



HAL
open science

**CARACTERISATION PHENOTYPIQUE ET
MOLECULAIRE DE SALMONELLA SP ET
ESCHERICHIA COLI ISOLEES CHEZ LES BOVINS
DANS LE DISTRICT D'ABIDJAN (CÔTE
D'IVOIRE) : IMPACT BIOLOGIQUE DE
L'UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES**

Kouamé René Yao

► **To cite this version:**

Kouamé René Yao. CARACTERISATION PHENOTYPIQUE ET MOLECULAIRE DE SALMONELLA SP ET ESCHERICHIA COLI ISOLEES CHEZ LES BOVINS DANS LE DISTRICT D'ABIDJAN (CÔTE D'IVOIRE) : IMPACT BIOLOGIQUE DE L'UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES. Bactériologie. Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan,Côte d'Ivoire), 2019. Français. NNT: . tel-02405713

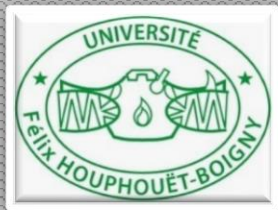
HAL Id: tel-02405713

<https://hal.science/tel-02405713>

Submitted on 11 Dec 2019

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

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



REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de
Pharmacodynamie-
Biochimique

Année Universitaire
2018-2019

THESE

Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de
l'Université Félix HOUPHOUËT BOIGNY

Spécialité : Biologie Fonctionnelle et Moléculaire

Numéro d'ordre
2208/ 2019

M. YAO KOUAME RENE

**CARACTERISATION PHENOTYPIQUE ET MOLECULAIRE
DE *SALMONELLA SP* ET *ESCHERICHIA COLI* ISOLEES CHEZ
LES BOVINS DANS LE DISTRICT D'ABIDJAN (CÔTE
D'IVOIRE) : IMPACT BIOLOGIQUE DE L'UTILISATION DES
ANTIBIOTIQUES**

Soutenu publiquement
Le, 13/ 09 / 2019

Commission du jury

Mme. DOSSO Mireille	Professeur Titulaire	IPCI	Président
M. YAPI Houphouët Félix	Professeur Titulaire	UFHB	Directeur
M. DJAMAN Allico Joseph	Professeur Titulaire	UFHB	Co-Directeur
M. AKPA Eric Essoh	Maître de Conférences	UFHB	Rapporteur
M. DOUMBIA Idrissa	Maître de Conférences	UMAN	Rapporteur
Mme. M'BENGUE Gbonon Valérie	Maître de Recherche	IPCI	Examineur

DEDICACES

Je dédie ce mémoire à :

***DIEU tout Puissant et Miséricordieux**, pour toute la grâce qu'il m'accorde à chaque instant de mon existence et tous ses bienfaits qui ont contribué à l'élaboration de ce travail. Merci mon Dieu.*

Mon Père,

Feu YAO Yao ; Papa, là où tu es actuellement trouve dans ce travail le résultat de tous tes sacrifices et prières de même que l'expression de tout mon amour à ton égard. J'aurais voulu que tu sois présent pour partager ces moments. Que Dieu t'accepte dans son royaume céleste.

Ma Mère

KOFFI Aya

Mes frères

YAO Kouadio Mathias,

YAO Kouassi Sévérin,

YAO Koffi Félix

Mes Sœurs

KOUAME Aminoë Noëlle,

TANO Ahou Juliette,

YAO Akissi Blandine,

Ma chérie

KOUASSI Anne-Sandra.

Et à tous ceux qui me sont chers. Que le Seigneur de l'univers vous bénisse et vous protège.

REMERCIEMENTS

Au Président de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, Monsieur **KARAMOKO Abou** Professeur titulaire de Philosophie, au Directeur de l'UFR Biosciences, Monsieur **KOUAMELAN Essétchi Paul** Professeur titulaire d'Hydrobiologie et tous les membres de l'administration de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody. Je voudrais exprimer toute ma gratitude pour avoir accepté mon inscription et faciliter les demandes administratives tout au long de ma formation.

A Madame **DOSSO Mireille**, Professeur titulaire de Bactériologie-Virologie, Directrice de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Grand merci à vous cher Professeur pour l'opportunité que vous m'avez donné en m'ouvrant les portes de votre institution. Votre rigueur dans le travail et votre grande culture scientifique fait de vous une référence dans le domaine des sciences biologiques. Je suis très honoré qu'un Scientifique de votre rang préside ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance et ma plus grande admiration. Que le tout puissant vous bénisse et vous comble continuellement de sa grâce.

A Monsieur **YAPI Houphouët Félix**, Professeur titulaire de Biochimie à l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody. Vous êtes pour moi une source d'inspiration intarissable. Votre disponibilité, votre ardeur au travail ainsi que vos sages conseils ont été pour moi une réelle source de motivation. Veuillez recevoir ici mes sincères remerciements pour avoir accepté de diriger cette thèse. Puisse Dieu vous le rendre au-delà de vos espérances.

A Monsieur **DJAMAN Allico Joseph**, Professeur titulaire de Biochimie-Parasitologie, Directeur du Laboratoire de Pharmacodynamique-Biochimie de l'UFR Biosciences à l'Université Félix Houphouët Boigny de Cocody, Chef de Département de Biochimie Médicale et Fondamentale de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Chercheur associé à l'UPR 3294 CNRS de l'Université Paris-Sud, Orsay en France. Je vous prie de bien vouloir recevoir toute ma profonde gratitude pour avoir permis de faire ma première inscription en thèse au sein de votre laboratoire. Je vous suis également reconnaissant pour avoir accepté de co-diriger ce travail. C'est pour moi un véritable honneur. Merci pour votre disponibilité, vos remarques pertinentes et instructives, vos conseils et votre amour pour le travail bien fait. Que Dieu vous bénisse infiniment.

A Monsieur **APKA Éric Essoh**, Maître de conférences au laboratoire de Biotechnologie de l'UFR Biosciences à l'Université Félix Houphouët Boigny. Votre rigueur dans le travail et votre grande culture scientifique m'ont permis d'améliorer ce travail. Merci pour l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger dans ce jury en tant qu'instructeur de cette thèse.

A Monsieur **DOUMBIA Idrissa**, Maître de Conférences à l'Université de Man. Je vous remercie cher Maître pour l'ensemble de vos remarques et critiques ainsi que pour votre disponibilité à instruire ce mémoire de thèse. Je tiens à vous assurer de ma grande estime et de ma profonde gratitude.

A Madame **M'BENGUE Gbonon Valérie**, Médecin biologiste, Maître de Recherche, Chef de l'Unité de Réception, d'Accueil et de Prélèvement (URAP) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Également chef adjoint de l'Unité des Antibiotiques, des Substances naturelles et de la surveillance des Micro-organismes aux Anti-infectieux (ASSURMI) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI). Je vous dis sincèrement merci d'avoir accepté de participer au jury de cette thèse, en étant l'examineur. Votre contribution aussi bien dans la forme que dans le fond m'a été très précieuse.

A Monsieur **COULIBALY Kalpy Julien**, Médecin, Chargé de Recherche, chef Adjoint de l'Unité d'Etude et de Recherche des Contaminants Chimiques et Microbiologiques dans les aliments (UNERCO), chef de l'Unité de Chimie et Microbiologie Environnementale (UCME), chef par intérim du département Environnement-Santé (DES) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Veuillez recevoir ici mes sincères remerciements pour m'avoir accueilli à bras ouverts et sans aucune hésitation dans votre unité. Vous vous êtes toujours comporté comme un véritable père et un grand frère pour moi durant toutes ces longues années. Que ce travail soit pour moi une occasion de vous témoigner ma reconnaissance pour votre investissement personnel, vos critiques constructives et vos conseils qui m'ont été très précieux. Soyez-en infiniment remercié. Que Dieu vous bénisse tous les jours de votre vie.

A Madame **GOUALIE Glossi Bernadette** et Monsieur **DJYH Bernard**, Maître-assistant à l'UFR Biosciences. Vous m'avez initié à la recherche et vous continuez d'être des guides pour moi par vos conseils, vos encouragements et aussi pour toute la confiance que vous exprimez à mon égard. Merci surtout pour votre disponibilité et votre simplicité. Que le Seigneur bénisse vous et votre famille.

A Monsieur **CISSE Souleymane**, Attaché de Recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Merci infiniment de m'avoir accueilli dans votre laboratoire pour la réalisation de mes travaux sur le Maldi-Tof. Je vous suis entièrement reconnaissant. Puisse Dieu vous bénir abondamment pour cette marque d'attention à mon endroit.

