituée de peptidoglycane: un polymère de sucres et d'acides aminés (un N-acétylglucosamine et un acide N-acétyl muramique qui est lié à un pentapeptide et à deux résidus D-alanine). Cette couche est essentielle au maintien de la pression osmotique dans la bactérie (Williamson et coll.,1986 [7]).

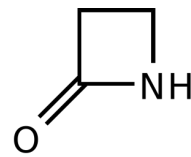


Figure 11: structure du noyau bêta-lactame

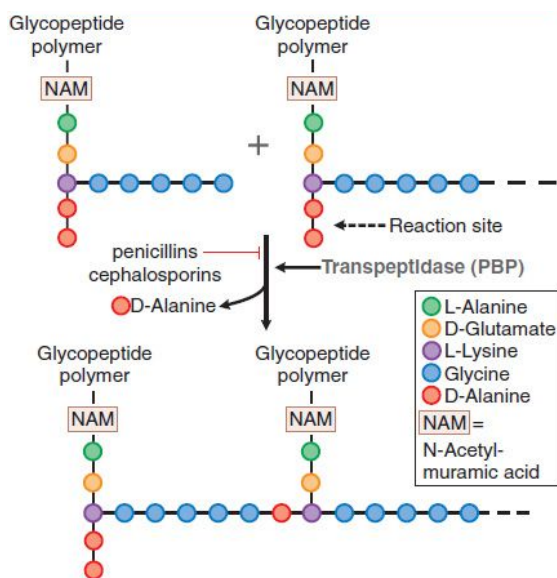


Figure 12: Représentation simplifiée de l'action des antibiotiques à bêta-lactame [3]

Le peptidoglycane est réticulé par liaison de polymères glycopeptidiques en chaînes via des enzymes appelées transpeptidases. Sans ces transpeptidases (penicillin-binding protein), le peptidoglycane ne peut pas se réticuler et la bactérie est incapable de maintenir son intégrité (Williamson et coll.,1986 [7]).

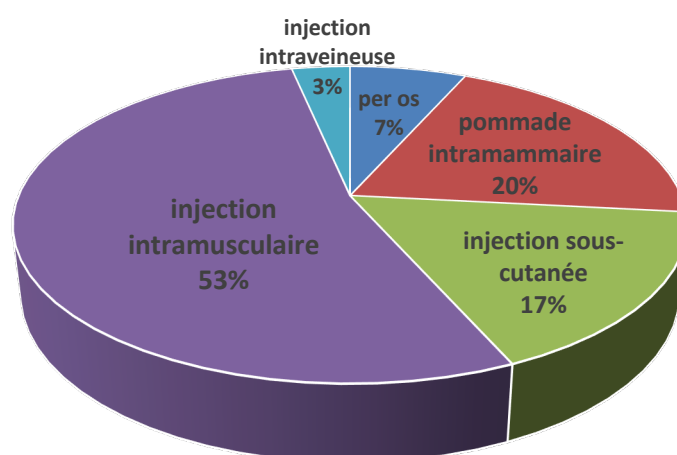
Les antibiotiques à bêta-lactame possèdent tous un cycle bêta-lactame qui présente une similitude avec le groupement dipeptidique D-ala-D-ala. Ils vont agir comme substrats "suicides" en se liant de manière irréversible aux transpeptidases pour inhiber leur activité (Williamson et coll.,1986 [7]). La résultante est une activité bactériostatique ou bactéricide en fonction de la dose administrée.

c) Pharmacocinétique

1. Administration

Les spécialités à base de bêta-lactame ont pu être classées en fonction de leur voie d'administration chez les bovins telles qu'elles sont recommandées dans leurs RCP. Le graphique ci-dessous (figure 13) permet de visualiser les voies d'administration les plus présentes.

Figure 13: Représentation graphique des différents modes d'administration d'antibiotiques à β -lactame chez le bovin en fonction du nombre de spécialités



Nous pouvons constater que la voie intramusculaire est la plus prévalente parmi les spécialités disponibles: elle permet notamment un relargage plus lent de la substance active dans le système grâce au stockage dans les graisses de la substance (Jin et coll., 2015 [8]). L'efficacité des antibiotiques à bêta-lactame est mesurée en fonction du temps pendant lequel la concentration de la substance active est supérieure à la concentration minimale d'inhibition des germes (Williamson et coll., 1986 [7]). Etant donné la nécessité de réduire le nombre d'administrations par facilité pour le vétérinaire et l'élimination relativement rapide des bêta-lactamines, l'injection intramusculaire est donc privilégiée et cela est bien reflété dans notre graphique. La seule injection intraveineuse à base de bêta-lactame disponible en Belgique est l'ampicilline (Ampi-dry®); elle nécessite une nouvelle injection toutes les six heures pendant cinq jours.

L'administration sous-cutanée est la voie recommandée dans 17% des spécialités mais elle est unique au Ceftiofur. Cette voie est plus facile à atteindre pour le personnel soignant (le vétérinaire, mais aussi l'éleveur quand il doit effectuer ses injections lui-même) et présente une rapidité d'action comparable à la voie intraveineuse. L'administration par cette voie est possible puisque le ceftiofur présente un temps de demi-vie particulièrement long chez le bovin (entre 10h et 18h selon les différentes spécialités selon les RCP).

La pommade intramammaire est une voie d'administration spécifique au traitement de la mammite et nécessite l'injection de la spécialité à l'aide d'une seringue dans le trayon infecté. Le terme "pommade" n'est généralement pas associé à l'injection en galénique pharmaceutique; toutefois, il s'agit du terme utilisé dans les RCP. Elle peut être administrée en période de lactation ("LC") afin d'adresser les mammites cliniques ou en dehors dans le cadre des mammites subcliniques.

La voie d'administration la moins représentée parmi nos spécialités est l'administration per os. Ceci est attribuable au rôle du rumen, le plus grand compartiment digestif des bovins. Le pH dans le rumen varie entre 5,5 et 6,5. Il résulte en une dégradation et dilution des pénicillines s'y retrouvant, mais la flore du rumen est aussi susceptible d'être détruite par les agents antimicrobiens, ceci provoquant des troubles gastro-intestinaux graves (Matthews et coll., 2019 [9]). La faible prévalence de spécialités à administration per os est aussi attribuable au risque de développement de souches résistantes. En effet il semblerait que la voie d'administration joue un rôle majeur dans la sélection de germes résistants. Une étude publiée par l'American Journal of Microbiology (Zhang et coll., 2013 [10]) s'est penchée sur la question. Suite à l'administration orale ou intraveineuse d'ampicilline chez des souris inoculées par des souches d'*E.coli*, il s'est avéré que des gènes de résistance sont apparus plus fréquemment en cas d'administration orale que pour une administration intraveineuse. Etant donné la dose élevée d'agent antimicrobien nécessaire à traiter un bovin et la volonté d'éviter l'émergence de souches bactériennes résistantes, il est donc compréhensible que l'administration d'antibiotiques à bêta-lactame per os soit limitée. Ceci explique également la non-existence de pénicilline V gastro-résistante dans l'arsenal thérapeutique bovin. Les deux seules spécialités administrées par voie orale (Synulox Bolus ® et Dokamox 80% ®) sont spécifiques au traitement d'entérites néo-natales chez le veau et d'affections gastro-intestinales.

2. Distribution

Il existe très peu de données sur le taux de liaison aux protéines plasmatiques des bêta-lactamines chez le bovin, il n'est d'ailleurs généralement pas défini dans les RCP. La spécialité Peni-Kel[®] est la seule pénicilline à donner une valeur du taux de liaison plasmatique, qui serait de l'ordre de 30% pour la benzylpénicilline procaine. Pour les aminopénicillines, une étude suédoise (Luthman et Jacobsson, 1986 [11]) mentionne un taux de liaison plasmatique de 47% pour l'ampicilline chez le bovin. Ce taux est très variable selon la substance et ses adjuvants. Au niveau des céphalosporines, cette variabilité est d'autant plus marquée: les RCP de la spécialité Naxcel Bovins[®] chiffrent la liaison plasmatique du ceftiofur à 70-90% tandis que les spécialités Cobactan 2,5%[®] et Cobactan 7,5%[®](Cefquinome) mentionnent une liaison plasmatique "<5%" [12].

Au niveau de la distribution dans les tissus, on distinguera surtout les sels et les esters. La pénicilline G procaine, les aminopénicillines et les céphalosporines sont des acides faibles hydrosolubles. Ils se répartissent principalement sous leur forme ionisée dans les tissus richement vascularisés. Ils passent très peu la barrière hémato-encéphalique, mais leur diffusion est accrue en cas de méningite (Nau et coll., 2010 [13]). Cette diffusion est ralentie par leur administration sous forme cristalline. Les esters comme le pénéthamate sont, eux, liposolubles, permettant une diffusion intracellulaire atteignant mieux les poumons (trois heures après injection [14]) avec aussi un meilleur passage dans le lait (sept heures après injection). Une fois qu'ils atteignent le lait, la substance est hydrolysée et piégée dans le pis à hauteur de 20% de la concentration sérique [15]. Ce phénomène permettant de traiter les mammites par voie systémique est spécifique au pénéthamate, les autres substances destinées au traitement de la mammite devant être injectées directement dans le trayon.

La demi-vie plasmatique des composés est également très variable selon la substance active, la formulation et la voie d'administration. Il s'agit de l'un des facteurs qui va influencer le temps d'attente recommandé avant consommation du lait provenant d'une vache qui a reçu un traitement ou d'un animal qui a été traité avant qu'il ne soit abattu. Si l'on s'intéresse à ces temps d'attente ("délais lait" et "délais viande" dans la figure 1 en annexe), on constate une certaine logique: les spécialités avec des doses plus élevées, des temps de demi-vie plus importantes ou administrées par voie intramusculaire, requièrent des délais d'attente plus longs, à l'exception des substances ayant un tropisme faible pour la glande mammaire comme le ceftiofur.

3. Métabolisme

Les bêta-lactamines sont peu transformées dans l'organisme: des résidus de métabolites (notamment l'acide pénicilloïque et l'acide 6-aminopénicillanique pour la benzylpénicilline et sept autres métabolites pour l'amoxicilline [16]) existent mais leur concentration est négligeable, les bêta-lactamines étant en large partie excrétées sous forme inchangée. Une exception est à nouveau à noter pour le ceftiofur, qui est métabolisé en desfuroylceftiofur [17], son métabolite actif principal. Ce métabolisme explique ainsi pourquoi il est nécessaire d'attendre 8 jours après l'administration du ceftiofur avant d'abattre l'animal en vue de consommer sa viande.

Les modifications principales que subissent les pénicillines sont liées à leur forme d'administration: on citera notamment le pénéthamate (ester de benzylpénicilline), qui est rapidement hydrolysé à 90% dans le sang par les estérases plasmatiques et dans le lait à 98% en benzylpénicilline [15] ainsi que la benzylpénicilline procaïne, qui est hydrolysée dans le sang en benzylpénicilline.

4. Excrétion

L'excrétion est variable selon les composés mais elle est majoritairement rénale via une sécrétion tubulaire active (à hauteur de 50 à 80% selon les RCP). Le reste est éliminé par les fèces à hauteur de 5 à 30% selon la spécialité. Des résidus dans la bile, la salive et le lait sont également détectables. Les spécialités à base de pénéthamate présentent un taux d'élimination dans le lait supérieur, ceci étant dû à leur tropisme pour ce dernier.

Suite à cette excrétion urinaire des bêta-lactamines, les résidus inchangés étant en contact direct avec le sol dans le milieu de vie des animaux traités, il est imaginable que ces substances jouent un rôle dans la sélection de souches résistantes. Une étude publiée au Texas (Subbiah et coll., 2012 [18]) s'est penchée sur la question. Suite à une administration de ceftiofur chez des vaches et leur élimination, des échantillons du sol ont été prélevés et analysés à la recherche de souches d'*E.Coli* qui auraient été susceptibles de développer une résistance. Leur analyse s'est vue inconclusive. Néanmoins la possibilité que ce phénomène se produise souligne la nécessité de soigner le milieu de vie des animaux, notamment à travers un changement régulier de la paille.

5. Effets secondaires, interactions et contre-indications.

Les antibiotiques à bêta-lactame ont une faible toxicité, et ce même largement au-delà des doses thérapeutiques [19]. L'un des effets indésirables est directement lié à son action antibactérienne: par destruction de la flore commensale, elle peut provoquer des troubles gastro-intestinaux importants. Cet effet est peu courant puisque l'administration orale est peu utilisée chez le bovin et donc que la flore intestinale est généralement préservée. En revanche, cela pose souci dans la prise en charge des gastro-entérites. Si les germes sont peu sensibles ou en cas d'infection virale mal diagnostiquée, la destruction de la flore ruménale par l'antibiotique est susceptible d'aggraver l'état de santé de l'animal. Chez le veau, l'organisme est mono-gastrique, le rumen est "bypassé" mais les autres compartiments restent sensibles à l'action des antibactériens sur leur flore (Diao et coll., 2019 [20]). Des réactions inflammatoires peuvent aussi avoir lieu au site d'injection.

L'effet indésirable le plus grave est le risque de développement de réactions d'hypersensibilité allergique, voire parfois de choc anaphylactique. Cet effet est partagé entre les pénicillines et les céphalosporines, si bien que l'allergie à l'une des deux classes constitue une contre-indication à l'autre. Chez l'Homme, le Journal of American Medical Association (Shenoy et coll., 2019 [21]) a publié un article mentionnant un taux de réaction allergique à la pénicilline de l'ordre de 10% dans la population américaine et un taux de réaction croisée IgE-médiée avec les céphalosporines de l'ordre de 2%. Toutefois, chez les bovins, l'hypersensibilité allergique est moins prononcée: les RCP qualifient ces effets indésirables de "très rares" (soit moins d'un cas pour dix milles) et la réaction croisée avec les céphalosporines de "rares" (soit entre un et dix cas pour dix milles). Il n'existe toutefois pas d'étude publiée à ce sujet qui soit spécifique aux bovins; on peut considérer que le risque d'allergie principal est essentiellement lié à la manipulation de la spécialité par le dispensateur de soins.

Il n'y a pas d'interaction dangereuse liée à l'usage de bêta-lactamines chez le bovin. Certaines RCP mentionnent des interactions essentiellement liées à la formulation, notamment l'augmentation de la demi-vie de l'ester de benzylpénicilline en cas d'administration concomitante avec des dérivés salicylés et une potentialisation de l'effet en cas d'administration d'autres agents bactéricides/bactériostatiques.

Les contre-indications des bêta-lactames chez les bovins sont également peu nombreuses. Notamment l'insuffisance rénale [15], l'allergie à un autre bêta-lactame et la présence de germes producteurs de bêta-lactamases (en absence d'inhibiteur de bêta-lactamase dans la formulation).

6. Discussion

On notera une hétérogénéité et un certain nombre de lacunes dans les informations disponibles sur les Résumés de Caractéristiques des Produits pour les spécialités que nous décrivons. En effet, malgré la structure commune de chaque RCP, les données fournies pour chacune des sous-parties ne sont pas standardisées et ne sont jamais mises à jour en fonction de l'évolution de la pharmacorésistance des antibiotiques au fil des années. Au niveau de la pharmacocinétique notamment, sur les 30 spécialités concernées par notre sujet, seulement 18 RCP fournissent l'information quant au temps de demi-vie de leur composé chez le bovin, 22 RCP fournissent l'information quant à la concentration plasmatique maximale de la substance dans l'animal, et seules 2 RCP fournissent le taux de liaison plasmatique de la substance. La tendance est la même au niveau des concentrations minimales inhibitrices: sur moins de la moitié des RCP on retrouve un tableau reprenant les valeurs de CMI. Il s'agit parfois de la CMI90, parfois de la CMI50. Ces tableaux n'ont aucune valeur thérapeutique, présentant des valeurs de CMI très approximatives pour des souches très sélectives de germes, ou faisant référence à des études de sensibilité très anciennes, comme le témoigne les RCP du Cobactan 2,5%®: *“Entre 1999 et 2002, des souches bactériennes d'Allemagne, de France, des Pays-Bas et du Royaume-Uni ont été isolées de bovins et de porcs présentant une maladie correspondant aux indications cibles.”*. Ceci est également couplé à des phrases très subjectives: *“La concentration du médicament dans le lait baisse relativement vite et le processus est très dynamique”*[22].

Cette constatation est problématique quand on prend en compte la recommandation de l'AFMPS dans le Vetcompendium [14] au sujet de la pharmacocinétique des pénicillines: *“La cinétique est très spécifique à chacune de ces substances. Elle varie d'une espèce à l'autre et est fortement influencée par la forme galénique des médicaments. Par conséquent, il est vivement conseillé d'utiliser des préparations pour lesquelles les profils pharmacocinétiques ont été optimisés et décrits dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP). Leur mise en parallèle avec le niveau de sensibilité des germes visés peut être très utile pour le*

choix d'un antimicrobien et d'une forme pharmaceutique particulière". Leur recommandation d'utiliser les RCP lors de la prise en charge des animaux est interpellante. En effet, avec l'aide du service Infovet de l'AFMPS et de la plateforme disponible sur leur site, les RCP de la spécialité Ampidry® de 2006, 2007, 2012 et 2013 ont pu être comparées à celles actuelles de 2021. Il s'avère que la seule variante dans ces documents soit la date de mise à jour.

Les RCP d'autres spécialités n'ont pas été comparées dans le temps, néanmoins les dates des études et références citées dans les autres RCP suggèrent qu'il ne s'agit pas d'un cas isolé à l'Ampidry®. Rappelons à l'inverse que la résistance des bactéries à l'égard des antibiotiques n'a, elle, pas stagné.

Une recommandation plus appropriée consisterait, par exemple, à recommander l'usage d'antibiogrammes ou d'avoir recours à la plateforme CERISE de l'ARSIA, qui propose aux vétérinaires et éleveurs en Belgique un suivi dynamique des différents germes affectant chaque troupeau et leur taux de résistance à chaque classe d'antibiotiques.

Face à ces constatations, on peut établir qu'un monitoring thérapeutique étroit n'est pas possible à établir chez un animal si l'on doit se baser sur les RCP de la substance utilisée. Les vétérinaires ont plutôt recours à leurs sources et expérience. Ceci évoque cependant un autre problème: la nécessité d'utiliser des dosages "hors-label". En effet, depuis la mise sur le marché des pénicillines, l'émergence de souches bactériennes résistantes nécessite l'usage de doses d'antibiotiques toujours plus élevées (Li et coll., 2014 [23]). Si les RCP n'adaptent pas leurs posologies en réaction, les vétérinaires devront le faire eux-mêmes. Mais une dose plus importante nécessite également une mise à jour des délais d'attente en vue de consommation (ici, pour le lait et la viande), qui ne peut être négligée. Ce problème a été investigué dans une étude publiée au Kansas (Etats-Unis) (Li et coll., 2014 [23]) où les chercheurs ont mis en place un modèle permettant d'adapter le délai d'attente à la dose de pénicilline G administrée pour plusieurs animaux dont les vaches. Ce modèle est peu applicable en pratique mais témoigne de la nécessité à adapter le temps d'attente lors d'une administration "hors-label", du moins tant que les RCP ne seront pas mises à jour plus régulièrement.

Le risque pour l'Homme d'être en contact avec des résidus d'antibiotiques à bêta-lactame dans le lait et la viande se limite au risque d'allergie à la substance [24]. Les réglementations

quant à la quantité maximale de résidu de pénicilline présente dans l'alimentation ont été établies en 2008 par l'European Medicines Evaluation Agency (EMA) et sont encore de vigueur aujourd'hui [24]. La réglementation mentionne que 6 µg de pénicilline (aminopénicillines comprises) ingérée dans un aliment contaminé seraient suffisants pour provoquer une réaction allergique chez un consommateur à risque. Dans la viande, le résidu maximal détectable doit être inférieur à 50 µg/kg. Pour le lait cette limite est fixée à 4 µg/kg. Les résidus de métabolites ne sont pas concernés.

II) Généralités

a) Une nouvelle tendance dans l'élevage

La pénicilline a été découverte en 1928 par Sir Alexander Fleming. Elle n'est isolée qu'au début des années 40 mais trouve rapidement sa place dans le traitement des infections chez l'Homme [25]. Vers la fin des années 40, une nouvelle tendance est née: suite à des expérimentations avec l'Auréomycine, il s'est avéré que l'administration d'une dose sub-thérapeutique d'Auréomycine chez la poule sur une longue période induit une croissance augmentée de l'animal (Kiser, 1976 [26]). Rapidement, l'administration continue d'antibiotiques à faible dose devient la norme dans l'industrie agro-alimentaire au cours des années 50. La pénicilline n'y échappe pas. Ces agents antimicrobiens sont surnommés "Antimicrobial Growth Promoters" ("AGP"). A ce stade, et avec le manque de recul, il est encore difficile d'envisager les inconvénients de cette pratique. Les animaux sont moins souvent malades, les vaches deviennent plus grosses et produisent plus de lait tout en se contentant de nourriture de moins bonne qualité. On parle de *camouflage de causalité*: le bien-être animal lié au stress et à la qualité de la nourriture peuvent être négligés par le producteur puisque l'administration chronique d'antibiotiques à la place lui reviendra moins cher pour un résultat tout-au-moins équivalent. Soit, une productivité qui explose.

En 1951, la Food and Drug Administration (FDA) approuve l'utilisation d'agents antimicrobiens dans la nourriture du bétail sans prescription vétérinaire [27]. Les états de l'Union Européenne suivent cette tendance. Le rapport de l'Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) publié en 2015 [27] révèle qu'en 1963 approximativement 1000 tonnes d'agents microbiens ont été ajoutées à la nourriture du bétail aux Etats-Unis, suivies de 3000 tonnes dans les années 80 et de 10.000 tonnes en 2012, soit le

triple de la consommation humaine d'antibiotiques du pays. A l'échelle globale, cela représente 63.000 tonnes d'agents antimicrobiens en 2010, dont 82% en Asie (23% en Chine). Le rapport met l'accent également sur les pays dont la tendance est à la hausse (Indonésie, Myanmar, Niger et Pérou) et distingue les trois secteurs les plus concernés: bovin (45mg/PCU), volaille (148mg/PCU) et porc (172mg/PCU).

Toutefois, la peur du développement de résistances bactériennes n'est pas nouvelle. En 1945, Sir Alexander Fleming, l'homme derrière la découverte de la pénicilline sonne l'alerte en disant "*microbes are educated to resist*" (Flemming, 1945 [28]). Malgré la connaissance du risque de résistance, l'efficacité de sa découverte est tellement inégalée que ses avertissements passent inaperçu.

b) Analyse de la situation en Belgique

1. L'élevage bovin

En Belgique, l'élevage de bovins est très répandu: en 2019, le pays a produit 2,026 milliards de tonnes de produits laitiers [29] et abattu 263750 tonnes de bovins [30], soit une consommation moyenne de 10,3kg de viande/an par habitant et de 44,5L de lait/an par habitant [31]. Pour référence, la viande bovine constitue 20% de la viande totale consommée (contre 50% de viande porcine et 20% de volaille).

Cette industrie est alimentée par 2398000 animaux dont 529000 vaches laitières qui produisent plus de 4000 tonnes de lait par an [31]. D'un point de vue économique; un kilo de viande se vend en moyenne à 17€. Le marché de viande bovine correspond à 1/7 ème des exportations totales du pays, soit 1,1 milliard d'euros de chiffre d'affaire en 2020.

Même si le nombre d'animaux tend toujours vers l'augmentation, le nombre de cheptels lui diminue depuis 2015. Il existe un plan d'action nommé "Horizon 30" et publié en 2020 par la Commission de la Viande Bovine [32] visant à ralentir cette diminution du nombre de cheptels et à mettre l'accent sur la qualité du produit.

2. La vente d'antibiotiques vétérinaires en Belgique

En Belgique, la dispensation d'antibiotiques à des fins vétérinaires peut passer par le pharmacien d'officine mais ne s'y limite pas [33]. En pratique, les pharmacies ne disposent pas d'antibiotiques à usage vétérinaire en stock: ils sont directement délivrés par le vétérinaire qui effectue ses commandes auprès du grossiste. Ce système se distingue de l'Italie par exemple, où la dispensation des antibiotiques passe par l'intermédiaire du pharmacien [1].

3. La lutte contre l'antibiorésistance en Belgique

En 1999 est fondée la Commission Belge de Coordination de la Politique Antibiotique (BAPCOC). Un an plus tard, suite au scandale de la dioxine de 1999, l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA) voit le jour [34]. Cela marque un nouveau départ dans le contrôle de la chaîne alimentaire en Belgique: ces nouvelles initiatives témoignent de la volonté des autorités belges à monitorer de près la chaîne alimentaire du pays. L'AFSCA dispose de cinq laboratoires dans le pays ainsi que de 1380 collaborateurs qui veillent au respect des mesures sanitaires de la production jusqu'au consommateur [35]. La thématique de la résistance des agents microbiens aux antibiotiques est depuis le départ une de leurs préoccupations majeures.

En 2010, le premier rapport de BelVet-SAC (Belgian Veterinary Surveillance of Antibiotic Consumption) est publié. Il s'agit d'un organisme qui enregistre la vente des antibiotiques à usage vétérinaire.

En 2012, face à l'émergence grandissante de souches bactériennes résistantes, l'asbl Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals (AMCRA) est créée à l'initiative d'académiques et d'acteurs de l'industrie agro-alimentaire [6]. Ce nouvel organisme a un rôle encore plus spécifique: il vise à regrouper les informations relatives à l'utilisation d'antibiotiques et à l'antibiorésistance chez les animaux et à sensibiliser à cet égard. Cet organisme comprend la nécessité d'entreprendre des actions concrètes: *'L'AMCRA organise également des campagnes de sensibilisation, des roadshows pour les vétérinaires et éleveurs, et participe comme orateur à des congrès nationaux et internationaux'* [36].

L'objectif très optimiste de l'AMCRA établi en 2012 était d'atteindre une réduction de 50% de l'utilisation d'antibiotiques vétérinaires dans le pays, avec un accent sur la réduction de l'utilisation d'antibiotiques "critiques" (ce qui correspond aux céphalosporines de troisième et quatrième générations: Ceftiofur et Cefquinome) ainsi que sur la réduction d'utilisation de "premix pharmaceutiques" (mélanges médicamenteux incorporés à la nourriture, particulièrement utilisés chez le porc).

En 2019, la réduction totale de vente d'antibiotiques vétérinaires par rapport à 2011 était de 40,4% [33]; le succès semble total. Toutefois, cette baisse n'a pas été maintenue et une légère hausse (+0,2%) est enregistrée entre 2019 et 2020, mettant fin au progrès. Il est important de noter que cette hausse n'est pas attribuable à l'augmentation de la production de biomasse (qui a notamment augmenté de 2,44% entre 2019 et 2020) puisque les pourcentages sont calculés en terme de vente d'antibiotiques par kilogramme de biomasse animale.

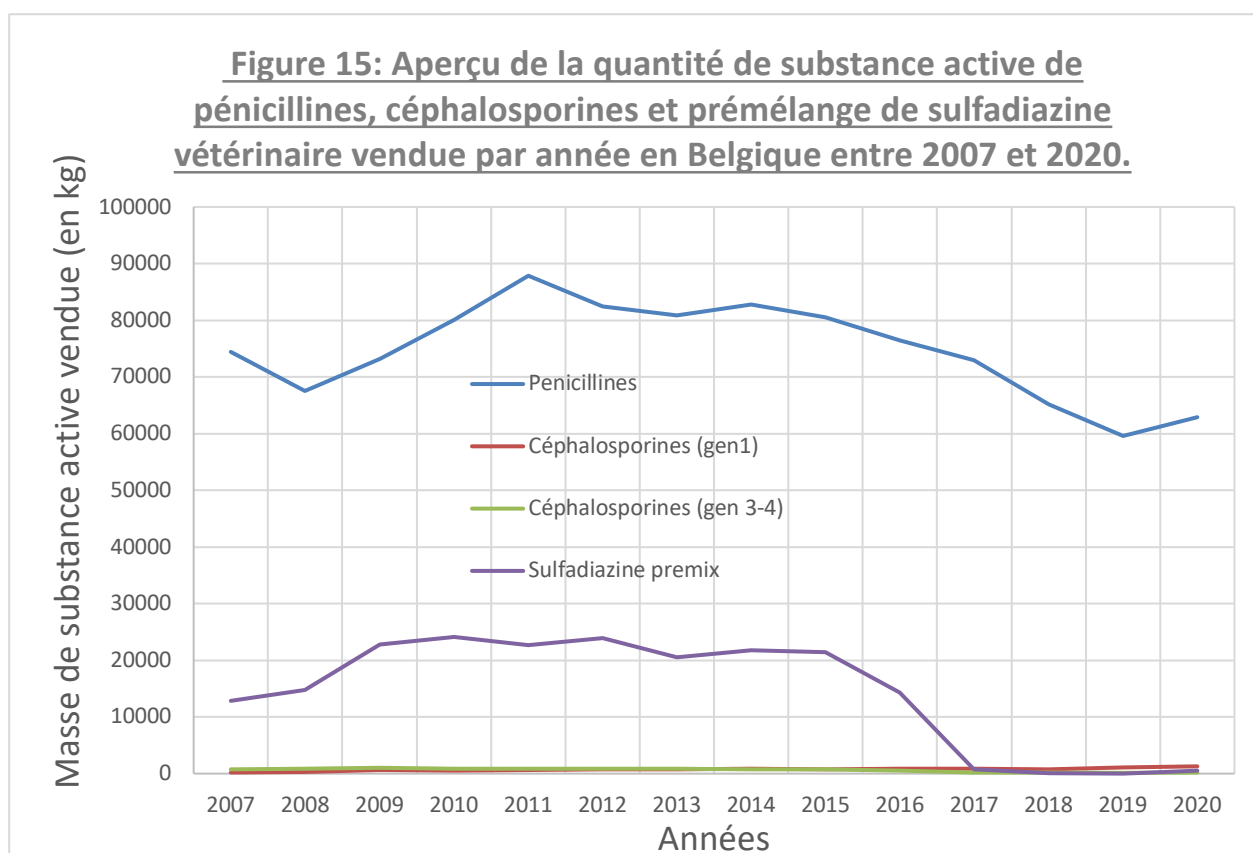
Le programme de l'AMCRA 2024 vise à présent à cibler les exploitations les plus consommatrices en antibactériens et à réduire leur nombre à 1% des exploitations totales [6]. L'objectif de diminuer la consommation d'antibiotiques "critiques" est maintenu, ainsi que des médicaments délivrés dans les prémélanges alimentaires (avec un accent sur la colistine). Son programme agit dans une optique de transparence et collaboration entre les producteurs, dispensateurs et éleveurs. Neuf points d'action ont été établis [6]. Ils visent à collecter et faire du benchmarking à partir des données disponibles, coacher et conseiller les éleveurs, sensibiliser, monitorer l'évolution de la résistance et améliorer la prévention des maladies infectieuses chez les animaux.