A Messieurs **N'GOLO David**, **AKO Béranger**, **TIECOURA Bertin**, **TOTY Abalé**, Chargé et Attaché de Recherche à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Malgré vos nombreuses occupations, vous n'avez ménagé aucun effort pour la réalisation de ce travail. Soyez-en profondément remercié.

A Monsieur **OUATTARA Drissa**, Directeur des Abattoirs et de l'hygiène alimentaire. Grand merci à vous de m'avoir permis d'accéder aux locaux de l'Abattoir de Port-Bouët pour effectuer mes travaux. Je vous témoigne ici toute ma gratitude.

A Monsieur **YOUNGONE Bi Arnaud**, Docteur Vétérinaire à l'abattoir de Port-Bouët. Votre promptitude à diriger mes travaux au niveau des parcs à bétails et de l'abattoir de Port-Bouët m'a été d'une grande aide. Merci infiniment.

A Monsieur **EHUE Pierre**, Ingénieur au Laboratoire de l'Unité de Chimie et de Microbiologie Environnementale (UCME). Grand merci pour votre aide et vos conseils.

A Messieurs **KISSIEDOU Eugène**, **AKPOUDJOU Alexandre** et **YAVO Albert**, Techniciens de laboratoire. Merci infiniment pour votre disponibilité. Dieu vous le rende au centuple.

Mes vifs remerciements à toute l'équipe de UCME et UNERCO en particulier Docteur **VAKOU Sabine**, Docteur **AMON Lydie**, **COULIBALY Emmanuel**, **YEO Kadjowoly**, **GUEU Roméo**, **YAO Djeha Rosine**, **OUATTARA Aminata**, **BAMBA Aboubakar**, **YAO Erick**, **KONE Mamadou**, **AHOUTOU Mathias**, **BERNAUD Nicolas**, **TETTY Marie-Pascale** et **OUTTARA Yacoura**.

A tout le personnel de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Merci pour votre collaboration et votre sympathie à mon égard.

A tout le personnel enseignant du Laboratoire de Pharmacodynamie-Biochimique de l'UFR Biosciences. Grand merci à vous d'avoir contribué à ma formation.

✓ *Professeurs Titulaires*

Monsieur DJAMAN A. Joseph <i>Directeur du laboratoire</i>	Professeur titulaire
Monsieur BIDIE A. Dit Philippe	Professeur titulaire
Monsieur COULIBALY Adama <i>Chef d'unité</i>	Professeur titulaire
Monsieur N'GUESSAN Jean David <i>Chef d'unité</i>	Professeur titulaire
Monsieur YAPI H. Félix	Professeur titulaire
Monsieur YAPO A. Francis	Professeur titulaire

✓ *Maîtres de Conférences*

Monsieur BAGRE Issa	Maître de conférences
Monsieur BAHY Calixte	Maître de conférences
Monsieur BLA K. Brice	Maître de conférences
Monsieur COULIBALY F. A.	Maître de conférences

Monsieur KRA Adou M.	Maître de conférences
Monsieur OUATTARA Karamoko	Maître de conférences
Monsieur TREBISSOU Johnson Noël	Maître de conférences
Monsieur YEO Dodéhé	Maître de conférences
Madame THES P. Marie Epse SOUMAHORO	Maître-assistant
<i>✓ Maîtres-Assistants</i>	
Madame AGRE Josette Épse KOUADIO	Maître-assistant
Monsieur AHUA Maximin	Maître-assistant
Monsieur DJYH Bernard Nazaire	Maître-assistant
Monsieur KOUASSI K. Serge	Maître-assistant
Monsieur KOUASSI Konan	Maître-assistant
Monsieur OUATTARA Sitapha	Maître-assistant
Monsieur PAKORA Gilles Alex	Maître-assistant
<i>✓ Chargés de Recherche</i>	
Monsieur AKAPO-AKUE Joël	Chargé de Recherche
Monsieur KIPRE G. Rolland	Chargé de Recherche
Madame LUTTY A. Constance	Chargé de Recherche
<i>✓ Assistants</i>	
Monsieur BAMBA Abou	Assistant
Monsieur DAGNOGO Oléfongo	Assistant
Monsieur YOUAN G. Pascale	Assistant
<i>✓ Enseignant du secondaire détaché</i>	
Madame KONE Salimata Épse COULIBALY	Professeur certifié

TABLE DES MATIERES	Pages
DEDICACES	I
REMERCIEMENTS	II
TABLE DES MATIERES	VI
Liste des abreviations	XIV
Liste des figures	XV
Liste des tableaux	XVI
INTRODUCTION	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1. Generalites sur l'élevage en Côte d'Ivoire.....	6
1.1. Elevage en Côte d'Ivoire.....	6
1.1.1. Historique	6
1.1.2. Composition du cheptel	6
1.2. Filière bovine en Côte d'Ivoire	6
1.2.1. Situation géographique de l'élevage bovin.....	6
1.2.2. Typologie du cheptel bovin	7
1.2.3. Principaux systèmes d'élevage	8
1.2.3.1. Système traditionnel.....	8
1.2.3.2. Système traditionnel amélioré.....	9
1.2.3.3. Système moderne	9
1.2.4. Importance socio-économique de l'élevage bovin	9
1.3. Principaux produits de l'élevage bovin	9
1.4. Demande étrangère en bétail	10
1.5. Caractéristiques du marché à bétails de Côte d'Ivoire	10
1.6. Approvisionnement des marchés à bétails d'Abidjan	10
1.7. Contrainte sanitaire et pathologie rencontrée en élevage bovin en Côte d'Ivoire.....	10
2. Etude des bacteries pathogenes : genres <i>Salmonella</i> et <i>Escherichia</i>	11
2.1. Genre <i>Salmonella</i>	11

2.1.1. Historique	11
2.1.2. Taxonomie et Nomenclature.....	11
2.1.3. Epidémiologie.....	12
2.1.3.1. Réservoir	12
2.1.3.2. Dynamisme et mode de contamination	12
2.1.4. Bactériologie.....	13
2.1.5. Physiopathologie.....	14
2.1.5.1. Facteurs de virulences	14
2.1.5.2. Pathogénie	15
2.1.6. Pouvoir pathogène de <i>Salmonella</i>	16
2.1.6.1. Chez les humains	16
2.1.6.2. Chez les bovins	17
2.1.7. Diagnostic d'une infection à <i>Salmonella</i>	17
2.1.8. Traitement.....	18
2.1.8.1. Préventif.....	18
2.1.8.2. Curatif	18
2.2. Genre <i>Escherichia</i>	19
2.2.1. Historique	19
2.2.2. Taxonomie et classification	19
2.2.3. Epidémiologie.....	20
2.2.3.1. Habitat et hôte de <i>Escherichia coli</i>	20
2.2.3.2. Réservoir et mode de transmission	20
2.2.4. Bactériologie.....	20
2.2.5. Physiopathologie.....	21
2.2.5.1. Infections intestinales.....	22
2.2.5.2. Infections extra-intestinales	22
2.2.5.3. Facteurs de virulences	22
2.2.6. Pouvoir pathogène	23

2.2.6.1. Chez l'Homme	24
2.2.6.1.1. Pathogènes intestinaux	24
2.2.6.1.2. Pathogènes extra-intestinaux	25
2.2.6.2. Chez les bovins	25
2.2.7. Diagnostic d'une infection causée par <i>Escherichia coli</i>	26
2.2.8. Traitement.....	26
2.2.8.1. Préventif.....	26
2.2.8.2. Curatif	26
3. Antibiotiques.....	27
3.1. Définition.....	27
3.2. Classification des antibiotiques	27
3.3. Mode d'action des antibiotiques.....	28
3.4. Site d'action des antibiotiques.....	32
3.5. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin	34
3.5.1. Objectif de l'utilisation des antibiotiques en élevage	34
3.5.2. Différentes voies d'utilisation des antibiotiques en élevage.....	34
3.6. Principaux antibiotiques utilisés en élevage.....	34
3.7. Risques liés à l'utilisation des antibiotiques.....	36
3.7.1. Risque lié aux résidus d'antibiotiques	36
3.7.2. Sélection de bactéries résistantes	36
4. Résistance bactérienne	36
4.1. Définition de la résistance	36
4.2. Différents types de résistance.....	37
4.2.1. Résistance naturelle	37
4.2.2. Résistance acquise	37
4.3. Mécanisme de résistance	37
4.3.1. Perméabilité réduite	38
4.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	38