En Belgique existe également le Centre Fédéral d'Expertises de Soins de Santé (KCE). Cet organisme ne se limite pas à l'analyse vétérinaire, il vise notamment à briser la distinction entre l'utilisation d'antibiotiques chez l'Homme et chez l'animal suivant la politique de "*One Health*" [37]. Le KCE a publié en 2019 un rapport intitulé "Propositions pour une politique antibiotique plus efficace en Belgique" [38]. Ce rapport est en grande partie une répétition de la politique de l'AMCRA, si ce n'est qu'il présente la vision politique et législative du problème d'antibiorésistance. Il cherche à expliquer l'origine du problème de surprescription en Belgique par rapport aux habitudes des prestataires des soins de santé belges et à la demande de production en industrie agro-alimentaire.

4. L'utilisation des antibiotiques à bêta-lactame en Belgique

Mais qu'en est-il de l'utilisation des bêta-lactamines en Belgique ? Les données de vente d'antibiotiques annuelles par classe sont disponibles dans les rapports de BelVet-SAC [33]. En regroupant les rapports allant de 2007 à 2020, le graphique ci-dessous (figure 15) a pu être réalisé. Les molécules comprises dans le graphique sont regroupées dans la figure 14. Il est également à noter que les ventes destinées aux animaux de compagnie ne sont pas exclues de ces chiffres.

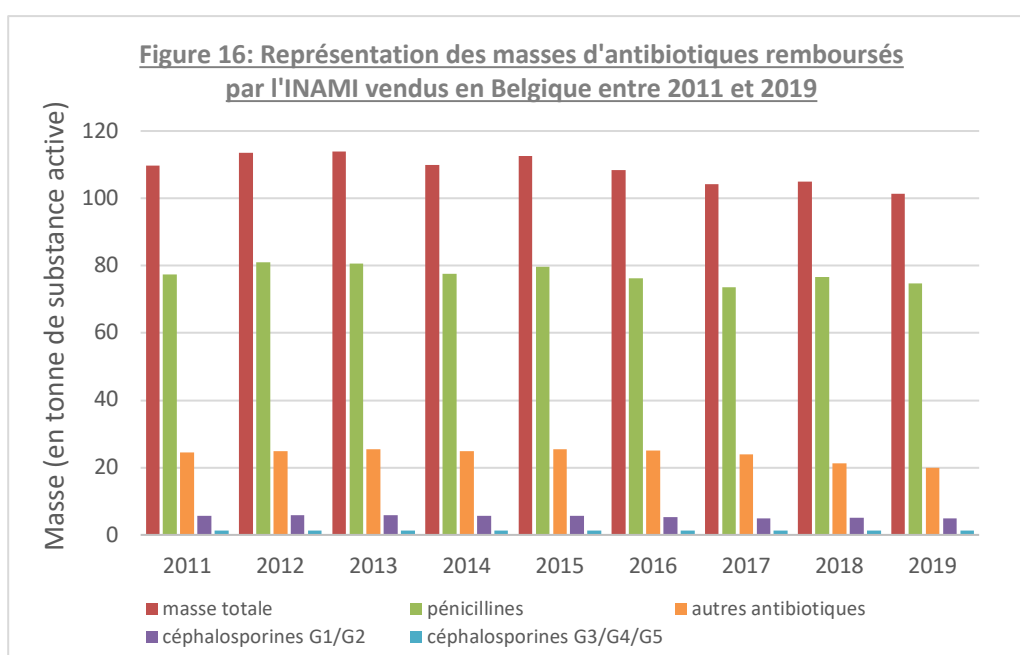
| <u>pénicillines</u> | <u>céphalosporines de première génération</u> | <u>céphalosporines de troisième et quatrième générations</u> |
|-----------------------------------|---|---|
| amoxicilline | céfalexine | céfopérazone |
| ampicilline | céfalonium | céfovécine |
| amoxicilline + acide clavulanique | céfapirine | cefquinome |
| pénéthamate | céfazoline | ceftiofur |
| procaine benzylpénicilline | | |
| nafcilline | | |
| fénoxyméthylpénicilline | | |
| cloxacilline | | Figure 14: bêta-lactamines comprises dans la figure 15 selon leur classe. |
| bénéthamine pénicilline | | |



La sulfadiazine est un agent antibactérien de la classe des sulfamidés et non un bêta-lactame. Parmi les objectifs de l'AMCRA établis en 2011 se trouve la volonté de réduire au maximum la prescription de mélanges médicamenteux alimentaires (l'objectif est notamment d'atteindre une diminution de 75% entre 2011 et 2024). En effet, les mélanges médicamenteux bénéficient généralement de spectres d'activité plus larges par rapport aux substances actives seules, ceci couplé au fait que leur administration orale nécessite des doses plus importantes pour contrebalancer leur biodisponibilité amoindrie; ils sont davantage susceptibles d'engendrer des résistances que les autres formes d'antibiothérapie. La sulfadiazine étant la substance active la plus prescrite en tant que mélange médicamenteux après l'association amoxicilline/acide clavulanique et étant administrée par voie orale chez le porc, sa visualisation dans notre graphique nous permet de mieux apprécier les données relatives aux substances que nous étudions.

La diminution relative de la consommation de pénicillines entre 2011 (date de création de l'AMCRA) et 2020 est de 28,36%. Ce chiffre est loin des 40,4% de diminution d'antibiotiques totaux; il nous permet de mettre en évidence le fait que les pénicillines ne sont pas les antibactériens les plus ciblés par les objectifs de réduction. En effet, si l'on regarde plutôt la consommation de céphalosporines de troisième et quatrième générations, elle a diminué de 83,28% entre 2011 et 2020. Les céphalosporines de troisième et quatrième générations étant classées comme "critiques", cette diminution est considérable dans la lutte contre l'antibiorésistance. Les céphalosporines de première génération ont quant à elles vu leur utilisation augmenter de 50,27% entre 2011 et 2020. On ne peut toutefois pas parler de shift d'une classe d'antibiotiques à une autre parce que les pénicillines demeurent cinquante fois plus utilisées que les céphalosporines en médecine vétérinaire en 2020. Par ailleurs les céphalosporines de première génération sont classées "jaune" dans le classement de l'AMCRA, traduisant le fait qu'elles ne sont pas cruciales à préserver. On notera également la chute de 95,8% dans la vente de sulfanilamide sous forme de prémélange (la vente ayant été même nulle en 2019, mais ayant repris en 2020). Cette diminution massive de la vente de cette substance nous permet de mieux comprendre comment a été atteinte cette diminution de 40,4% de la vente totale d'antibiotiques. Nous ne pouvons pas établir que cette diminution drastique est liée à l'action de l'AMCRA, toutefois nous noterons que depuis sa création en 2011, où les antibiotiques vétérinaires n'avaient jamais autant été vendus en Belgique, la vente n'a fait que diminuer malgré quelques rechutes.

Afin de pouvoir apprécier le poids de l'utilisation des antibiotiques chez l'animal et sa pression sur le développement de souches résistantes, il est également intéressant de comparer ces chiffres vétérinaires à la consommation d'antibiotiques chez l'Homme. Le graphique ci-dessous (figure 16) a pu être établi à partir des archives de remboursement de l'INAMI de ces dix-dernières années, obtenues par correspondance avec le service de contact INAMI. Il est à noter que les fluctuations selon les années sont peu significatives, elles sont essentiellement dues aux modifications des modalités de remboursement et non pas à un changement réel dans la consommation d'antibiotiques, les antibiotiques non remboursés n'étant pas inclus dans ce graphique.



On peut constater que la masse de bêta-lactamines vendues en Belgique est très similaire en médecine humaine et en médecine vétérinaire tous secteurs confondus. En 2011, 77 tonnes de substance active de pénicillines étaient destinées à l'Homme et approximativement 87 tonnes destinées à l'animal. La vente de bêta-lactamines vétérinaires a chuté à 60 tonnes en 2019 mais a très peu évolué en médecine humaine. Cependant la proportion des bêta-lactamines dans l'ensemble des antibiotiques est très différente entre la médecine humaine et la médecine vétérinaire. Chez l'animal elle correspond à approximativement 30% de la consommation totale d'antibiotiques (en 2015, 260 tonnes d'antibiotiques toutes classes confondues étaient destinées à la médecine vétérinaire) alors qu'en médecine humaine les bêta-lactamines représentent 70% de l'usage des antibiotiques.

5. L'utilisation d'antibiotiques à bêta-lactame chez les bovins en Belgique

Au niveau de l'élevage bovin, en 2020, les pénicillines représentent 22,2% de la vente totale d'antibiotiques destinée à l'espèce [33]. Ce chiffre est représentatif de la diminution par rapport à 2018 où ils représentaient 25,3% de la vente totale, mais cela marque aussi une augmentation par rapport à 2019 (20,6% de la vente totale). La tendance est la même pour toutes les autres classes de substances hormis les tétracyclines pour lesquelles la diminution de 2018 à 2019 a été maintenue en 2020. Les données antérieures à 2018 ne sont pas disponibles.

Pour les céphalosporines de première génération, leur utilisation chez les bovins est passée de 2,7% de la vente totale en 2018 à 2,8% en 2020 [33]; leur impact est nettement moins prononcé. Il est de même pour les céphalosporines de troisième et de quatrième générations qui représentaient moins de 1% des ventes en 2018 et 2019 et qui sont passées à 1% en 2020.

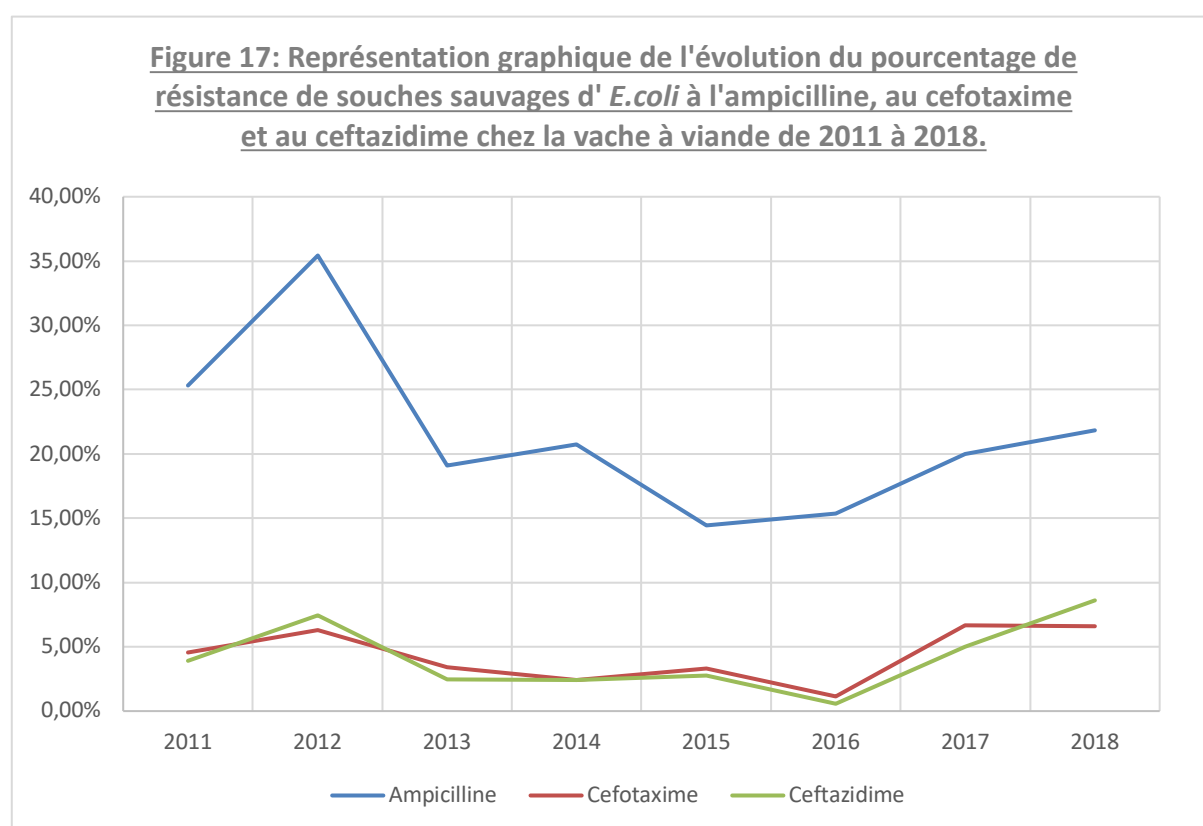
6. Discussion

Cette réduction de la consommation a-t-elle seulement apporté un véritable bénéfice en terme d'évolution de la résistance ? Il est difficile de quantifier la résistance bactérienne par rapport à une substance chez un animal puisque cette dernière va dépendre des germes impliqués, du système étudié (gastrique, glandes mammaires, sang,...) mais aussi de l'âge et de la catégorie de l'animal (veaux, vaches à lait, bovin à l'engraissement). Par ailleurs peu de données reprenant l'évolution de la résistance aux bêta-lactamines dans le temps et spécifiques aux bovins ont été publiées. Les données répondant le plus à nos critères ont pu être trouvées dans un rapport publié en 2020 par Sciensano intitulé "*Antimicrobial Resistance in commensal Escherichia coli from livestock in Belgium: Trend Analysis 2011-2018*" [39].

Ce rapport nous permet de suivre l'évolution de la résistance de souches sauvages d'*E.coli* issues de résidus fécaux chez le poulet, le porc, le veau et la vache de boucherie face à diverses classes d'antibiotiques. Par "résistance", on entend pourcentage de germes isolés résistants par rapport au nombre de germes totaux. L'analyse s'est faite à l'aide d'un antibiogramme par diffusion sur gélose. Cette analyse est évidemment sujet au biais de la sélection des souches et il est à noter que ces résistances sont apparues *in vitro*.

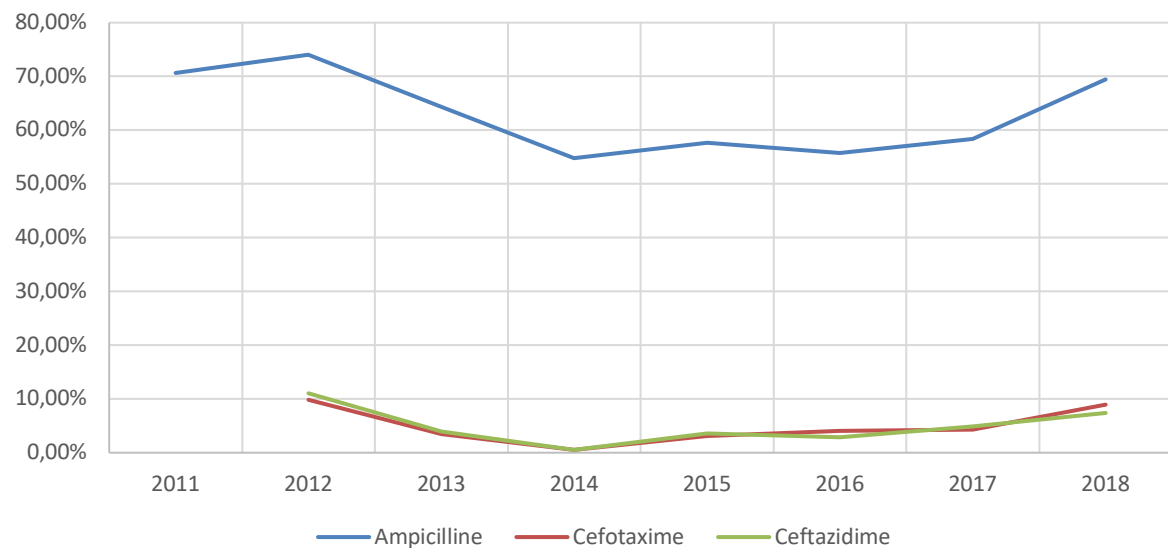
A partir de leurs données fournies pour l'utilisation de pénicillines et céphalosporines chez les vaches à viande et les veaux, les graphiques ci-dessous (figure 17 et figure 18 respectivement) ont pu être établis. On constate une résistance de 25,32% des souches d' *E.coli* à l'ampicilline en 2011, qui atteint un pic à 35,43% en 2012 et qui se stabilise à 14,44% et 15,34% en 2015 et 2016 respectivement. En 2017 et 2018 les souches résistantes refont surface en atteignant 21,85%. D'après une autre source (MCC-Vlaanderen, société privée réalisant des antibiogrammes), ces chiffres "n'excèdent pas les 20%" en 2017 [40], ce qui concorde.

Pour les céphalosporines, la résistance avoisinait les 4% en 2012. Elle a d'abord baissé, puis augmenté jusque 6,62% et 8,61% en 2018 pour la cefotaxime et ceftazidime respectivement.



Chez le veau les résistances d' *E.coli* sont nettement plus courantes : le taux de résistance à l'ampicilline mesuré en 2011 est de 70,59% en 2011 mais semble s'être stabilisé entre 55% et 59% de 2014 à 2017. En 2018, la résistance à l'ampicilline était de 69,47%. La tendance est similaire pour les céphalosporines: la résistance a d'abord évolué à la baisse: de 9,84% en 2012 à 4,32% en 2017 pour le cefotaxime et de 11,05% en 2012 à 4,86% en 2017 pour la ceftazidime. En 2018 cependant, la résistance est à nouveau plus élevée, à savoir 8,95% et 7,37% pour le cefotaxime et la ceftazidime respectivement.

Figure 18: Représentation graphique de l'évolution du pourcentage de résistance de souches sauvages d' *E.coli* à l'ampicilline, au cefotaxime et au ceftazidime chez le veau de 2011 à 2018.



Cette différence significative entre la résistance chez la vache et le veau est attribuable aux diarrhées néonatales chez le veau. Cette maladie est courante et souvent associée à des souches de *E.coli* à haute résistance, principalement provoquées par les variants ATT25 et CS31A. *E.coli* CS31A est le plus prévalent, à hauteur de 32% en 2016 [41]. Le rapport annuel 2017 de l'ARSIA [40] présente un antibiogramme spécifique à ces deux souches, qui présenteraient 92% de résistance à l'amoxicilline et 30,5% de résistance aux céphalosporines de troisième et quatrième générations.

Nous pouvons constater une similitude entre le pic de vente d'antibiotiques en 2011 et la hausse de la résistance en 2012, ainsi que la chute des ventes à partir de 2011 et la diminution de la résistance à partir de 2012. Toutefois la vente d'antibiotiques a continué à chuter entre 2016 et 2018 alors que la résistance semble avoir augmenté sur cette période. Les données présentées ne nous permettent donc pas d'associer la diminution de la vente d'antibiotiques observée entre 2011 et 2018 à la diminution de la résistance bactérienne; d'autant plus que notre graphique de vente d'antibiotiques a été établi à partir de données regroupant toutes les espèces animales (les données spécifiques aux bovins antérieures à 2018 ne sont pas connues).

A titre de comparaison, le rapport annuel 2020 de l'ARSIA [2] fait le point sur l'antibiorésistance en comparant la résistance de divers germes, notamment des souches d'*E.coli* "d'origine bovine" par rapport à des molécules critiques. Les informations quant à leur méthode ne sont pas disponibles. Les graphiques publiés dans leur rapport sont disponibles en annexe (figure 19). Ils témoignent de résultats et d'une tendance globalement similaires jusque 2017, où la résistance augmente à nouveau dans notre analyse et continue à diminuer dans la leur mais, sans informations sur leur méthode, ce décalage n'a pas pu être élucidé. Ils ne s'intéressent pas non plus aux pénicillines. Leur conclusion tente de faire le rapprochement avec les mesures de réduction de consommation d'antibiotiques: "*Même si rien ne permet de démontrer de lien formel entre les mesures mises en place depuis 2016 et l'évolution de l'antibiorésistance dans ces populations bactériennes, il est tentant de penser que ces deux évènements ne sont pas totalement indépendants*" [2].

Ce lien entre l'usage d'antibiotiques et la résistance chez l'animal a été véritablement mis en évidence en Belgique à l'Université de Gand, dans une étude publiée dans le Journal of Antimicrobial Chemotherapy (Chantziaras et coll., 2014 [42]). Les chercheurs ont tenté de visualiser l'impact de l'utilisation de plusieurs classes d'antibiotiques, dont les bêta-lactames, sur la résistance de souches d'*E.coli* dans sept pays, dont la Belgique. Un certain nombre d'approximations ont été réalisées pour mettre en valeur cette corrélation: tout comme pour notre comparaison, les données de vente spécifiques aux bovins n'étant pas disponibles avant 2018, les coefficients de corrélation englobent toutes les espèces d'animaux traités. Les résistances d'*E.coli* sont aussi très variées au sein même des espèces, comme nous l'avons vu entre le veau et la vache à viande (figures 17 et 18). Les résultats ont été présentés sous forme de coefficients de régression quadratique. L'étude révèle un coefficient de 0,89 pour les aminopénicillines et de 0,94 pour les céphalosporines de troisième génération. Ces résultats ne démontrent rien quant au risque de résistance chez l'Homme, ils permettent toutefois de valider la corrélation entre l'utilisation des antibiotiques à bêta-lactame chez les animaux et le développement de souches d'*E.coli* résistantes.

c) La situation en Europe et dans le monde.

1) L'utilisation des agents antimicrobiens vétérinaires dans le monde

La situation en Belgique n'est pas un phénomène isolé. Les initiatives prises par les autorités belges sont le reflet de la volonté de l'Union Européenne et de l'approche du "One health" de l'OMS [43]. Les premières mesures sont prises au Royaume-Uni à la fin des années 60. Les mesures internationales ont suivi dans cette lancée.

En 1969 au Royaume-Uni se réunit le Swann Committee (Barton, 2000 [44]) dans le but d'évaluer et de mettre en place des mesures afin de lutter contre l'usage abusif d'antibiotiques. Il s'agit alors de la première législation nationale dans le domaine des AGP. Les antibiotiques avec un intérêt thérapeutique important ou qui risquent d'induire des souches bactériennes résistantes à un antibiotique avec un intérêt thérapeutique important sont bannis des AGP. Cela marque la fin de l'utilisation de la pénicilline en tant qu'AGP au Royaume-Uni parmi d'autres classes d'antibiotiques.

La tendance a continué en Suède mais cette fois-ci de la part des producteurs (Wierup, 2001 [45]). Malgré la hausse de productivité induite par cette pratique, la fédération des fermiers suédois demande en 1984 l'interdiction de l'usage d'AGP. La loi passe aussitôt. Il semble que l'opinion publique ait joué un rôle et que le consommateur ait un avis négatif des AGP dans sa nourriture. De cette manière, les producteurs tiennent compte de l'opinion publique sans risquer une concurrence déloyale entre eux.

A l'échelle mondiale, l'OMS a reconnu l'importance du problème de l'émergence de la résistance microbienne à partir des années 90. Toutefois il a fallu attendre mai 2015 avant d'observer la mise en place d'un plan d'action concret: l'OMS joint ses efforts à ceux de la FAO et de l'OIE et met en place le "Global Action Plan" [46]. La frontière entre le développement de la résistance chez l'Homme et l'animal s'estompe et une politique de sensibilisation et de monitoring est mise en place à l'échelle des pays prêts à participer.

En 1997, l'OMS conclut que les AGP doivent être "remplacés". En 1998, l'Union Européenne interdit l'usage de quatre familles d'antibiotiques par "*principe de précaution*" [27]. En 2006, l'interdiction est totale et les antibiotiques ne peuvent plus être employés en tant qu'AGP au sein de l'Union Européenne. Aux Etats-Unis, le retrait des AGP est basé sur

le volontariat et est encouragé par la FDA en 2013, mais la législation ne les interdit entièrement qu'en 2017. Ils représentaient alors 80% de la vente d'antibiotiques du pays [27]. Les AGP continuent aujourd'hui à être utilisés dans les pays non-membres de l'OECD comme la Chine, la Russie, le Brésil, l'Inde, les Philippines et l'Afrique du Sud.

On mentionnera également l'Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) qui s'adonne à la lutte en 2015 avec la publication de rapports discutant du poids économique et environnemental de la limitation de l'utilisation d'agents antimicrobiens dans l'industrie agro-alimentaire.

2) L'utilisation des antibiotiques vétérinaires en Europe

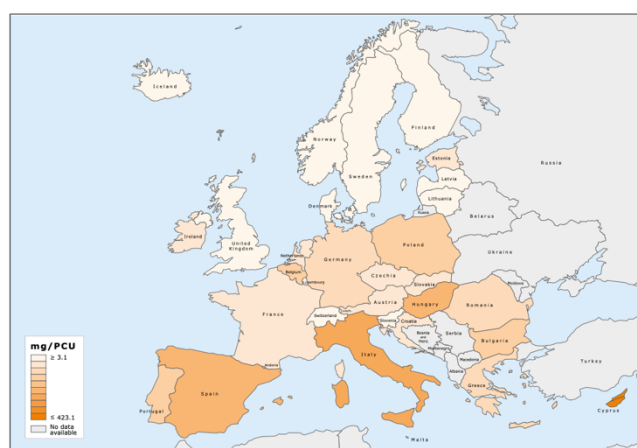


Figure 20: Représentation de la consommation d'antibiotiques (en mg de substance active/PCU) destinés aux animaux d'élevage au sein de l'Union Européenne de 2015 à 2018[1]

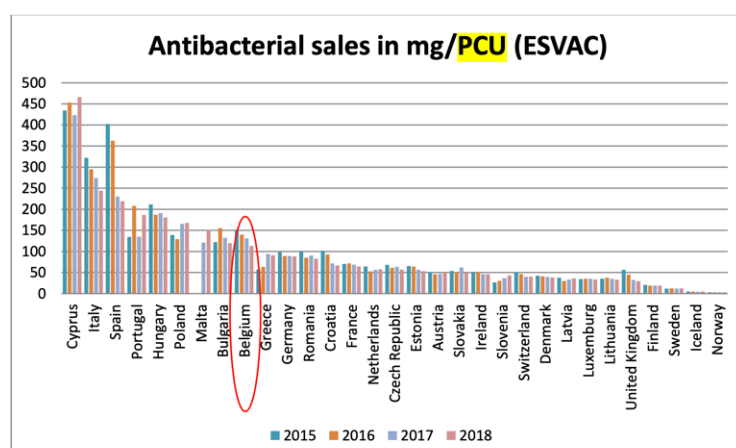


Figure 21: Représentation de la consommation d'antibiotiques (en mg de substance active/PCU) destinés aux animaux d'élevage au sein de l'Union Européenne de 2015 à 2018[1]

Les données liées à la consommation d'antibiotiques destinés aux animaux d'élevage à l'échelle de l'Union Européenne sont disponibles dans les rapports annuels de l'European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (ESVAC), qui est financé par l'EMA. Les figures 20 et 21 nous permettent de visualiser l'utilisation des antibiotiques dans les pays de l'Union Européenne. L'indice utilisé est le mg/PCU, soit un indicateur de la quantité de substance active vendue en fonction de la biomasse pour chaque pays. On constate que la situation en Belgique reflète le problème: avec 112 mg/PCU en 2018, la Belgique se situe au-dessus de la moyenne européenne fixée à 91,8mg/PCU et largement au-dessus de la médiane européenne, fixée à 57mg/PCU en 2018.

3) L'utilisation des bêta-lactamines en Europe

Si on regarde les ventes de pénicillines par pays (figure 22 en annexe), la Belgique est un des plus gros consommateurs (environ 50mg/PCU de 2010 à 2018), équivalent au triple de la France (environ 15mg/PCU de 2010 à 2018). Elle n'est devancée que par l'Allemagne, l'Italie et Chypre [1].

En terme d'antibiotiques qualifiés de "critiques", la Belgique peut être considérée comme un exemple à suivre (voir annexe figure 23). En effet son utilisation abusive de céphalosporines de troisième et quatrième générations a pu être largement diminuée entre 2010 et 2018 (passant de 0,5 à 0,1 mg/PCU pour ces deux dates respectivement), là où la France a atteint une diminution encore plus importante (de 0,3 à 0,02mg/PCU de 2010 à 2018) alors que la Hongrie a vu sa consommation de céphalosporines de troisième et quatrième générations augmenter de 0,3mg/PCU à 0,5mg/PCU pendant la même période. Cette tendance à l'augmentation est également observée en Pologne, Roumanie, Irlande, Lituanie, Estonie, Portugal. La vente en Allemagne, Italie et République Tchèque a très peu évolué entre 2010 et 2018.

Les organismes nationaux de surveillance de l'antibiorésistance des pays de l'Union Européenne travaillent en étroite collaboration avec l'organisme européen (EMA)[1]. On a pu citer la Belgique à travers l'AFMPS/AMCRA, mais aussi la France à travers l'ANSES (qui a lancé son plan Ecoantibio 2 en 2017 suite au succès de sa première campagne), l'Italie à travers la Veterinaria e Sicurezza Alimentare (VeSA) et bien d'autres.

Les données spécifiques aux bovins ne sont pas disponibles à l'échelle de l'Union Européenne.