4.3.3. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	38
4.3.4. Pompes à efflux	39
4.3.5. Protection de la cible de l'antibiotique	39
4.3.6. Piégeage de l'antibiotique.....	39
4.4. Supports génétiques de la résistance	39
4.4.1. Support chromosomique.....	40
4.4.2. Support extra-chromosomique.....	40
4.4.2.1. Eléments génétiques mobiles	40
4.4.2.1.1. Plasmides.....	40
4.4.2.1.2. Transposons.....	41
4.4.2.1.3. Intégrons.....	44
4.4.2.2. Mécanismes de transfert du matériel génétique	46
4.4.2.2.1. Transformation	46
4.4.2.2.2. Transduction.....	46
4.4.2.2.3. Conjugaison.....	46
4.5. Mécanisme de résistance aux antibiotiques.....	47
4.5.1. Résistance aux bêta-lactamines	47
4.5.1.1. Définition et classification des bêta-lactamines.....	47
4.5.1.2. Mode d'action des bêta-lactamines.....	47
4.5.1.3. Mécanisme de résistance aux bêta-lactamines.....	49
4.5.1.3.1. Mécanisme de résistance non enzymatique.....	49
4.5.1.3.2. Mécanisme de résistance enzymatique : Bêta-lactamases	50
4.5.1.3.2.1. Classification de Ambler	50
4.5.1.3.2.2. Classification de Bush	51
4.5.1.3.2.3. Mécanisme d'action des bêta-lactamases	52
4.5.1.3.2.4. Différents type de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).....	52
4.5.2. Résistance aux quinolones.....	54
4.5.2.1. Généralité sur les quinolones	54

4.5.2.2. Mode d'action	55
4.5.2.3. Mécanisme de résistance aux quinolones	56
4.5.3. Résistance aux cyclines	58
5. Transmission de l'antibiorésistance.....	59
MATERIEL ET METHODES	61
1. Matériel.....	62
1.1. Type d'étude.....	62
1.1. Cadre et période d'étude.....	62
1.3. Matériel biologique	62
1.4. Matériel technique.....	66
1.4.1. Milieux de cultures	66
1.4.2. Réactifs pour le Sérotypage	66
1.4.3. Réactifs pour l'antibiogramme	66
1.4.4. Réactifs pour la Biologie Moléculaire.....	66
1.4.5. Amorces et souches de référence.....	68
1.4.6. Equipements	68
2. Méthodes.....	72
2.1. Enquête sur l'utilisation des antibiotiques.....	72
2.2. Echantillonnage	72
2.2.1. Taille de l'échantillon	72
2.2.2. Plan d'échantillonnage.....	72
2.3. Analyses bactériologiques.....	73
2.3.1. Isolement des souches de <i>Salmonella</i>	73
2.3.1.1. Pré-enrichissement	73
2.3.1.2. Enrichissement sélectif	73
2.3.1.3. Isolement sélectif	73
2.3.2. Isolement des souches de <i>Escherichia coli</i> productrice de bêta-lactamase.....	74
2.3.2.1. Préparation du milieu d'isolement.....	74

2.3.2.1.1. Préparation de la solution stock d'antibiotique (0,4 mg/mL).....	74
2.3.2.1.2. Préparation du milieu Rapid <i>E. coli</i> 2 additionné de Ceftazidime (2 mg/L).....	74
2.3.2.2. Isolement des souches de <i>Escherichia coli</i> productrices de bêta-lactamase.....	74
2.3.3. Identification des souches de <i>Salmonella</i> et de <i>Escherichia coli</i> productrices de bêta-lactamase isolées	74
2.3.3.1. Identification morphologique.....	75
2.3.3.2. Identification biochimique	75
2.3.3.3. Identification des souches au Maldi-Tof (Vitek MS)	77
2.4. Caractérisation phénotypique des souches de <i>Salmonella</i> et <i>Escherichia coli</i> productrices de bêta-lactamase.....	78
2.4.1. Détermination de la diversité des souches isolées	78
2.4.1.1. Détermination de l'antigène somatique et flagellaire des <i>Salmonella</i> par sérotypage	78
2.4.1.2. Détermination de l'antigène somatique de <i>Escherichia coli</i> par sérotypage	78
2.4.1.2.1. Groupage des souches de <i>Escherichia coli</i> par séro- agglutination	79
2.4.1.2.2. Détermination du sérotype O157	79
2.4.2. Antibiogramme des souches de <i>Salmonella</i> et <i>Escherichia coli</i> isolées	80
2.4.3. Détection du phénotype BLSE selon le test de double disque synergie.....	81
2.5. Caractérisation moléculaire des souches bactériennes	83
2.5.1. Choix des souches.....	83
2.5.2. Préparation des souches	83
2.5.3. Recherche des gènes de résistance par PCR.....	83
2.5.3.1. Extraction d'ADN génomique par la méthode phénol-chloroforme-iso amylique.....	83
2.5.3.1.1. Extraction de l'ADN	83
2.5.3.1.2. Purification de l'ADN	84
2.5.3.2. Réalisation de la PCR	84
2.5.3.3. Migration et observation du gel	84

2.5.4. Recherche des gènes de virulence	86
2.5.4.1. Extraction de l'ADN total par choc thermique	86
2.5.4.2. Amplification des gènes de virulence	86
2.5.4.3. Analyse des produits d'amplification	86
2.6. Traitement des données	86
RESULTATS	88
1. Utilisation des antibiotiques en production bovine	89
1.1. Caractérisation des gestionnaires de la production bovine	89
1.2. Information sur le cheptel bovin	89
1.3. Utilisation des antibiotiques	93
1.4. Suivi vétérinaire	93
1.5. Mode d'approvisionnement en antibiotique	93
1.6. Antibiothérapie	97
1.7. Principales familles d'antibiotiques	97
1.8. Relation entre l'utilisation de la tétracycline et les caractéristiques des enquêtés	97
2. Isolement et identification des souches de <i>Salmonella</i> et <i>Escherichia coli</i>	102
2.1. Fréquence d'isolement des souches de <i>Salmonella</i> et de <i>Escherichia coli</i>	102
2.2. Répartition des souches selon l'aspect des bouses	105
2.3. Sérotypes des souches de <i>Salmonella</i> et de <i>Escherichia coli</i> isolées dans les bouses	107
2.3.1. Sérotypes des souches de <i>Salmonella</i>	107
2.3.2. Sérotypes des souches de <i>Escherichia coli</i>	107
3. Profil de résistance	110
3.1. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de <i>Salmonella</i> et de <i>Escherichia coli</i>	110
3.1.1. Profil de résistance des souches de <i>Salmonella</i>	110
3.1.2. Profil de résistance des souches de <i>Escherichia coli</i> résistantes à la ceftazidime	112
3.2. Détection des souches de <i>Escherichia coli</i> productrices de bêtalactamase à spectre élargi (BLSE)	114

4. Caractérisation moléculaire des souches <i>Salmonella</i> et <i>Escherichia coli</i> isolées	117
4.1. Caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques	117
4.1.1. Gènes de résistance aux bêta-lactamines détectés	117
4.1.2. Gènes de résistance aux quinolones détectés.....	121
4.1.3. Gènes de résistance aux cyclines détectés	121
4.2. Caractérisation moléculaire de la pathogénicité.....	126
4.2.1. Gènes de virulence détectés chez les souches de <i>Salmonella</i>	126
4.2.2. Gènes de pathogénités détecté chez les souches de <i>Escherichia coli</i> isolées.....	130
DISCUSSION	135
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	153
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	157
PUBLICATIONS	193

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	: Acide désoxyribonucléique
ATCC	: American Type Culture Collection
BLSE	: Béta-lactamase à spectre Elargi
C1G	: Céphalosporines de 1ème génération
C2G	: Céphalosporines de 2ème génération
C3G	: Céphalosporines de 3ème génération
C4G	: Céphalosporines de 4ème génération
CASFM	: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CTX-M	: Céfotaximase Munich
ECAD	: <i>Escherichia coli</i> à Adhésion Diffuse
ECEA	: <i>Escherichia coli</i> Entéroaggregative
ECEH	: <i>Escherichia coli</i> Entérohémorragique
ECEI	: <i>Escherichia coli</i> Entéroinvasive
ECEP	: <i>Escherichia coli</i> Entéropathogène
ECET	: <i>Escherichia coli</i> Entérotoxinogène
EDTA	: Acide Ethylène Diamine Tétra acétique
ExPEC	: <i>Escherichia coli</i> pathogènes extra-intestinales
KCN	: Cyanure de potassium
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
PPi	: Préparation pour injection
SHV	: SulfhydrylVariable
UFC	: Unité Formant Colonie
SHV	: SulfhydrylVariable
UFC	: Unité Formant Colonie