III) La prise en charge thérapeutique des bovins

a) Soigner les bovins malades

L'utilisation d'un antibiotique pour traiter un animal nécessite que le spectre d'action de la substance soit approprié face aux germes impliqués dans la pathologie. Les bêta-lactamines disposent d'un spectre d'activité relativement large et sont donc courantes dans la prise en charge de nombreuses pathologies bactériennes bovines, mais elles ne sont pas toujours appropriées. Pour s'assurer de leur efficacité, la méthode consiste à effectuer un antibiogramme. Dans certains cas le vétérinaire peut aussi instaurer d'emblée un traitement à partir de bêta-lactamines classées "jaune" (benzylpénicillines ou céphalosporines de première génération).

Nous citerons certaines pathologies couramment prises en charge par antibiothérapie à bêta-lactame et qui sont particulièrement ravageuses dans l'élevage bovin. Cela regroupe notamment les infections respiratoires, digestives et les septicémies. Sur les 1109 carcasses de bovins (de toutes origines) autopsiées par l'ARSIA en 2014 [47], ces groupes de maladies ont pu être discernés dans 23%, 45% et 30% des carcasses respectivement. Les mammites en revanche ne sont que rarement mortelles mais elles affectent en moyenne 40% des vaches laitières et avec une perte estimée à 224€ par lactation (Gautier, 2018 [48]); leur impact économique dans l'élevage est dès lors conséquent.

Le syndrome respiratoire bovin regroupe les infections des voies hautes à savoir rhinite, trachéite et bronchite ainsi que les infections des voies basses (pneumonie) [49]. D'après le rapport de l'AMCRA publié en 2017 sur la stratégie de vaccination des bovins [49], les principaux germes responsables de ces infections sont: *Pasteurella multocida* (48% des cas en 2018), *Mannheimia haemolytica*, *Histophilus somni* (qui sévit notamment en 2010), *Mycoplasma bovis* (qui ne possède pas de paroi, donc insensible aux bêta-lactamines), *Salmonella enterica* et *Trueperella pyogenes*. La prévalence de ces germes est très variable et semble dépendre en grande partie de l'âge de l'animal [41]. Un certain nombre de ces infections sont d'origines virales.

Au niveau digestif, les veaux sont particulièrement touchés par l'entérite néonatale: une atteinte de la muqueuse intestinale provoquant des diarrhées sévères et des troubles d'absorption accompagnés d'une déshydratation. Il s'agit de la première cause de mortalité bovine [41]. Les principaux germes concernés sont *E.coli* (dont la prévalence a augmenté de 20% entre 2012 et 2016 [41]) et *Salmonella* Dublin. Les infections à *Clostridium* sont aussi courantes, le *Clostridium perfringens* étant le principal agent concerné et provoque l'Haemorrhagic Bowel Disease (HBD). Les pénicillines à large spectre sont employées en deuxième intention, au même titre que les sulfamidés. Les céphalosporines de troisième et quatrième générations sont employés en troisième choix. Il n'y a pas de classe de molécule de premier choix [50]. Tout comme pour le syndrome respiratoire, ces affections ont aussi fréquemment une origine virale [49]. Si elle est mal diagnostiquée, étant donné le spectre large de l'amoxicilline per os, son administration est susceptible d'aggraver l'état de l'animal par destruction de sa flore intestinale commensale.

La septicémie est une infection généralisée et grave, ayant atteint la circulation sanguine [51]. Elle est la plus courante chez les jeunes veaux. Comme pour les méningites, le germe le plus impliqués (80% des cas reportés) est *E.coli*. Le traitement de ces deux affections consiste généralement à l'administration d'antibiotiques à large spectre, principalement les aminopénicillines [51].

La mammite est une infection de la mamelle, caractérisée par une inflammation du pis suite à l'entrée de bactéries dans le quartier via le canal du trayon. Une vache infectée peut avoir un seul quartier contaminé mais l'infection peut se répandre aux autres quartiers. De par sa prévalence très élevée et sa contamination du lait, il s'agit de la maladie la plus problématique dans l'élevage bovin. Leur étiologie est encore peu connue, toutefois l'hygiène semble jouer un rôle-clé dans l'apparition de la maladie (Piepers et coll., 2007 [52]). La politique de sensibilisation actuelle vise à encourager l'assainissement du milieu de vie des animaux à travers un changement plus régulier de la paille, l'éloignement d'autres animaux (chiens, chats, volaille, porcs), la désinfection des pis avant et après la traite, la propreté des muqueuses et la diminution de la surpopulation au sein de l'étable [53]. Cette politique est d'autant plus importante que certains germes comme le *S. uberis* (autrefois attribué aux "mammites d'environnement" [47]) ont été identifiés comme responsables de mammites chroniques. Les bêta-lactames constituent aujourd'hui les antibiotiques de première ligne dans la gestion des mammites [51].

Afin de minimiser l'impact du traitement d'un animal sur l'antibiorésistance, la stratégie consiste à sélectionner la substance qui présente le spectre d'activité le plus étroit possible et qui est actif sur les souches concernées [51]. Ceci permet de minimiser l'impact de l'antibiotique sur la flore commensale et ainsi limiter la pression à la sélection de souches résistantes. En pratique, c'est rarement le cas : comme vu plus haut, les pénicillines à spectre élargi représentent la majeure partie des antibiothérapies à bêta-lactame, tandis que les céphalosporines de première et deuxième générations sont très peu utilisées. Les employer davantage, quand c'est possible, pourrait être une stratégie intéressante dans la lutte contre l'antibiorésistance.

b) L'approche prophylactique et métaphylactique

La quantité d'antibiotiques utilisés dans une optique de soigner un animal malade est difficilement compressible. Néanmoins une réduction de leur consommation dans le cadre des prises en charges prophylactiques et métaphylactiques serait envisageable. Ces deux utilisations sont courantes chez le bovin, particulièrement dans la prise en charge des infections des glandes mammaires. Cette approche est au cœur de la politique de l'AMCRA[53].

Afin de soigner les infections subcliniques pouvant avoir eu lieu lors de la période de lactation, l'administration d'antibiotiques durant la période de tarissement (période durant laquelle la vache ne produit pas de lait) est très fréquente. On distingue deux approches: la "*blanket dry cow therapy*" et la "*selective dry cow therapy*" [53]. La première consiste à administrer des antibiotiques dans les quatre quartiers du pis indépendamment de la présence de signes d'infection et la deuxième consiste à administrer uniquement chez les vaches avec des signes d'infection. Il semblerait que la "*blanket dry cow therapy*" s'est avérée utile face aux infections à *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus agalactiae* par le passé (Bradley, 2002 [54]), mais suite à l'évolution de la prévalence des germes impliqués dans les mammites, elle n'est plus nécessaire à l'heure actuelle (Vanhoudt et coll., 2018 [55]). Toutefois en Belgique, 81% des éleveurs flamands (en 2013) et 96% des éleveurs wallons (en 2007) ont toujours recours à cette prophylaxie non sélective [53]. Ces chiffres peuvent être considérés comme excessifs quand on considère que seules 34% des vaches traitées présentent effectivement des signes d'infection (Schwartz et coll., 2019 [56]). La situation ne semble pas s'améliorer : le rapport de l'AMCRA [53] relève une hausse de la vente des

spécialités à usage intramammaire depuis 2015. Selon une thèse publiée en 2018 à l'Université de Gand, plus de 80% des antibiotiques utilisés à ces fins sont des antibiotiques à bêta-lactame et en grande majorité des céphalosporines de quatrième génération (Stevens, 2018 [57]), soit les molécules “critiques”. Une étude du Journal of Dairy Research réalisée en Flandre (Piepers et coll., 2007 [52]) a cherché à établir la prévalence des principaux germes impliqués dans les mammites subcliniques (essentiellement celles visées lors du tarissement). L'étude met en évidence que 41,1% des vaches testées présentaient au moins une glande mammaire infectée, soit 17,1% de toutes les glandes mammaires testées. En ce qui concerne les germes responsables, 56,7% des cas sont associées aux *Staphylococcus spp.*, dont 25% au *Staphylococcus aureus*, ainsi que 18% au Aesculin-positif cocci. On constate qu'à priori, les infections à coliformes reportées sont rares (seulement 0,6% des infections totales). Pourtant une autre étude (Liu et coll, 2018 [58]) les présente comme l'une des causes d'infection les plus fréquentes. Ce décalage est lié à l'ampleur de l'infection : les mammites à *E.coli* sont caractérisées par des manifestations plus aiguës et plus courtes: les mammites cliniques (Todhunter et coll., 1991 [59]). A défaut de pouvoir réduire le recours à la prophylaxie, cette variabilité des germes est capitale à prendre en compte si l'on espère pouvoir utiliser des antibiotiques à spectre plus étroit. Cela souligne également l'importance du recours aux antibiogrammes ou à la plateforme CERISE de l'ARSIA, qui permet aux éleveurs et vétérinaires de visualiser la résistance des différents germes par rapport aux antibiotiques à l'échelle de leur troupeau et de l'élevage belge.

L'administration d'antibiotiques à titre prophylactique ou métaphylactique concerne également les veaux lors de l'allotement, période durant laquelle ils sont particulièrement sensibles aux infections respiratoires et digestives [60] ainsi que la prévention des métrites post-accouchement et les infections péri-opératoires [51]. Néanmoins peu d'informations relatives à la prévalence de l'usage d'agents antimicrobiens dans ces cas sont disponibles. A l'échelle de l'élevage en général, l'usage prophylactique d'agents antimicrobiens est le plus marqué chez le porcelet lors du sevrage [33].

IV) Pharmacologie de la résistance bactérienne

a) Mécanismes de résistance aux antibiotiques à bêta-lactame.

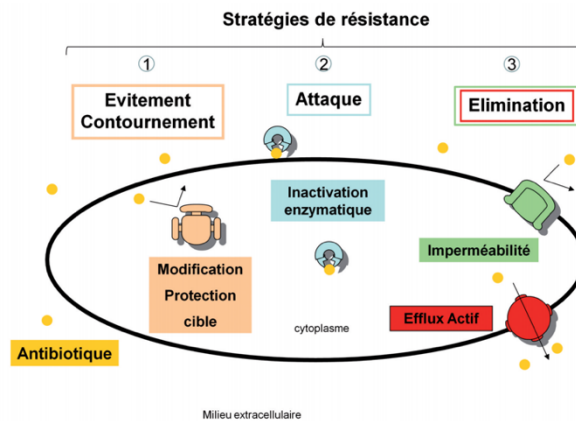


Figure 24: Principaux mécanismes de résistance bactérienne face aux antibiotiques (Aires, 2011 [4])

On distingue 4 mécanismes de résistance aux antibiotiques à bêta-lactame tels que représentés dans la figure 24: l'efflux actif, l'imperméabilisation, l'inactivation enzymatique et la modification de la cible. Il est important de noter que l'apparition de l'un de ces mécanismes à lui seul n'est pas systématiquement synonyme de résistance à un agent antibactérien. La résistance à un antibactérien est généralement associée à une multitude de mécanismes qui, combinés, peuvent permettre aux bactéries d'atteindre des taux de résistance très élevés (Aires, 2011 [4]). Certains germes comme *Staphylococcus* présentent notamment des résistances conférées à la fois par modification de la cible, mais aussi par inactivation enzymatique; les rendant à la fois très résistant aux céphalosporines mais aussi à la méthicilline respectivement (Algammal et coll., 2020 [61]).

1. Les pompes à efflux

Les pompes à efflux sont des protéines bactériennes capables de reconnaître et d'éliminer des substrats. Elles ont d'abord été découvertes chez *E.coli* en tant que facteur de résistance aux tétracyclines et ce n'est que plus tard qu'elles sont véritablement décrites comme mécanismes de résistance et de détoxification capables de reconnaître des composés de structures très différentes, à savoir antibiotiques mais aussi métaux lourds, antiseptiques, sels biliaires et

métabolites endogènes de la bactérie. Une publication de l'Institut de Médicaments Vétérinaires au Canada (Li et Nikaido, 2009 [62]) révèle que : « *Elles [les pompes à efflux] ne sont que rarement responsables à elles seules de phénomènes de résistance bactériens, toutefois elles sont susceptibles d'aggraver des résistances existantes, allant jusqu'à des niveaux de résistance très élevés* ».

On distingue 5 familles de pompes à efflux chez les bactéries [62]: ATP-binding cassette ("ABC superfamily"), major facilitator superfamily ("MFS"), multidrug and toxic compound extrusion ("MATE family"), small multidrug resistance family ("SMR") et resistance-nodulation-division superfamily ("RND"). Ces pompes RND jouent notamment un rôle majeur dans la résistance de *Haemophilus influenza* et *Proteus mirabilis* à l'ampicilline de part son élimination de la paroi bactérienne.

2. L'imperméabilisation

Les porines sont des canaux aqueux et hydrophiles situés sur les membranes bactériennes et constitués de protéines qui vont permettre la diffusion de molécules de faible poids moléculaire (Jaffe et coll., 1982 [63]).

On constate qu'une modification ou une perte de l'une de ces protéines va directement impacter la perméabilité des porines aux substances ; ici la quantité d'antibiotique atteignant la cible va diminuer. Ces mécanismes sont étudiés depuis plus de 40 ans ; une étude publiée par l'American Society of Microbiology (Jaffe et coll., 1982 [63]) révélait déjà un lien direct entre la perméabilité aux antibactériens à bêta-lactame et leur efficacité : "*Permeability of the outer membrane to cephaloridine, 6-aminopenicillanic acid, and ampicillin was shown to be greatly decreased in porin-deficient mutants of Salmonella typhimurium and E. coli*". A travers l'analyse de souches mutants K12 d'*E.coli* et de Salmonelles, cette étude a permis de mettre en évidence le rôle des protéines membranaires dans l'action des antibactériens. Les protéines OmpF semblent plus actives face à l'ampicilline, là où les protéines OmpC sont plus actives face aux céphalosporines comme la Céfazoline. Il s'avère que les protéines OmpF et OmpC, régulées par le locus OmpB (qui est sujet à des mutations spontanées fréquentes) peuvent être sous-exprimées induisant une perte d'efficacité de l'antibactérien allant de 2% à 16% pour l'ampicilline et jusqu'à 64% pour la Céfazoline, cette dernière qui est justement utilisée en grande partie dans le traitement des mammites chez la vache. Dans le

cas où les porines OmpF et OmpC sont toutes les deux mutées, l'activité antibactérienne est très réduite: “*however, OmpB mutants lacking both OmpF and OmpC proteins [...] had drastically reduced susceptibility to Bêta-lactams*” (Jaffe et coll., 1982 [63]).

3. L'inactivation enzymatique :

L'inactivation enzymatique joue un rôle majeur dans l'émergence de souches bactériennes résistantes aux bêta-lactames. Les mécanismes sont très nombreux : hydrolases (bêta-lactamases, estérases, époxide hydrolases), transférases (acetyltransférases, phosphotransférases, nucléotidyltransférases), monooxygénases et lyases. Tout comme les macrolides sont particulièrement sensibles aux macrolides estérases, les antibiotiques à cycle bêta-lactame sont particulièrement sensibles aux bêta-lactamases (Egorov et coll., 2018 [64]).

Les bêta-lactamases agissent en hydrolysant le lien amide du cycle bêta-lactame, induisant une perte totale d'activité de l'antibiotique (Bonomo, 2017 [65]). Ce cycle étant présent chez les pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames, la résistance induite est commune à toutes ces classes. Toutefois, différentes molécules seront plus ou moins sensibles à ces enzymes, ce qui permet à l'innovation pharmacologique de retarder l'inefficacité des substances (Duplessis et Crum-Cianfone, 2011 [66]). Les stratégies consistent notamment à augmenter l'encombrement stérique du lien peptique afin de protéger l'amide du cycle par ajout de larges substituants lipophiles, groupements imine ou groupements alkène.

Il existe plus de 2000 bêta-lactamases distinctes (Bonomo, 2017 [65]). Elles se répartissent en 4 classes : A, B, C, D. Les bêta-lactamases de classe A sont les plus courantes et posent le plus de problèmes en thérapie : certaines mutations induisent une augmentation considérable de la taille de l'enzyme, permettant une inactivation à plus large échelle (Eianphungporn et coll., 2018 [67]). Une étude publiée par la New York Academy of Science (Bush, 2013 [68]) révèle que ces bêta-lactamases mutantes surnommées ESBL (extended-spectrum- β -lactamases) seraient responsables de résistances quasi-totales de la bactérie impliquée face aux céphalosporines de quatrième génération. Les souches d'*E.coli* ESBL détectées en abattoir représentent d'ailleurs l'une des principales préoccupations de l'AMCRA.

Les bêta-lactamases de classe B, ou métallo- β -lactamases (MBL), agissent par l'intermédiaire d'un ion zinc. C'est une étude publiée par l'Université de Fribourg (Nordmann et coll., 2011 [69]) qui a permis de mettre en évidence de nouveaux variants MBL appelés carbapénemases qui sont déjà beaucoup plus connus aujourd'hui. Il s'avère que la présence conjointe de bêta-lactamases MBL et de bêta-lactamases à sérine (classe A, C et D) conférerait, comme pour les bêta-lactamases de classe A ESBL, une résistance quasi-totale de la bactérie à tous les bêta-lactames.

Face au défi des souches productrices de bêta-lactamases, la recherche met au point des inhibiteurs enzymatiques: des substances administrées en parallèle à l'antibiotique qui vont lier de manière irréversible les bêta-lactamases et ainsi protéger l'antibiotique de leur action (Neu et Fu, 1978 [70]). Le plus connu est l'acide clavulanique, commercialisé en médecine vétérinaire en association à l'amoxicilline (Noroclav[®], Synulox[®]). Le sulbactam et le tazobactam ne sont pas disponibles sur le marché vétérinaire; le sulbactam n'est pas en vente en Belgique tandis que le tazobactam est probablement gardé de côté pour la thérapie humaine. L'avibactam est un inhibiteur enzymatique utilisé chez l'homme avec un mécanisme d'action distinct [16]. Il n'est pas en vente sur le marché vétérinaire. On notera que ces inhibiteurs sont efficaces contre les bêta-lactamases à sérine et qu'il n'existe pas à ce jour d'inhibiteur enzymatique efficace contre les bêta-lactamases MBL de classe B mentionnées plus haut.

4. Les modifications de la cible

Les penicillin-binding protein (PBP) sont un composant-clé dans les dernières étapes de la synthèse du peptidoglycan de la paroi bactérienne. Ce sont des enzymes capables de lier les résidus peptidiques D-ala-D-ala au résidu acide N-acétylmuramique via leur activité glycosyltransférase et peptidyltransférase notamment. Suite à une exposition à une pénicilline ou cephalosporine, le cycle bêta-lactame va lier de manière irréversible ces PBP, qui seront alors incapables de poursuivre leur synthèse; la paroi bactérienne sera dès lors compromise (Williamson et coll., 1986 [7]). Pour résister à ce blocage, certaines bactéries ont développé de nouvelles PBP qui sont insensibles à l'inhibition par les cycles bêta-lactame et donc résistantes à l'antibiotique.

Ce phénomène est plus marqué chez le *Staphylococcus aureus*, dont certaines souches possédant un gène nommé mecA (Holmes et Zadoks, 2011 [71]) sont capables de synthétiser

une PBP de bas poids moléculaire, appelée PBP2a. Cette enzyme ne présente qu'une activité transpeptidase mais qui est suffisante pour maintenir l'intégrité de la paroi et qui est insensible aux cycles bêta-lactame, conférant une résistance très élevée à la bactérie. Ces bactéries sont appelées methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). La Ceftaroline est une céphalosporine de cinquième génération et le seul antibiotique à bêta-lactame actif contre le MRSA. Il n'est toutefois pas disponible en médecine vétérinaire bovine.

Une étude réalisée en Belgique à l'Institut de Microbiologie Vétérinaire de Gand (Vanderhaeghen et coll., 2010) [72] révélait déjà l'émergence du problème dans l'élevage bovin. Des échantillons de staphylocoques dorés ont été prélevés sur des vaches atteintes de mammites dans 118 élevages. Sur les 118 souches, il s'est avéré que 11 d'entre elles présentaient le gène *mecA* caractéristique du MRSA, soit un peu moins de 10%. Il s'agit de la première mise en évidence d'apparition de MRSA communautaire dans l'élevage bovin en Belgique: jusqu' alors seuls les élevages de volaille, porcs et chevaux semblaient atteints. Le problème est d'autant plus marqué que le traitement le plus courant de la mammite bovine est, pour rappel, à base de bêta-lactames.

Ces résultats sont à mettre en relation avec ceux publiés cinq ans plus tard dans le rapport annuel 2015 du Centre d'Etude et de Recherches Vétérinaires et Agrochimiques (CERVA) et qui présente des résultats bien plus alarmants. Leur analyse révèle une prévalence de 41% du MRSA chez les bovins. Cette différence est attribuable au fait que l'étude menée 5 ans plus tôt ne prenait en compte que les vaches en lactation et ne s'est pas intéressée aux bovins à viande ni aux veaux. En effet, en 2015, 78,2% des veaux testés étaient positifs au MRSA, contre 16,5% des bovins viandeux et 10,4% des bovins laitiers. Par ailleurs, le rapport de 2015 mentionne: "*The higher MRSA prevalence in 2015 than in 2012 might be because of a higher sensitivity of the used isolation method in 2015 and should therefore be interpreted with caution*". En effet, la méthode d'isolement des souches n'est pas décrite dans la publication de 2010: on note un biais au niveau de la collecte d'échantillons: les souches testées ont été isolées par les laboratoires régionaux, là où, dans le rapport de 2015 les collectes d'échantillons ont été réalisées et analysées entièrement par le laboratoire à l'origine de l'étude. Il est donc difficile de visualiser véritablement la prévalence des souches résistantes de MRSA chez les bovins en Belgique, si ce n'est que sa prévalence tend vers l'augmentation.

b) Les zoonoses

Notre objectif est d'analyser le risque qu'un bovin qui a été traité par un antibiotique à bêta-lactame transmette à l'Homme une bactérie qui aurait été impactée suite à cette exposition à l'antibiotique.

Les zoonoses sont des maladies pouvant être transmises entre l'Homme et l'animal. Elles peuvent s'effectuer par proximité (transmission directe) mais aussi par transmission indirecte à travers l'environnement [73]. Les infections par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire existent également, mais ne sont pas toujours associées aux bovins. Ces maladies peuvent être d'origine virale, fongique, parasitaire ou bactérienne. Il existe un certain nombre de germes transmissibles de l'Homme au bovin, néanmoins les seuls pathogènes sensibles aux bêta-lactamines parmi eux sont *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp.*, *Salmonella enterica* et *E.coli*. Ces germes sont d'ailleurs parmi les plus surveillés en terme d'antibiorésistance [74]. Ils sont principalement responsables d'infections gastro-intestinales chez l'Homme (Caratolli, 2008 [75]), mais peuvent aussi induire, dans le cas des staphylocoques et streptocoques, des infections ailleurs (Algammal et coll., 2020 ; Haenni et coll., 2018 [61, 76]).

Les salmonelles se transmettent principalement des bovins à l'Homme par l'intermédiaire d'une chaîne alimentaire contaminée (Van den Bogaard et Stobberingh, 2000 [77]). Elles sont traitées en première intention avec des céphalosporines à spectre élargi ou fluoroquinolones (Caratolli, 2008 [75]). Les mécanismes de résistance chez les salmonelles sont multiples, toutefois leur résistance aux bêta-lactamines semble essentiellement médiée par la production de bêta-lactamases (Michael et Schwartz, 2016 [78]). Certains gènes ont pu être isolés comme responsables de cette résistance (notamment bla_{CTX-M} et bla_{CMY-2} (Caratolli, 2008 [75])) et les bovins constituent un des principaux réservoirs animaux de salmonelles (mais aussi de coliformes) productrices de bêta-lactamases (Caratolli, 2008 [75]). Néanmoins il n'existe pas de données reflétant le poids de l'usage d'antibiotiques à bêta-lactame chez le bovin quant à l'apparition de résistance chez l'Homme. Cette connaissance devrait être approfondie: en l'an 2000, une étude publiée dans le New England Journal of Medicine (Fey et coll., 2000 [79]) relatait d'un cas d'infection à salmonelle résistante au ceftriaxone chez un enfant aux Etats-Unis. La ceftriaxone n'est pas employée en thérapie vétérinaire, toutefois la souche de salmonelle responsable s'est avérée être identique à celle qui avait ravagé le

troupeau du père de l'enfant un mois plus tôt et qu'il avait traité avec du ceftiofur, une autre céphalosporine de troisième génération. Ce cas clinique était d'autant plus grave qu'en 2000, seules la ceftriaxone et les fluoroquinolones étaient recommandées pour traiter les infections à salmonelles résistantes et les fluoroquinolones ne sont pas indiquées chez l'enfant. Ce phénomène est similaire à un autre cas reporté en 1983 (Bezanson et coll., 1983 [80]). Il pourrait être un autre cas isolé très rare mais il pourrait aussi dissimuler une tendance en augmentation, il a été investigué davantage chez une autre bactérie, *E.coli*.

Escherichia coli et *Salmonella enterica* sont comparables dans le cadre des zoonoses: elles sont toutes les deux responsables d'infections chez l'Homme et le bovin, sont traitées par des antibiotiques à bêta-lactame et présentent un mécanisme de résistance similaire: les bêta-lactamases. Une étude publiée dans l'*American Journal of Veterinary Research* (Tragesser et coll., 2006 [81]) a cherché à établir le lien entre l'utilisation de ceftiofur (céphalosporine utilisée chez le bovin) chez des vaches à lait et la résistance à la ceftriaxone (céphalosporine utilisée chez l'homme) des souches d'*E.coli* issues de leurs fèces. L'échantillon comprenait 1266 vaches et les résultats ont pu mettre en évidence une corrélation entre les deux à l'échelle du troupeau, toutefois leur découverte ne nous démontre toujours pas que ces souches d'*E.coli* résistantes à la céphalosporine utilisée chez l'Homme puissent être responsables d'une infection clinique chez l'Homme.

Au niveau de streptocoques, un certain nombre d'espèces ont pu être identifiées comme zoonotiques avec le bovin, à savoir *S.agalactiae*, *S.dysgalactiae* subs. *dysgalacticae* et *S.galloyticus* subs. *galloyticus* (Haenni et coll., 2018 [76]) mais les modalités de transmission entre l'Homme et les bovins sont peu connues et aucune source reprenant des cas avérés de résistance croisée n'a été documentée à ce jour. Ce manque de données est aussi reflété pour *Staphylococcus aureus*. Ces mécanismes de résistance sont à ce stade relativement bien établis et le MRSA en particulier a été identifié comme zoonotique entre l'Homme et le bovin (Algammal et coll., 2020 [61]) mais aucune base de donnée ou étude ne permet aujourd'hui de visualiser la prévalence des cas avérés d'infection à MRSA chez l'Homme qui ont été associés à une contamination d'origine bovine. Si l'on s'intéresse à la prévalence du MRSA dans la viande en grande surface, une étude publiée aux Pays-Bas (De Boer et coll., 2008 [82]) révèle que 10,6% du steak de boeuf et 15,2% du steak de veau parmi les échantillons collectés étaient contaminés par des souches de MRSA. Toutefois nous ne pouvons pas en déduire que ces contaminations sont toutes originaires du bovin et pas plutôt d'une mauvaise

manipulation dans la transformation alimentaire, ni que ces prévalences ont été impactées par la consommation d'antibiotiques des bovins.

c) **La transmission latérale**

Outre le transfert de bactéries résistantes d'une espèce animale à l'autre, il existe également un risque qu'une bactérie résistante transmette à une bactérie différente de l'ADN codant pour une résistance à un agent antimicrobien et que cette autre bactérie provoque une infection chez l'Homme [73]. Notre objectif est donc d'analyser le risque qu'une bactérie ayant été exposée à un antibiotique à bêta-lactame lors du traitement d'un bovin transmette à une bactérie affectant l'Homme de l'ADN, résultant en une résistance vis-à-vis des antibiotiques à bêta-lactame chez l'Homme.

On peut distinguer trois mécanismes de transfert d'ADN d'une bactérie à une autre [73]: la transformation est une absorption de matériel génétique provenant de l'environnement ou d'une bactérie morte par une autre bactérie en "état de compétence". La conjugaison est un transfert d'ADN entre deux bactéries vivantes par contact. La transduction est un passage d'ADN d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un bactériophage, un virus spécifique aux bactéries. Ce phénomène de transfert de matériel génétique a été mis en évidence très tôt dans l'histoire de la microbiologie, les premières observations témoignant de transfert entre bactéries remontant à 1928 (Griffith, 1928 [83]). Nonante ans plus tard, les mécanismes sont élucidés mais leur fréquence et leur impact sur la résistance animale inter-espèces ne se limitent qu'à des constatations ponctuelles. Les études s'intéressant au phénomène entre le bovin et l'Homme sont peu nombreuses.

La technique permettant de mettre en évidence des similitudes de résistance entre l'Homme et l'animal consiste à étudier les souches d'*E.coli* issues des fèces (Madec et coll., 2012 [84]). Si les souches d'*E.coli* sont similaires, cela traduit une zoonose, néanmoins si les souches d'*E.coli* partagent seulement certaines informations génétiques spécifiques on peut supposer qu'elles sont originaires d'un transfert d'information génétique d'une *E.coli* (ou autre bactérie) à une autre.