LISTE DES FIGURES	Pages
Figure 1: Principaux sites d'action de divers antibiotiques.....	33
Figure 2: Représentation simplifiée d'une séquence d'insertion, d'un transposon composite et d'un transposon complexe.....	43
Figure 3: Structure générale des intégrons.....	45
Figure 4: Structure des bêta-lactamines	48
Figure 5: Mécanisme de résistance aux quinolones.....	57
Figure 6: complexité des interactions entre les différents écosystèmes	60
Figure 7: Selles fraîches de bovin.....	64
Figure 8 : Les différents sites de prélèvement dans le district d'Abidjan	65
Figure 9: Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de double synergie.....	82
Figure 10: Pays de provenance du cheptel.....	91
Figure 11: Principales familles d'antibiotiques utilisées par les éleveurs.....	99
Figure 12: Effet des différentes variables indépendantes associées à l'utilisation de la tétracycline dans les élevages.....	101
Figure 13: Colonies suspectes de <i>Salmonella</i> et de <i>E. coli</i> sur des milieux spécifiques.....	103
Figure 14: Prévalence des souches de <i>Salmonella</i> et de <i>E. coli</i> en fonction de la commune.....	104
Figure 15 : Distribution des souches de <i>Salmonella</i> et de <i>E. coli</i> selon l'aspect des bouses en fonction des communes.....	106
Figure 16 : Test de double synergie	115
Figure 17 : Répartition des souches de <i>E. coli</i> BLSE selon les communes.....	116
Figure 18 : Profil électrophorétique des gènes <i>bla_{CTX-M}</i> , <i>bla_{SHV}</i> et <i>bla_{TEM}</i>	118
Figure 19 : Profil électrophorétique des gènes <i>qnrA</i> , <i>qnrB</i> et <i>qnrS</i>	122
Figure 20: Profil électrophorétique du gène <i>tetA</i> de la résistance aux cyclines détectée.....	125
Figure 21: Profils électrophorétiques des gènes de virulence détectés chez <i>Salmonella</i>	127
Figure 22: Profils électrophorétiques des gènes de virulence détectés chez <i>E. coli</i>	131

LISTE DES TABLEAUX

Pages

Tableau I	: Mode d'action des principales classes et molécules d'antibiotiques	31
Tableau II	: Liste des agents antimicrobiens important utilisés en médecine vétérinaire	35
Tableau III	: Liste des disques d'antibiotiques testés.....	67
Tableau IV	: Liste des amorces utilisées pour la détection des gènes de résistance.....	69
Tableau V	: Liste des amorces pour la détection des gènes de virulence.....	70
Tableau VI	: Liste des souches de référence pour la réalisation des différents tests.....	71
Tableau VII	: Programmes PCR pour la détection des gènes de résistance.....	85
Tableau VIII	: Programmes PCR pour la détection des gènes de pathogénicité.....	87
Tableau IX	: Nombre de gestionnaires enquêtés en fonction des communes.....	90
Tableau X	: Caractérisation des enquêtés.....	90
Tableau XI	: Gestion du cheptel bovin.....	92
Tableau XII	: Modalité d'utilisation des antibiotiques.....	94
Tableau XIII	: Etat du suivi vétérinaire.....	95
Tableau XIV	: Mode d'approvisionnement en antibiotiques.....	96
Tableau XV	: Pratique de l'antibiothérapie.....	98
Tableau XVI	: Analyse de régression logistique multivariée de variables indépendantes associées à l'utilisation de la tétracycline.....	100
Tableau XVII	: Répartition des sérotypes de <i>Salmonella</i> selon les communes.....	108
Tableau XVIII	: Répartition des sérogroupes des souches de <i>E. coli</i> selon les communes.....	109
Tableau XIX	: Résistance des souches de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques.....	111
Tableau XX	: Résistance des souches d' <i>E. coli</i> aux antibiotiques.....	113
Tableau XXI	: Taux de détection des gènes de résistance aux bêtalactamines.....	119
Tableau XXII	: Profils génotypiques des gènes de résistance aux bêta-lactamines.....	120
Tableau XXIII	: Taux de détection des gènes de résistance aux quinolones.....	123
Tableau XXIV	: Profils génotypiques de la résistance aux quinolones.....	124

Tableau XXV	: Prévalence des gènes de virulence en fonction des communes.....	128
Tableau XXVI	: Gènes de virulence et sérotypes des différentes souches de salmonelles.....	129
Tableau XXVII	: Pathovars et distribution des gènes de virulence des souches de <i>E. coli</i>	132
Tableau XXVIII	: Répartition des pathovars obtenus par commune.....	134

INTRODUCTION

La sécurité sanitaire des denrées alimentaires devient de plus en plus une préoccupation importante en santé publique (OMS, 2014). Les estimations mondiales publiées sur les maladies d'origine alimentaire ont montré que, chaque année, une personne sur dix tombe malade en consommant des aliments contaminés et que 420 000 de ces personnes en meurent. Les enfants de moins de cinq ans sont les plus exposés et 125 000 meurent chaque année (OMS, 2015). Certaines régions africaines sont proportionnellement très confrontées à ce problème.

En effet, on estime à plus de 91 millions le nombre de cas et à 137 000 celui des décès par an (OMS, 2015). De plus, de nombreux rapports épidémiologiques ont incriminé les bactéries comme la principale cause des maladies d'origine alimentaire (Todd, 1997 ; Petersen et James, 1998). Ces bactéries colonisent pour certaines, les voies gastro-intestinales d'un large éventail d'animaux, en particulier les animaux élevés pour la consommation humaine (Meng et Doyle, 1998). Aussi, agissent-elles principalement en causant d'une part des diarrhées parfois sanguinolentes qui peuvent conduire à la mort des animaux d'élevage et d'autre part entraîner de sévères toxi-infections alimentaires chez l'homme.

L'élevage constitue une activité socio-économique importante en Côte d'Ivoire car il demeure une source importante de revenus, d'emplois et contribue à la sécurité alimentaire (Anonyme 1, 2014). Ce secteur est caractérisé par un système agropastoral de type extensif, sédentaire ou semi transhumant et est en majorité dominé par les pratiques traditionnelles. L'élevage contribue à 4,5 % au produit intérieur brut (PIB) agricole et 2% au PIB total (Sokouri *et al.*, 2009). De plus, l'intensification de la production animale au cours des dernières décennies a été possible grâce à l'utilisation des médicaments vétérinaires en élevage moderne (Moretain, 2005 ; Tatsadjieu *et al.*, 2009). Ces médicaments sont utilisés soit pour un traitement curatif, soit pour un traitement préventif ou encore dans certains cas extrêmes, pour pallier des insuffisances en matière d'hygiène dans l'élevage (Sanders, 2005). Ils sont également utilisés comme additifs alimentaires ou comme promoteur de croissance (Dibner et Richards, 2005).

L'objectif d'un traitement antibiotique est de réduire la population de bactéries sur le site de l'infection pour permettre la guérison (Sander *et al.*, 2017). Cependant, l'un des risques majeurs associés est la sélection de la résistance aux antibiotiques chez ces bactéries pathogènes, pouvant conduire à un échec thérapeutique chez l'animal. En effet, une mauvaise utilisation des antibiotiques en élevage crée une pression de sélection en réduisant le nombre de bactéries sensibles présentes dans la flore intestinale des animaux (Chanson, 2003).

Le développement de la résistance aux antibiotiques est un processus complexe régi par une multiplicité et une variabilité de facteurs. Cependant, l'exposition aux antibiotiques est clairement considérée comme jouant un grand rôle dans ce développement (Witte, 2000 ; Levy et Marshall,

2004). Ainsi, certains scientifiques et responsables de la santé publique sont préoccupés par le fait que la mauvaise utilisation des antibiotiques chez les animaux d'élevage pourrait favoriser le développement de bactéries résistantes qui sont ensuite disséminées dans les populations humaines (**Barton, 1998 ; Angulo et al., 2004**). Par ailleurs, très peu d'information existe sur l'utilisation des antibiotiques et la résistance des bactéries dans les élevages des pays en voie de développement, où la majorité du bétail est détenue dans des petites exploitations (**Redding et al., 2014**).

La prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques peut être un indicateur des niveaux d'utilisation des antibiotiques chez le bétail (**Mainda et al., 2015**). En effet, les bactéries commensales (*E. coli*) au sein du microbiote intestinal du bétail peuvent évoluer vers une résistance, augmentant ainsi le nombre de gènes de résistance. Aussi, au sein de leur microbiote intestinal, des bactéries pathogènes pour l'homme telles que des souches de salmonelles et de *Campylobacter* peuvent-elles être également présentes. Celles-ci peuvent contaminer les denrées alimentaires et être à l'origine de toxi-infection d'origine alimentaire (**Sanders, 2005**). La sélection de souches résistantes aux antibiotiques chez ces bactéries zoonotiques peut conduire à une inefficacité lors du traitement des infections chez l'homme. Cette sélection s'effectue également pour ces bactéries pathogènes présentes dans l'environnement des animaux du fait de la présence de résidus d'antibiotiques actifs dans les excréments animales (urine, matière fécale). De plus, pour ces différentes catégories de bactéries, le principal risque est la sélection de gènes de résistance aux antibiotiques portés par des éléments génétiques mobiles. Ces éléments peuvent être transférés à des bactéries sensibles de différentes espèces bactériennes selon différents mécanismes (transformation, transduction et conjugaison) (**Baquero, 2011**). Dans le cadre des plans de surveillance européen, certains mécanismes de résistance des bactéries telles *E. coli* et *Salmonella* font l'objet d'une surveillance ciblée.

Toutefois, la connaissance de l'utilisation des antibiotiques et les facteurs influençant l'utilisation sont importants pour la gestion des maladies infectieuses d'origine bactérienne dans les élevages de bétail. Aussi, l'utilisation prudente, la bonne gestion des antibiotiques, la surveillance des résidus d'antibiotiques dans les aliments sont également important pour la limitation de la sélection des bactéries résistantes aux antimicrobiens (**Berge et al., 2003**). Des études de surveillance à long terme sont donc nécessaires pour suivre à la fois les changements dans la prévalence de la résistance et pour mieux comprendre les associations potentielles entre l'utilisation des antibiotiques et le développement de la résistance chez les bovins.

Cependant, il y a de nombreux défis à l'étude des relations entre l'utilisation des antibiotiques et le développement de la résistance bactérienne (**Lowrance et al., 2007 ; Singer et Williams-Nguyen, 2014**). D'ailleurs, le problème des résistances bactériennes aux antibiotiques est devenu un

sujet de préoccupation croissant pour le grand public et fait l'objet d'un intérêt scientifique accru. En Côte d'Ivoire et comme dans la plupart des pays d'Afrique de l'Ouest, les informations font état d'une mauvaise utilisation des antibiotiques par les éleveurs (**Biagui, 2002**).

La production totale ivoirienne de viande était estimée à 171 000 tonnes et les besoins de consommation en viande étaient couverts à 94 % par cette production totale en 2004 (**FAO, 2005**). Le nombre de cheptel bovin couvrait à lui seul 29% de la consommation de viande bovine en 2005. La conduite de l'élevage reste dominée par les pratiques traditionnelles pendant lesquelles les soins de santé des animaux sont faits de façon empirique impliquant une mauvaise utilisation des antibiotiques (**Anonyme 1, 2014**). Malheureusement, il n'existe aucune donnée sur la gestion de l'élevage bovin dans le développement des résistances aux antibiotiques et leur transfert possible à l'homme.

D'où la nécessité de considérer dans une logique d'une seule santé (**One Health**), que la présence des bactéries résistantes aux antibiotiques et potentiellement pathogènes dans les environnements influencés par les bovins représente un enjeu majeur de santé.

L'objectif général de ce travail est de déterminer l'impact biologique des traitements antibiotiques chez l'animal sur l'antibiorésistance des bactéries pathogènes humaines. Cet objectif se décline en quatre objectifs spécifiques qui ont consisté à :

- Evaluer le mode d'utilisation des antibiotiques dans les élevages de bovins.
- Etablir le profil de résistance des souches de *Salmonella* et de *E. coli* productrices de bêta-lactamases à spectre élargi isolées des élevages de bovins.
- Analyser le potentiel de pathogénicité par la recherche des gènes de virulence.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Generalites sur l'élevage en Côte d'Ivoire

1.1. Elevage en Côte d'Ivoire

1.1.1. Historique

La Côte d'Ivoire, pays côtier ouest africain, n'a pas une forte tradition pastorale. Elle dépend habituellement de la région sahélo-soudanienne pour son approvisionnement en viande de bétail (**Diallo, 2007**). Pour réduire cette dépendance vis-à-vis du marché extérieur, l'état Ivoirien a défini au lendemain de l'indépendance, une politique pastorale se traduisant par la création en 1970 de la Société pour le Développement des Productions Animales (SODEPRA) (**Djakaridja et al., 2014**). Ainsi à travers la SODEPRA, l'état a soutenu le développement de l'élevage pendant deux décennies. Peu après 20 ans, un élevage national productif et moderne a été créé. Pour soutenir la relance des productions nationales des ruminants, le gouvernement a délocalisé en 2003, à Yamoussoukro et Toumodi, les stations et ranches d'élevages. Ainsi, ont été créés, le Projet d'Appui au Développement de l'Elevage Bovin (PAEB), le Projet National d'Appui au Développement Laitier (PNADEL), le Projet d'Appui au Développement de l'Elevage des Petits Ruminants (PADEPR) et le Projet d'Appui au Développement Fourrager (PADEF). Ces structures ont été créées pour poursuivre respectivement les activités du Ranch de Sipilou (Biankouma), du projet Bovin Industriel (Panya à Boundiali, Nironingué à Ouangolodougou), du Centre National Ovin (Béoumi) et de la ferme Semencière de Badikaha (Katiola) (**Kouablé et Tré, 2014**).

1.1.2. Composition du cheptel

Les ressources génétiques animales de la Côte d'Ivoire présentent cinq principales espèces qui sont : bovins, ovins, caprins, porcins et volailles. Il existe trois groupes de bovins autochtones : le Baoulé, le N'Dama et le Lagunaire. La race d'ovin la plus répandue est la fameuse Djallonké que l'on rencontre aussi bien dans les forêts que dans les savanes. Dans le cas des chèvres la seule race présente est la naine de l'Afrique de l'ouest, appelée aussi Djallonké. Les secteurs porcins et de volailles sont dominés par la présence de races locales et de quelques croisements avec des races importées (**Yapi-Gnaore et al, 1996**).

1.2. Filière bovine en Côte d'Ivoire

1.2.1. Situation géographique de l'élevage bovin

La Côte d'Ivoire est située sur la côte occidentale de l'Afrique à 400 km Nord de l'équateur, avec une superficie de 322 463 km. Elle est ouverte sur le Golfe de Guinée avec 550 km de côte, limitée au Nord par le Mali et le Burkina Faso, à l'Ouest par la Guinée et le Liberia, et à l'Est par le Ghana. On distingue trois climats principaux du Sud au Nord soit : un climat équatorial, un climat

tropical humide et un climat soudanien qui se traduit par une agriculture riche et variée. La production bovine est très fortement régionalisée. Près de 80% des bovins se concentrent au Nord du pays, pour seulement 11% au Centre et 9% au Sud. Les régions sahéliennes au Nord de la Côte d'Ivoire ont dû accueillir des pasteurs peuls, burkinabés ou maliens avec leurs troupeaux à la suite des sécheresses qui ont sévi de 1969 à 1974. La région Nord de la Côte d'Ivoire dispose de nombreux atouts favorables à l'élevage de bovins. Le troupeau sédentaire de la région était néanmoins faible (**Le Guen, 2002**).

1.2.2. Typologie du cheptel bovin

Le cheptel est essentiellement concentré dans les régions Nord et Centre du pays (**Anonyme 2, 2003**). Il est composé de cinq types génétiques dans les proportions suivantes :

➤ La race N'dama

La race N'Dama est une race trypanotolérante, bien adaptée au milieu tropical humide et aux conditions de l'élevage extensif traditionnel. Elle a un format moyen (116 cm pour les mâles, 113 cm pour les femelles), et un poids à l'âge adulte (350 à 450 kg pour les mâles, 200 à 300 kg pour les femelles). Les taurins de race N'Dama se rencontrent essentiellement au Centre et au Nord-Ouest de la Côte d'Ivoire.

➤ La race Baoulé

Elle est aussi une race trypanotolérante, très adaptée au milieu tropical humide et aux conditions de l'élevage extensif traditionnel, d'un petit format (100-110 cm pour les mâles, 90-100 cm pour les femelles), d'un poids faible à l'âge adulte (250 à 350 kg pour les mâles et 150 à 250 kg pour les femelles). Elle est caractérisée par une robe de couleur variable, mais plus souvent pie-noire. Les taurins de race Baoulé se rencontrent au Nord-Est et au Centre de la Côte d'Ivoire.

➤ La race Zébus

Le zébu est en grande majorité du type peulh sahélien, très adapté à la marche, très résistant au stress thermique, sensible aux parasites de la zone tropicale humide. Il a un format moyen (120-125 cm pour le mâle, 115-120 cm pour la femelle), un poids à l'âge adulte de 400 kg pour le mâle, 300 kg pour la femelle). On rencontre les zébus essentiellement dans le Nord de la Côte d'Ivoire. Outre ses caractéristiques physiques et son adaptation à la marche, le zébu se distingue des taurins par sa maturité sexuelle très tardive et une période d'intervêlage très longue. Sans traitements trypanocides réguliers, le zébu est tout à fait inadapté aux milieux infestés de glossines.