Une étude publiée dans le Journal of Antimicrobial Chemotherapy (Madec et coll., 2012 [84]) a pu mettre en évidence, par l'intermédiaire de cette méthode, un plasmide contenant un

gène de résistance à bêta-lactamase qui était identique chez des souches d'*E.coli* issues de fèces bovines et humaines. Ils s'est également avéré être identique à des plasmides présents dans des souches de salmonelles. Une étude similaire avait déjà été publiée plus tôt (Oppegaard et coll., 2001 [85]) et était parvenue à la même constatation. Cette découverte permet de valider la théorie du transfert de gènes de résistance par l'intermédiaire de plasmides entre des bactéries affectant l'Homme et le bovin, néanmoins elle ne permet pas de conclure que ces phénomènes soient directement dangereux pour l'Homme. En effet, non seulement la fréquence de ces transferts reste indéterminée en pratique, mais la pathogénicité de ces souches n'a pas été étudiée. Il faudrait que ces souches d'*E.coli* commensales deviennent pathogéniques pour directement impacter l'Homme.

d) Discussion

Les mécanismes de transmission d'ADN entre les bactéries ont été relativement élucidés et les zoonoses ne sont pas nouvelles pour la communauté scientifique, toutefois la prévalence de ces phénomènes est encore très mal comprise: la résistance bactérienne chez l'animal semble effectivement être proportionnelle à l'usage d'antibiotiques chez l'animal, néanmoins les cas de résistance bactérienne chez l'Homme qui ont pu être associés à un usage d'antibiotiques chez l'animal sont exceptionnels et n'ont été mis en évidence que lors de l'usage de molécules à spectre très large (à savoir principalement les céphalosporines de troisième et quatrième générations). Il est donc difficile de quantifier le poids que présente l'usage des antibiotiques chez les animaux pour l'Homme. Il n'est d'ailleurs pas impossible que l'utilisation à large échelle d'antibiotiques chez l'animal ait une balance bénéfice-risque favorable malgré les zoonoses et transferts d'ADN. Néanmoins les animaux présentant un réservoir de résistances bactériennes important, si il s'avère que celui communique avec le réservoir humain, la situation est peut-être déjà trop tardive. Une compréhension plus approfondie de la prévalence de ces phénomènes serait nécessaire avant de remettre en cause ce "*principe de précaution*".

Conclusion

Les connaissances en terme de zoonoses et de transferts d'informations génétiques entre les bactéries affectant Homme et bovin sont encore très limitées; certains cas alarmants ont pu être mis en évidence mais leur prévalence demeure largement indéterminée. Dans la faible possibilité où ils s'avèrent être des cas isolés, les mesures drastiques de limitation de l'usage des bêta-lactamines chez le bovin pourraient être excessives, et ce d'autant plus qu'il n'est pas certain que le fait de diminuer leur consommation puisse, à ce stade, avoir un impact sur la résistance bactérienne. Néanmoins le risque qu'ils imposent pour la santé humaine est tel que ces mesures doivent être poursuivies selon le "*principe de précaution*": il s'agit de l'approche "*One Health*" défendue par l'OMS qui casse la barrière entre la médecine humaine et vétérinaire. Si l'on suit ce raisonnement, la Belgique peut être considérée comme étant sur la bonne voie: suite à sa prise de conscience face aux enjeux de l'antibiorésistance et grâce à la compétence de ses organismes de surveillance, le pays a réussi à diminuer drastiquement sa consommation d'antibiotiques vétérinaires ainsi qu'à optimiser leurs modalités d'administration dans cette même optique. Elle pourrait éventuellement aller encore plus loin en réduisant l'usage des antibiotiques dans le cadre des traitements préventifs et en revalorisant l'usage des céphalosporines de première et deuxième générations qui ont un faible poids dans la médecine. Les antibiotiques à bêta-lactame, à l'échelle du pays et de l'Union Européenne, ne sont plus utilisés afin d'augmenter la productivité du secteur agro-alimentaire mais ils en demeurent des piliers. Face aux publications visant à énumérer le coût de la diminution de leur utilisation dans l'élevage, force est de constater que la santé animale demeure avant tout au service de la productivité. Si l'humain souhaite préserver son arsenal thérapeutique dans les prochaines années, une rupture de cette vision productiviste serait nécessaire.

Liste des abréviations:

| | |
|---|--|
| <u>INAMI</u> : Institut National d'Assurance Maladie-Invalidité | <u>BLSE/ESBL</u> : bêta-lactamase à spectre élargi |
| <u>AGP</u> : Antimicrobial Growth Promoters | <u>MRSA</u> : methicilline-resistant-Staphylococcus aureus |
| <u>EMA</u> : European Medicines Agency | <u>CMI</u> : concentration minimale inhibitrice |
| <u>AFSCA</u> : Agence Fédérale pour la sécurité de la Chaîne Alimentaire | <u>EMA</u> : European Medicines Evaluation Agency |
| <u>AFMPS</u> : Federal Agency for Medicines and Health Products | <u>FDA</u> : Food and Drug Administration |
| <u>AMCRA</u> : Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals | <u>CERVA</u> : Centre d'Etude et de Recherche Vétérinaire et Agrochimique |
| <u>ARSIA</u> : Association Régionale de Santé et d'Identification Animales | <u>E.coli</u> : <i>Escherischia Coli</i> |
| <u>BelVet-Sac</u> : Belgian Veterinary Surveillance of Antibiotic Consumption | <u>OMS/WHO</u> : Organisation Mondiale de la Santé |
| <u>KCE</u> : Belgian Health Care Knowledge Center | <u>OIE</u> : World Organisation for Animal Health |
| <u>OECD</u> : Organisation for Economic Co-operation and Development | <u>FAO</u> : Food and Agriculture Organisation of the United Nations |
| <u>BAPCOC</u> : Commission Belge de Coordination de la Politique Antibiotique | <u>ESVAC</u> : European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption |
| <u>ANSES</u> : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation | <u>PBP</u> : penicillin-binding protein |
| <u>VeSA</u> : Veterinaria e Sicurezza Alimentare | <u>ADN</u> : acide désoxyribonucléique |

Bibliographie

Articles scientifiques

4. Aires, J., *Les systèmes d'efflux actifs bactériens: caractérisation et modélisation pour quelles perspectives?* 2011, Université Paris Descartes: Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 4 avenue de l'observatoire, 75006 Paris.
5. Snary, E.L., et al., *Antimicrobial resistance: a microbial risk assessment perspective*. J Antimicrob Chemother, 2004. **53**(6): p. 906-17.
7. Williamson, R., E. Collatz, and L. Gutmann, [*Mechanisms of action of beta-lactam antibiotics and mechanisms of non-enzymatic resistance*]. Presse Med, 1986. **15**(46): p. 2282-9.
8. Jin, J.F., et al., *The optimal choice of medication administration route regarding intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection*. Patient Prefer Adherence, 2015. **9**: p. 923-42.
9. Matthews, C., et al., *The rumen microbiome: a crucial consideration when optimising milk and meat production and nitrogen utilisation efficiency*. Gut Microbes, 2019. **10**(2): p. 115-132.
10. Zhang, L., et al., *Antibiotic administration routes significantly influence the levels of antibiotic resistance in gut microbiota*. Antimicrob Agents Chemother, 2013. **57**(8): p. 3659-66.
11. Luthman, J. and S.O. Jacobsson, *Distribution of penicillin G in serum and tissue cage fluid in cattle*. Acta Vet Scand, 1986. **27**(3): p. 313-25.
13. Nau, R., F. Sorgel, and H. Eiffert, *Penetration of drugs through the blood-cerebrospinal fluid/blood-brain barrier for treatment of central nervous system infections*. Clin Microbiol Rev, 2010. **23**(4): p. 858-83.
18. Subbiah, M., et al., *Urine from treated cattle drives selection for cephalosporin resistant Escherichia coli in soil*. PLoS One, 2012. **7**(11): p. e48919.
20. Diao, Q., R. Zhang, and T. Fu, *Review of Strategies to Promote Rumen Development in Calves*. Animals (Basel), 2019. **9**(8).
21. Shenoy, E.S., et al., *Evaluation and Management of Penicillin Allergy: A Review*. JAMA, 2019. **321**(2): p. 188-199.
23. Li, M., et al., *Interspecies mixed-effect pharmacokinetic modeling of penicillin G in cattle and swine*. Antimicrob Agents Chemother, 2014. **58**(8): p. 4495-503.
26. Kiser, J.S., *A perspective on the use of antibiotics in animal feeds*. J Anim Sci, 1976. **42**(4): p. 1058-72.
42. Chantziaras, I., et al., *Correlation between veterinary antimicrobial use and antimicrobial resistance in food-producing animals: a report on seven countries*. J Antimicrob Chemother, 2014. **69**(3): p. 827-34.
44. Barton, M.D., *Antibiotic use in animal feed and its impact on human health*. Nutr Res Rev, 2000. **13**(2): p. 279-99.
45. Wierup, M., *The Swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials*. Microb Drug Resist, 2001. **7**(2): p. 183-90.

48. Gautier, T., *Evaluation du coût de la mammite clinique: une méta-analyse*. 2018, Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse. p. 56.
52. Piepers, S., et al., *Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium*. J Dairy Res, 2007. **74**(4): p. 478-83.
54. Bradley, A., *Bovine mastitis: an evolving disease*. Vet J, 2002. **164**(2): p. 116-28.
55. Vanhoudt, A., et al., *Effects of reduced intramammary antimicrobial use during the dry period on udder health in Dutch dairy herds*. J Dairy Sci, 2018. **101**(4): p. 3248-3260.
56. Schwarz, D., et al., *Investigation of differential somatic cell count as a potential new supplementary indicator to somatic cell count for identification of intramammary infection in dairy cows at the end of the lactation period*. Prev Vet Med, 2019. **172**: p. 104803.
57. M, S., *Antimicrobial Consumption on Flemish Dairy Herds : Quantification, Associated Factors and Mastitis Management Input as a Basis for Appropriate Use*. Belgium: Ghent University. Faculty of Veterinary Medicine., 2018.
58. Liu, G., et al., *Characteristics of Escherichia coli Isolated from Bovine Mastitis Exposed to Subminimum Inhibitory Concentrations of Cefalotin or Ceftazidime*. Biomed Res Int, 2018. **2018**: p. 4301628.
59. Todhunter, D.A., et al., *Gram-negative bacterial infections of the mammary gland in cows*. Am J Vet Res, 1991. **52**(2): p. 184-8.
61. Algammal, A.M., et al., *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): One Health Perspective Approach to the Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, and Zoonotic Impact*. Infect Drug Resist, 2020. **13**: p. 3255-3265.
62. Li, X.Z. and H. Nikaido, *Efflux-mediated drug resistance in bacteria: an update*. Drugs, 2009. **69**(12): p. 1555-623.
63. Jaffe, A., Y.A. Chabbert, and O. Semonin, *Role of porin proteins OmpF and OmpC in the permeation of beta-lactams*. Antimicrob Agents Chemother, 1982. **22**(6): p. 942-8.
64. Egorov, A.M., M.M. Ulyashova, and M.Y. Rubtsova, *Bacterial Enzymes and Antibiotic Resistance*. Acta Naturae, 2018. **10**(4): p. 33-48.
65. Bonomo, R.A., *beta-Lactamases: A Focus on Current Challenges*. Cold Spring Harb Perspect Med, 2017. **7**(1).
66. Duplessis, C. and N.F. Crum-Cianflone, *Ceftaroline: A New Cephalosporin with Activity against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA)*. Clin Med Rev Ther, 2011. **3**.
67. Eiamphungporn, W., et al., *Tackling the Antibiotic Resistance Caused by Class A beta-Lactamases through the Use of beta-Lactamase Inhibitory Protein*. Int J Mol Sci, 2018. **19**(8).
68. Bush, K., *Proliferation and significance of clinically relevant beta-lactamases*. Ann N Y Acad Sci, 2013. **1277**: p. 84-90.
69. Nordmann, P., et al., *The emerging NDM carbapenemases*. Trends Microbiol, 2011. **19**(12): p. 588-95.
70. Neu, H.C. and K.P. Fu, *Clavulanic acid, a novel inhibitor of beta-lactamases*. Antimicrob Agents Chemother, 1978. **14**(5): p. 650-5.

71. Holmes, M.A. and R.N. Zadoks, *Methicillin resistant S. aureus in human and bovine mastitis*. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2011. **16**(4): p. 373-82.
72. Vanderhaeghen, W., et al., *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) ST398 associated with clinical and subclinical mastitis in Belgian cows*. Vet Microbiol, 2010. **144**(1-2): p. 166-71.
75. Carattoli, A., *Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers*. Clin Microbiol Infect, 2008. **14 Suppl 1**: p. 117-23.
76. Haenni, M., A. Lupo, and J.Y. Madec, *Antimicrobial Resistance in Streptococcus spp*. Microbiol Spectr, 2018. **6**(2).
77. van den Bogaard, A.E. and E.E. Stobberingh, *Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans*. Int J Antimicrob Agents, 2000. **14**(4): p. 327-35.
78. Michael, G.B. and S. Schwarz, *Antimicrobial resistance in zoonotic nontyphoidal Salmonella: an alarming trend?* Clin Microbiol Infect, 2016. **22**(12): p. 968-974.
79. Fey, P.D., et al., *Ceftriaxone-resistant salmonella infection acquired by a child from cattle*. N Engl J Med, 2000. **342**(17): p. 1242-9.
80. Bezanson, G.S., R. Khakhria, and E. Bollegraaf, *Nosocomial outbreak caused by antibiotic-resistant strain of Salmonella typhimurium acquired from dairy cattle*. Can Med Assoc J, 1983. **128**(4): p. 426-7.
81. Tragesser, L.A., et al., *Association between ceftiofur use and isolation of Escherichia coli with reduced susceptibility to ceftriaxone from fecal samples of dairy cows*. Am J Vet Res, 2006. **67**(10): p. 1696-700.
82. de Boer, E., et al., *Prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in meat*. Int J Food Microbiol, 2009. **134**(1-2): p. 52-6.
83. Griffith, F., *The Significance of Pneumococcal Types*. J Hyg (Lond), 1928. **27**(2): p. 113-59.
84. Madec, J.Y., et al., *Non-ST131 Escherichia coli from cattle harbouring human-like bla(CTX-M-15)-carrying plasmids*. J Antimicrob Chemother, 2012. **67**(3): p. 578-81.
85. Oppegaard, H., T.M. Steinum, and Y. Wasteson, *Horizontal transfer of a multi-drug resistance plasmid between coliform bacteria of human and bovine origin in a farm environment*. Appl Environ Microbiol, 2001. **67**(8): p. 3732-4.

Rapports

1. *Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2017*. European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. p. 91.
2. Detiffe, J., *Rapport annuel 2020*. ARSIA asbl: Allée des Artisans 2 - 5590 Ciney.
12. *Résumé des caractéristiques du produit - Cobactan 2,5%*. 2012, Intervet International B.V.
14. *Répertoire commenté des médicaments à usage vétérinaire 2020*, AFMPS, Editor.: Corneel heymanslaan 10 9000 gent.
15. *Résumé des caractéristiques du produit - Penethaone 236,3 mg/ml*. 2020, Divasa-Farmavic S.A.
17. *Résumé des caractéristiques du produit - Eficur*. 2019, LABORATORIOS HIPRA.
19. *Résumé des caractéristiques du produit - Peni-Kel 300.000 IU/ml*. 2021: Kela sa, Sint Lenaartseweg 48, 2320 Hoogstraten, Belgique.
22. *Résumé des caractéristiques du produit - Noroclav*. 2021, Norbrook Laboratories.