➤ La race Lagunaire

Elle est une race en voie d'extinction qui se rencontre en zone côtière et forestière. Les animaux ont une conformation comparable à celle du Baoulé, mais ils sont de taille inférieure, généralement pie-noire. C'est une race très résistante adaptée au milieu humide et forestier du Sud de la Côte d'Ivoire.

➤ La race Métisse

Elle est composée de divers métis à savoir :

- Les métis locaux essentiellement issus du croisement Zébu et Baoulé. Ils sont concentrés dans les régions Nord-Est et Centre de la Côte d'Ivoire.
- Les métis taurins issus du croisement Zébu de race locale et taurin (race Montbéliarde, Holstein) ont souvent un format proche de celui du zébu, mais plus compacts et constituent de bons animaux de boucherie.
- Les croisés exotiques qui sont issus de divers métis croisés.

1.2.3. Principaux systèmes d'élevage

L'élevage ivoirien se partage schématiquement en trois systèmes de production bien différenciés que sont le système traditionnel, le système traditionnel amélioré et le système moderne (Anonyme 2, 2003).

1.2.3.1. Système traditionnel

L'élevage traditionnel des bovins est pratiqué sous deux formes extensives : l'élevage sédentaire et l'élevage transhumant.

- Elevage sédentaire

Il est caractérisé par une conduite collective du troupeau regroupé au sein de parcs villageois et confié à la garde de bouviers d'origine sahélienne. Ce système, particulièrement représenté dans la zone des savanes reste assez archaïque, avec un faible niveau d'intervention de la part des propriétaires et des performances zootechniques médiocres à moyennes. Cependant, un pourcentage croissant de propriétaires conscients des défauts inhérents à la conduite collective des animaux, évolue vers une conduite individuelle avec un niveau d'intervention sanitaire et zootechnique plus élevé.

- Elevage transhumant

Il est d'origine sahélienne et s'est développé très progressivement en Côte d'Ivoire à partir de 1950. D'une façon générale, le système transhumant est beaucoup plus homogène que le système

sédentaire. La taille moyenne des troupeaux est de l'ordre de 150 têtes avec un certain nombre d'éleveurs.

1.2.3.2. Système traditionnel amélioré

Ce système d'élevage résulte d'une intensification progressive du système traditionnel. L'adoption des améliorations proposées reste conditionnée par la disponibilité régulière des intrants (sanitaires, aliments complémentaires, matériel génétique), la valorisation économique des efforts de l'éleveur au travers des circuits de commercialisation performants et l'accès à un crédit adapté (facteur important de l'intensification). Au niveau des bovins, les éleveurs du système amélioré sont beaucoup plus conscients de l'intérêt de l'amélioration génétique (**Anonyme 2, 2003**).

1.2.3.3. Système moderne

Le système moderne est représenté par les ranches, les stations d'état et les grands élevages privés. Cependant, malgré un système de production relativement extensif, ce système est handicapé par l'absence d'organisme de commercialisation et des prix largement déterminés par l'offre extérieure.

1.2.4. Importance socio-économique de l'élevage bovin

Le secteur de l'élevage constitue l'une des principales sources de richesse en Afrique de l'Ouest (**Kané, 2008**). Sa contribution au Produit Intérieur Brut (PIB) est variable selon les pays. En Côte d'Ivoire, l'élevage contribue à environ 4,5 % au PIB agricole et 2 % au PIB total. Cependant, l'élevage reste encore une activité économique secondaire. Il constitue, néanmoins, une activité importante qui concourt à l'amélioration de la sécurité alimentaire, à la diversification et à l'augmentation des revenus des paysans et des éleveurs, à l'amélioration de l'équilibre de la balance des paiements et à la préservation et à l'amélioration de l'environnement.

1.3. Principaux produits de l'élevage bovin

La viande bovine, source de protéine occupe une place importante dans l'alimentation quotidienne de la population. Le taux de couverture en viandes bovines est passé de 41 % en 2008 à 42% en 2011. En 2004, la production totale ivoirienne de viande était de 171 000 tonnes et les besoins de consommation en viande étaient couverts à 94 % par la production totale de viande (**Assoumy, 2009**). Cependant, la productivité du cheptel demeure encore faible et la Côte d'Ivoire importe plus de la moitié de sa consommation en viande bovine et en lait.

1.4. Demande étrangère en bétail

La Côte d'Ivoire est fortement tributaire du commerce international en matière d'approvisionnements en produits animaux. En effet, le pays importe globalement 60% et 95% de ses besoins en viande et en lait, respectivement. Selon l'analyse du BNETD relative aux importations de bétail par la Côte d'Ivoire (Rapport de Septembre 2012), le Mali est le principal fournisseur de la Côte d'Ivoire en bovins sur pied avec des volumes en progression.

La Côte d'Ivoire est devenue le deuxième importateur de bovins sur pied du Mali après le Sénégal (d'après les statistiques de l'étude ATP sur la chaîne des valeurs de la filière bétail/viande en 2008), suivi du Nigéria (**Kouablé et Tré, 2014**).

1.5. Caractéristiques du marché à bétails de Côte d'Ivoire

Le commerce du bétail en Côte d'Ivoire est globalement structuré autour de trois grandes catégories de marchés en fonction de la nature des acteurs qui les animent, des formes de transactions qui s'y opèrent et de leurs champs de rayonnement géographique bien qu'une proportion non négligeable des transactions soit faite hors marché. Ces marchés sont des marchés de collecte (principaux bassins d'élevage au Mali, Burkina Faso, Niger, zones Nord et Centre de la Côte d'Ivoire), des marchés de transit (zones plus ou moins proches de la frontière), des marchés terminaux de consommation et de distribution (grandes agglomérations urbaines en Côte d'Ivoire telles que Abidjan, Bouaké, Daloa, Soubré, Abengourou, Yamoussoukro, Man, etc.). Le marché d'Abidjan constitue le principal marché à bétail de la Côte d'Ivoire (**Yao et Kallo, 2015**).

1.6. Approvisionnement des marchés à bétails d'Abidjan

Les animaux arrivent essentiellement de trois grandes régions constituant le couloir central. Ce sont : la région du nord (50%), la région du centre nord (41%) et la région du centre (6%). Ainsi, la structuration de l'approvisionnement du marché à bétail d'Abidjan par la production nationale se caractérise par un circuit Nord-Sud. En dehors du couloir central et de son circuit de bétail, l'approvisionnement à partir des autres régions ivoiriennes reste marginal. La région Nord fournit au marché d'Abidjan la totalité des flux nationaux d'ovins/caprins et de bovins. Pour ce qui concerne le ravitaillement par les pays sahéliens, la part du marché à bétail d'Abidjan est de 77% pour les bovins et 60% pour les petits ruminants. Les principaux fournisseurs de bétail du marché Abidjanais sont le Burkina Faso et le Mali. A ceux-ci, s'ajoutent occasionnellement d'autres pays.

1.7. Contrainte sanitaire et pathologie rencontrée en élevage bovin en Côte d'Ivoire

Le développement de l'élevage est sous la contrainte de nombreux facteurs dont les contraintes pathologiques (**Sanogo et al., 2008**). Les trypanosomoses animales constituent la principale contrainte à la production du bétail en Afrique sub-saharienne (**Berthier et al., 2003 ; Oluwafemi et**

al., 2007). En Côte d'Ivoire, ces contraintes pathologiques sont expliquées par les différentes conditions sanitaires (Zakpa *et al.*, 2014). Cependant, les risques pathologiques rendent nécessaires la mise en place des mesures prophylactiques à caractère sanitaire et médicale pour préserver l'état sanitaire des aliments, des animaux et de l'environnement, au risque de contamination humaine par ingestion. Dans ce cas, l'homme est souvent victime d'une pathologie le plus souvent digestive, de gravité variable, induite par les germes ou leurs toxines, et accompagnée ou non de signes plus spécifiques à tel ou tel agent. C'est le cas de *Brucella abortus* (Mcdermott et Arimi, 2002), *Escherichia coli* (Armstrong *et al.*, 1996), *Salmonella*, *Campylobacter*, etc.

2. Etude des bacteries pathogenes : genres *Salmonella* et *Escherichia*

2.1. Genre *Salmonella*

2.1.1. Historique

Les salmonelles sont des bactéries que l'on retrouve le plus souvent chez les animaux. Ces bactéries sont à l'origine des salmonelloses qui se manifestent principalement sous forme de fièvres typhoïdes et de gastro-entérites ou encore sous forme asymptomatique. Observée comme agent de la fièvre typhoïde par Ebert en 1880, Gaffky est parvenu à la cultiver en 1884. Les salmonelles ont été nommées en l'honneur du bactériologiste et vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon et la mise en évidence de la diversité antigénique a été réalisée en 1896 par Widal (Grimont *et al.*, 2000).

2.1.2. Taxonomie et Nomenclature

Le genre *Salmonella* est une entérobactérie qui représente le genre le plus complexe de la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa nomenclature est controversée et évolue encore. Actuellement, le Centre de contrôle et de prévention des maladies (CDC) utilise le système nomenclatural de *Salmonella* recommandé par le Centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Popoff *et al.*, 2003).

Domaine : Bacteria

Phylum : Protobacteria

Classe : Gamma Protobacteria

Ordre : Enterobacteriales

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Salmonella*

Espèces : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*.

Les espèces de *Salmonella enterica* sont divisées en six sous-espèces (I–VI) (**Brenner et al., 2000**) sur la base de leur lien génomique et de leurs propriétés biochimiques (**Reeves et al., 1989**). Les sous-espèces sont désignées par des chiffres romains : I (*S. enterica* subsp. Enterica); II (*S. enterica* subsp. Salamae); IIIa (*S. enterica* subsp. Arizonae); IIIb (*S. enterica* subsp. Diarizonae); IV (*S. enterica* subsp. Houtenae) et VI (*S. enterica* subsp. Indica). Les membres de *Salmonella enterica* subsp. enterica (I) se trouvent principalement chez les mammifères et contribuent à environ 99% des infections à *Salmonella* chez les humains et les animaux à sang chaud. L'espèce *S. bongori* se retrouvent principalement dans l'environnement et chez les animaux à sang froid, et sont donc rares chez l'homme (**Brenner et al., 2000**).

2.1.3. Epidémiologie

2.1.3.1. Réservoir

Le réservoir des bactéries du genre *Salmonella* est principalement le tube digestif des vertébrés (**Weill, 2008**). De plus, la majorité des salmonelles sont ubiquistes et leur ubiquité se traduit par un large spectre de réservoirs : humains (**Todd et al., 2008**), animaux, et mammifères (**Swanson et al., 2007**), reptiles (**De Jong et al., 2005**), crustacés (**Butt et al., 2004**) etc. Elles peuvent survivre pendant plusieurs mois dans l'environnement (**Korsak, 2004**), dans les aliments d'origine animale (**Oliver et al., 2005**) ou végétale (**Kirk et al., 2008**), dans les fruits et légumes (**Brandl, 2006**). Leur capacité de survie leur permet également de persister dans les boues d'épuration (**Sahlström et al., 2006**), dans les poussières, le duvet et les matières fécales bovines (**Gray et Fedorka-Cray, 2001**). Certains sont exclusivement adaptés à l'homme, en causant une ou des pathologies graves bien particulières. Il s'agit essentiellement de *Salmonella typhi* et *paratyphi*, agents des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes (**Bäumler et al., 1998 ; Hu et Kopecko, 2003**). D'autre peuvent être retrouvées chez tous les vertébrés et les sérotypes peuvent être classés en fonction de l'espèce animale cible. Toute une série de sérotypes peuvent intéresser des espèces animales. Parmi ces sérotypes l'on peut citer ; *S. Dublin* chez des bovins ; Choleraesuis, Typhisuis chez le porc ; Abortusequi chez le cheval, Abortusovis chez le mouton ; Gallinarum, spécifique de la volaille.

2.1.3.2. Dynamisme et mode de contamination

Les salmonelles sont des agents zoonotiques pouvant être isolées de l'intestin de nombreuses espèces animales. Elles sont généralement présentes à l'état latent ou provoquant une maladie sub-clinique, et peuvent atteindre l'homme, soit par voie alimentaire (voie la plus commune) ou, soit par contacts directs ou indirects. Les animaux constituent un réservoir et la dissémination dans l'environnement provient essentiellement des contaminations fécales (**Berends et al., 1996 ; Murray, 2000 ; Hanes, 2003**). La contamination humaine par les salmonelles non-typhiques

s'effectue essentiellement par la consommation d'aliments contaminés (œufs et préparations à base d'œufs, volailles, charcuteries, fromages au lait cru,), consommés crus ou insuffisamment cuits (Weill, 2008). La production de masse de produits alimentaires et leur distribution à grande échelle favorise également la dissémination des salmonelles et l'apparition d'épidémies de grande ampleur (Sánchez-vargas *et al*, 2011). Aussi, au sein des élevages, plus les animaux sont concentrés dans une certaine zone, plus il est difficile de contrôler les transmissions entre eux (Korsak, 2004). Les rongeurs et les insectes peuvent être aussi une source importante de *Salmonella* dans un élevage.

2.1.4. Bactériologie

➤ Caractères morphologiques

Les bactéries du genre *Salmonella* sont des bacilles à Gram négatif, non sporulant de 2 à 3 µm de longueur et de 0,6 à 0,8 µm de large, la plupart du temps douées d'une mobilité propre grâce à une ciliature péritriches. Quelques sérovars sont cependant immobiles comme *S. Gallinarum* et *S. Pullorum* (Popoff et Norel, 1992). Au plan structurale, la membrane cytoplasmique de cette bactérie est entourée par le peptidoglycane puis par la membrane externe qui porte flagelles, pili, glycocalix et lipopolysaccharide. Ces structures ont des rôles importants pour la survie de la bactérie et comme facteurs de virulence.

➤ Caractères cultureux

Les salmonelles sont aéro-anaérobies facultatives. Elles présentent des colonies de 2 à 4 mm de diamètre, après 24 heures d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire. Elles sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides. Elles sont généralement lisses (S : smooth). Cependant, des colonies à bords irréguliers (R : rough) peuvent apparaître après plusieurs passages en série sur des milieux gélosés (Le Minor et Veron, 1989). A partir d'un milieu monomicrobien (le sang ou le liquide céphalorachidien), une gélose ordinaire suffit à leur croissance. Par contre, dans le cas de prélèvements polymicrobiens (les selles), l'utilisation de milieux sélectifs tel que *Salmonella-Shigella* et Hektoen est indispensable.

➤ Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques permettant l'identification du genre *Salmonella* sont l'absence d'uréase, de tryptophane désaminase, mais également l'absence de production d'indole et d'acétoïne (test de Voges-Proskauer négatif). Elles réduisent les nitrites en nitrates, peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone, et fermentent le glucose (Johnson *et al.*, 2007). Cependant elles ne fermentent ni le lactose ni le saccharose. Elles produisent généralement du gaz à partir du glucose à l'exception de *S. Typhi*. La réaction au test d'oxydase est toujours négative (Hanes, 2003). Les deux

espèces du genre *Salmonella* (*S. enterica* et *S. bongori*) peuvent être différenciées par leur capacité à fermenter ou pas le sorbitol. *S. bongori* ne fermente pas le sorbitol, contrairement à *S. enterica*. A l'exception de la plupart des souches de *S. enterica*, elle se cultive sur un milieu contenant du KCN.

➤ Caractères antigéniques

Le schéma développé par Kauffmann et White a permis de classer les salmonelles par sérotype à l'heure actuelle, le genre contient plus de 2500 sérotypes (**Tindall et al., 2005**). Cependant, un rapport du Centre de Recherche et de Politiques sur les Maladies Infectieuses (CIDRAP) classe les membres de l'espèce *Salmonella* en plus de 2541 sérotypes (sérovars) en fonction de leur lipopolysaccharide somatique (O), flagellaire (H) antigènes et parfois l'antigène capsulaire (Vi) et la plupart des souches montrent une variation diphasique des antigènes flagellaires (**Scott, 2010**). Récemment, les Services de Diagnostic de Manitoba (DSM) ont suggéré que le nombre de sérotypes de *Salmonella* qui provoque des maladies chez l'homme maintenant approche 3000 et de nouveaux sérotypes sont identifiés en continu. Cependant, la plupart des laboratoires cliniques préfèrent réaliser des réactions d'agglutination simples avec des anticorps ou antisérums spécifiques (antigènes somatiques O) dans le but de regrouper les salmonelles en six sérogroupes, désignés A, B, C1, C2, D et E. Ce système de groupement fournit des informations précieuses pour les études épidémiologiques et permet l'identification du genre dans des infections à *Salmonella* (**Wattiau et al., 2011**).

2.1.5. Physiopathologie

La salmonelle montre un caractère remarquable pendant l'invasion des cellules hôtes non-phagocytaires pendant laquelle, elle induit sa propre phagocytose afin d'accéder à la cellule hôte (**Hansen-Wester et al., 2002**). La génétique supportant cette stratégie ingénieuse est retrouvée dans les îlots de pathogénicité de salmonelle (SPI) qui est un groupe de gènes localisé dans la grande région de l'ADN chromosomique et qui code pour les gènes impliqués dans le processus d'invasion (**Grassl et Finlay, 2008**).