24. EMEA, *Committee for Veterinary Medicinal Products - penicillins - summary report*. 2008.
27. Dr. Ramanan Laxminarayan, D.T.V.B., *Global antimicrobial use in the livestock sector*. 2015, Organisation for Economic Co-operation and Development. p. 43.
28. Flemming, A., *Penicillin*, in *Nobel Lecture*. 11/12/1945.
31. DESHOUX, A., *Panorama d'élevage Belgique*. Bretagne Commerce International, 2020.
32. *Plan de développement stratégique à l'horizon 2030*. 2019, Commission viande bovine: Avenue comte de Smet de Nayer, 14 – 5000 Namur.
33. *Belgian veterinary surveillance on antimicrobial consumption report 2020 (BELVETSAC 2020)*. Brussels: Federal Agency For Medicines and Health Products.
34. Houins, G., *L'approche belge de sécurité de la chaîne alimentaire : L'Agende Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire (AFSCA)*. 2007.
38. Leroy R, C.W., Maertens de Noordhout C, Hanquet G., *Propositions pour une politique antibiotique plus efficace en Belgique*. 2019, Bruxelles: Centre Fédéral d'Expertise des Soins de Santé (KCE): Health Services Research (HSR).
39. Mickaël Cargnel, B.C., *Antimicrobial Resistance in commensal Escherichia coli from livestock in Belgium: Trend Analysis 2011-2018*. 2019, Sciensano.
40. Detiffe, J., *Rapport annuel 2017*. ARSIA asbl: Allée des Artisans 2 - 5590 Ciney.
41. Detiffe, J., *Rapport annuel 2016*. ARSIA asbl: Allée des Artisans 2 - 5590 Ciney.
47. Detiffe, J., *Rapport annuel 2014*. ARSIA asbl: Allée des Artisans 2 - 5590 Ciney.
49. *Santé de l'élevage et stratégies de vaccination pour le secteur bovin*. 2017, AMCRA asbl.
50. Detiffe, J., *Rapport annuel 2015*. ARSIA asbl: Allée des Artisans 2 - 5590 Ciney.
53. Philippe Bossaert, S.D.V., Evelyne De Graef, Koen de Bleecker, Fabiana Dal Pozzo, Bénédicte Callens *Avis: Utilisation raisonnée des antibiotiques au tarissement chez la vache laitière en Belgique*. 2021, AMCRA.
60. hélène Chardon, h.B., *Usage des antibiotiques en élevage et filières viandes*. 2014, Centre d' Information des Viandes (CIV).
73. D. Berkvens, C.B., E. Daeseleire, P. Delahaut, K. Dewettinck, J. Dewulf, L. De Zutter, *Avis 18-2012: Contribution de l'alimentation à la transmission de l'antibiorésistance à l'homme*. 2012, Comité Scientifique de l'Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire.
74. Sabine Cardoen, P.D., Pascal Hendriks, Jef Hooyberghs, *Evaluation de la surveillance épidémiologique belge en santé animale*. 2014, Agence fédérale pour la sécurité de la chaîne alimentaire (AFSCA). p. 27-42.

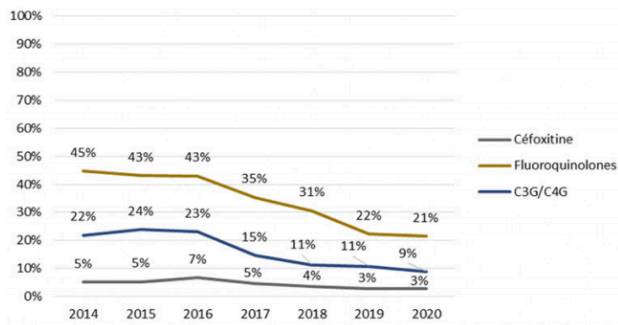
Sites internet

3. *Penicillins, Cephalosporins, and Other β -Lactam Antibiotics*. 2016 [cited 2021; Available from: <https://basicmedicalkey.com/penicillins-cephalosporins-and-other-%CE%B2-lactam-antibiotics/>.
6. AMCRA. *antibiotiques et antibiorésistance*. Available from: <https://www.amcra.be/fr/antibiotiques-et-antibioresistance/>.
16. Drugbank.
25. Wikipedia. *Pénicilline*. 24/07/2021; Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Penicillin#Discovery>.

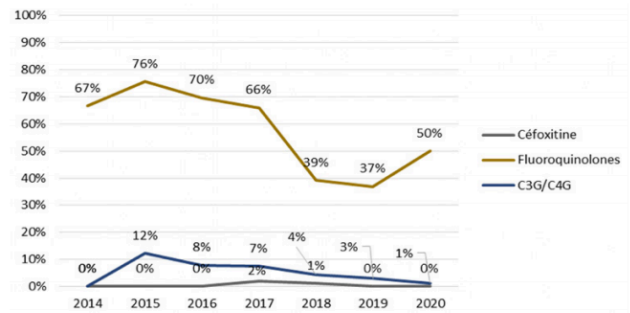
29. STATBEL. *Milk and milk product statistics*. 2021; Available from: <https://statbel.fgov.be/en/themes/agriculture-fishery/milk-and-milk-product-statistics#figures>.
30. STATBEL. *Animal slaughtering*. 2021; Available from: <https://statbel.fgov.be/en/themes/agriculture-fishery/animal-slaughtering#figures>.
35. *Structure et organisation*. Available from: <https://www.favv-afsca.be/rapportactivites/2019/afsca/organisation/>.
36. AFSCA. *Antibiorésistance*. 28/07/2021]; Available from: <https://www.favv-afsca.be/rapportactivites/2019/echantillonnagesanalyses/antibioresistance/>.
37. *One Health*. 27/07/2021]; Available from: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/one-health>.
43. OMS. *One Health*. 2017 07/2021]; Available from: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/one-health>.
46. WHO. *Global Action Plan*. [cited 2021; Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763>.
51. AMCRA. *Vade-mecum pour un usage responsable des produits antibactériens chez les bovins*. 2021; Available from: <https://formularium.amcra.be/a/4>.

Figure 19: Graphiques représentant l'évolution de l'antibiorésistance de divers germes pour des molécules "critiques" entre 2014 et 2020. Source: rapport annuel Arsia 2020 [2]

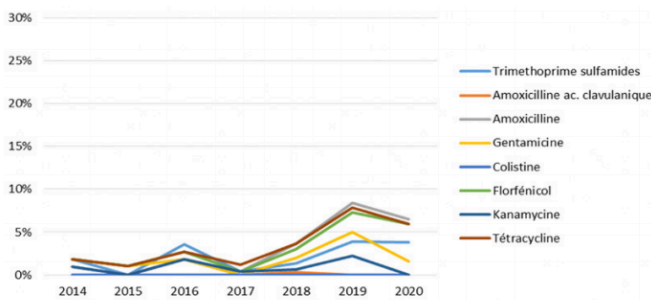
Graphique 1: Antibiorésistance des E. coli d'origine bovine vis-à-vis des molécules critiques Tendances annuelles (à l'exclusion de la santé mammaire)



Graphique 2: E. coli F5 d'origine bovine Évolution de la résistance vis-à-vis des molécules critiques



Graphique 3: E. coli CS31a et F17 d'origine bovine Évolution de la résistance vis-à-vis des molécules critiques



Graphique 4: Niveaux d'antibiorésistance de Salmonella Dublin entre 2014 et 2020

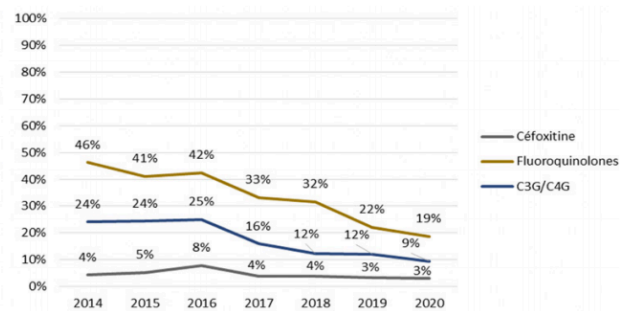


Figure 22: Evolution de la vente de pénicillines (en mg/PCU) destinées aux animaux d'élevage pour les pays membre de l'Union Européenne entre 2010 et 2018.

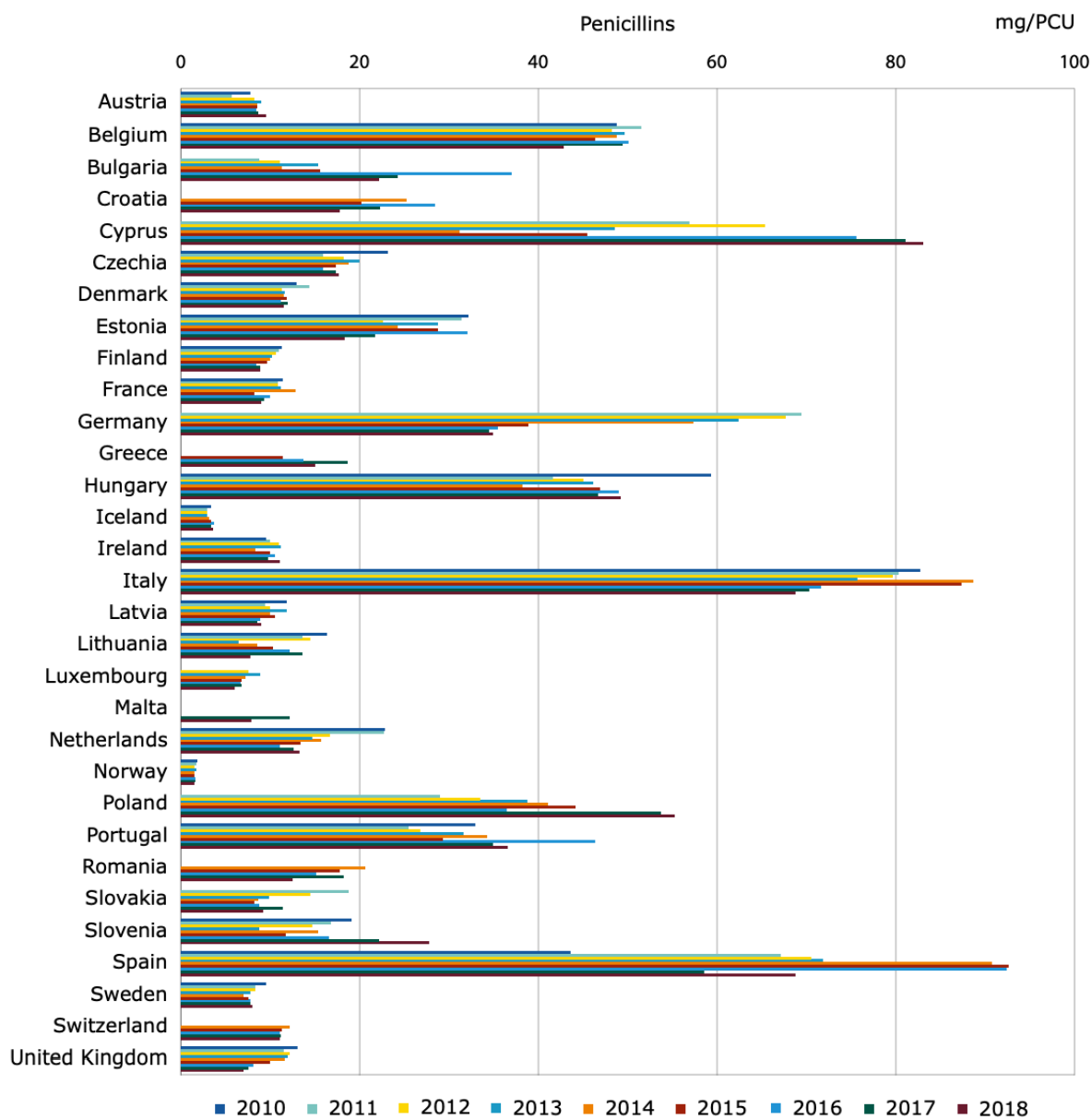


Figure 23: Evolution de la vente de céphalosporines (en mg/PCU) destinées aux animaux d'élevage pour les pays de l'Union Européenne entre 2010 et 2018.

| Country | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | Trends 2010-2018 | Country | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | Trends 2010-2017 | |
|----------|-------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------------|--|
| Austria | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | | Italy | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | |
| Belgium | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 0.4 | 0.3 | 0.1 | 0.1 | | Latvia | 0.2 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.4 | |
| Bulgaria | | 0.05 | 0.03 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | | Lithuania | 0.02 | 0.04 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | | |
| Croatia | | | | | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | | Luxembourg | | | 0.7 | 0.7 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 0.6 | 0.6 | | |
| Cyprus | | 0.2 | 0.5 | 0.5 | 0.8 | 0.3 | 0.7 | 0.4 | 0.4 | | Malta | | | | | | | | 0.2 | 0.2 | | |
| Czechia | 0.4 | 0.3 | 0.3 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | | Netherlands | 0.2 | 0.2 | 0.02 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| Denmark | 0.05 | 0.03 | 0.03 | 0.02 | 0.02 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | Norway | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | |
| Estonia | 0.4 | 0.5 | 0.6 | 0.7 | 0.6 | 0.6 | 0.7 | 0.8 | 0.9 | | Poland | | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.3 | | |
| Finland | <0.01 | 0.02 | 0.03 | 0.02 | 0.02 | 0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | Portugal | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 0.6 | 0.4 | | |
| France | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.1 | 0.02 | 0.02 | | Romania | | | | | 0.05 | 0.04 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | | |
| Germany | | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.2 | | Slovakia | | 0.7 | 0.5 | 0.4 | 0.5 | 0.3 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | | |
| Greece | | | | | | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | | Slovenia | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | |
| Hungary | 0.3 | 0.1 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.4 | 0.4 | 0.5 | 0.5 | | Spain | 0.7 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.3 | 0.2 | 0.4 | | |
| Iceland | <0.01 | 0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | | Switzerland | | | | | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | | |
| Ireland | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | | United Kingdom | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | | |

Résumé

Les antibiotiques sont cruciaux pour la médecine vétérinaire, au même titre que pour la médecine humaine. Dans le cadre de l'élevage, leur utilisation est même au service de la productivité. Dans cette quête de production, leur utilisation a été, et est toujours, excessive. Néanmoins face à la diminution de l'innovation dans le domaine des antibiotiques et à face à l'émergence de souches bactériennes résistantes, leur efficacité est menacée. L'humain s'est longtemps voilé la face en faisant la distinction entre la médecine vétérinaire et humaine, mais cette approche est obsolète quand on tient compte des découvertes relatives aux zoonoses et transmissions de gènes entre bactéries. S'il veut préserver l'efficacité de son arsenal thérapeutique, une approche globale de la médecine est nécessaire. Les antibiotiques à bêta-lactame regroupent des molécules parfois peu importantes, parfois cruciales pour la médecine, leur étude chez le bovin permet une analyse compréhensive du problème.

Abstract

Antibiotics are just as crucial in veterinary medicine as they are in human medicine. Within the context of breeding, their use is an asset to productivity. In this quest for production, this use has been, and is still, unreasonable. However, because of emerging resistant bacteria, pharmacological innovation hasn't been able to keep up and the efficiency of antimicrobials is on the brink of collapse. Humanity has denied this for long by distinguishing human and animal health. Thanks to scientific research and the advances of knowledge regarding zoonotic diseases and genetic transmission in bacteria, it has become clear that this approach is unsustainable. If humanity wants to preserve the efficiency of its drugs, a more global approach is required. Because beta-lactam antibiotics are such a broad class of substances, from non-vital to essential, reviewing their use in cattle provides a comprehensive approach to the problem.