2.1.5.1. Facteurs de virulences

Les facteurs de virulence sont des produits bactériens nécessaires aux microorganismes pour provoquer une maladie. De nombreux facteurs de virulence de *Salmonella*, tels que l'adhésion, l'invasion et les gènes de toxine, sont regroupés dans certaines zones du chromosome appelées "îlots de pathogénicité de *Salmonella*" (SPI) (**Santos et al., 2003**). Les SPI peuvent être situés sur le chromosome ou sur un plasmide. Ils sont flanqués de séquences répétées et ont tendance à avoir une composition G/C variée par rapport à la région environnante. Les SPI se caractérisent par une composition de base différente de celle du génome principal et sont souvent associés à des gènes d'ARNt et à des éléments génétiques mobiles, comme les éléments IS, les transposons ou les phages

(Schmidt et Hensel 2004). A ce jour, 15 SPI ont été identifiés dans *S. Typhi* (Vernikos et Parkhill 2006) deux d'entre eux, SPI-1 et SPI-2 codent pour le système de secretion de type III (T3SS) (Kuhle et Hensel 2004). Deux caractéristiques de la pathogénèse de *Salmonella*, telles que l'invasion de l'hôte et la prolifération intracellulaire, sont directement liées aux gènes de SPI. SPI-1 contient des gènes d'invasion, tandis que SPI-2 est nécessaire pour la pathogénèse intracellulaire et joue un rôle crucial dans les infections systémiques à *S. enterica* (Hansen-Wester et Hensel 2001).

2.1.5.2. Pathogénie

Presque toutes les souches de salmonelles ont la capacité d'envahir, de se multiplier et de survivre dans les cellules hôtes (Eng et al., 2015). L'issue de l'infection à *Salmonella* dépend essentiellement de trois facteurs: la dose infectante, le facteur de virulence qui influence la cellule hôte et le niveau d'immunité (Venter et al., 1994).

➤ Chez les humains

Chez l'homme, la gravité des infections à *Salmonella* varie en fonction du sérotype impliqué et de l'état de santé de l'hôte. En effet, les bactéries pénètrent dans l'estomac et s'intègrent dans l'intestin. Elles envahissent les cellules, provoquant ainsi une diarrhée chez leur hôte infecté. La fonction de l'îlot de pathogénicité de *Salmonella* (SPI1) est nécessaire pour les premiers stades de la salmonellose, c'est-à-dire l'entrée de *Salmonella* dans les cellules non-phagocytaires. De plus, la fonction SPI1 est nécessaire pour l'apparition des symptômes diarrhéiques lors des infections gastro-intestinales. La fonction de l'îlot de pathogénicité de *Salmonella* (SPI2) est quant à elle nécessaire pour les stades ultérieurs de l'infection, c'est-à-dire la propagation systémique et la colonisation des organes hôtes. Le rôle de SPI2 pour la survie et la réplication dans les phagocytes de l'hôte semble être essentiel pour cette phase de la pathogénèse (Hansen-Wester & Hensel, 2001).

➤ Chez les bovins

La voie commune d'infection chez les bovins est l'ingestion de la bactérie par des aliments contaminés et l'eau. Il peut se disséminer dans l'organisme de l'hôte via le liquide lymphatique ou le sang et conduit généralement à l'excrétion fécale de la bactérie. Les salmonelles sont normalement inhibées par les concentrations élevées d'acides gras volatils et un pH inférieur à 7 dans le rumen (Mattila et al., 1988). Cependant, ces bactéries ont développé des mécanismes pour survivre et faire face aux facteurs inhibiteurs de l'hôte tel que le régime alimentaire, le pH du rumen et la consommation des antibiotiques (Morisse et Cotte, 1994 ; Bäumlér et al., 2000). En effet, les bactéries adhèrent et envahissent les cellules de la muqueuse intestinales principalement associées aux plaques de Peyer situées dans le jéjunum et l'iléon terminaux. Une fois que les bactéries ont traversé l'épithélium intestinal, elles pénètrent dans les macrophages du tissu lymphoïde sous-jacent

où elles sont drainées vers les ganglions lymphatiques, qui constituent une barrière importante à la dissémination. Si cette barrière est surmontée, les bactéries atteignent le réticulo-endothélial tout en survivant et en se multipliant à l'intérieur des macrophages (**Scherer et Miller, 2001**).

2.1.6. Pouvoir pathogène de *Salmonella*

Les souches de *Salmonella* peuvent être regroupées en salmonelles typhiques et non-typhiques sur la base du modèle clinique de la salmonellose. Ainsi les différentes manifestations au cours d'une infection sont : les fièvres typhoïde et paratyphoïde, les gastro-entérites, les septicémies et des complications extra-digestives (**Sheorey et Darby., 2008**).

2.1.6.1. Chez les humains

➤ Fièvre typhoïde et paratyphoïde

Salmonella Typhi est l'agent étiologique de la fièvre typhoïde ; alors que la fièvre paratyphoïde est provoquée par *Salmonella Paratyphi* A, B et C. Cependant, les symptômes cliniques de la fièvre typhoïde et paratyphoïde ne sont pas différents (**Connor et Schwartz, 2005**). Les humains sont le réservoir unique des deux souches de salmonelles typhiques (*S. Typhi* et *S. Paratyphi*). Ils sont infectés par ingestion des aliments et l'eau souillés. La fièvre est caractérisée par une période d'incubation d'une semaine ou plus avec des symptômes tels que le mal de tête, les douleurs abdominales et la diarrhée (ou constipation), suivie de la fièvre (**Bhan et al., 2005**). Chez les enfants, on observe généralement la diarrhée, tandis que les patients immunodéficients développent la constipation (**Thielman et Guerrant, 2004**). A côté de la fièvre, les patients infectés peuvent également développer la myalgie (douleur dans les muscles), la bradycardie (ralentissement des battements du cœur), l'hépatomégalie (augmentation du volume du foie), le splénomégalie (augmentation du volume de la rate), et les taches roses sur la poitrine et l'abdomen (**Kuvandik et al., 2009**). L'hémorragie est l'une des complications gastro-intestinales les plus graves entraînant les diarrhées sanglantes.

➤ Gastro-entérite

Les souches de *Salmonella* autres que *Salmonella Typhi* et *Salmonella Paratyphi* sont appelées *Salmonella* non-typhiques, et se retrouvent principalement chez les animaux. Les infections à *Salmonella* non-typhique sont caractérisées par une gastro-entérite qui s'accompagne de symptômes tels que la diarrhée non sanglante, les vomissements, les nausées, les céphalées, les crampes abdominales et les myalgies. Les symptômes tels que l'hépatomégalie et la splénomégalie sont moins fréquemment observés chez les patients infectés par la *Salmonella* non-typhique. Les complications gastro-intestinales des infections à *Salmonella* non-typhique comprennent la cholécystite, la pancréatite et l'appendicite. Les nourrissons, les jeunes enfants, les personnes âgées et les patients

immunodéprimés sont très sensibles aux infections à *Salmonella* non-typhique et développent des symptômes plus sévères que les individus normaux (**Scallan et al., 2011**).

➤ Septicémie et complication extra-intestinale

La septicémie à *Salmonella* est un état dans lequel les bactéries pénètrent dans la circulation sanguine après avoir envahi la barrière intestinale. Presque tous les sérotypes de *Salmonella* peuvent causer des septicémies (**Woods et al., 2008**). Une forte fièvre élevée est le symptôme caractéristique d'une septicémie à *Salmonella*, mais sans formation de taches rose. La manifestation clinique de la septicémie est plus fréquemment observée dans les infections à *Salmonella* non-typhique que dans les infections à *Salmonella* typhique. Dans des conditions sévères, la réponse immunitaire déclenchée par une bactériémie peut entraîner un choc septique, avec un taux de mortalité élevé. La manifestation clinique de la septicémie est plus fréquente dans les infections à *Salmonella* non-typhique que dans les infections à *Salmonella* typhique. On pense que la différence dans la manifestation clinique est liée à la présence du gène *spv* (*Salmonella* plasmide virulence) dans la *Salmonelle* non-typhique qui provoque une bactériémie non typhoïdale (**Guiney et Fierer, 2011**). Environ 5% des patients infectés par la *Salmonella* non-typhique développent une septicémie et dans certains cas, des complications extra-intestinales. Le poumon étant l'organe le plus souvent compromis. Les autres complications extra-intestinales comprennent la cellulite, les infections des voies urinaires, la pneumonie, endocardite et méningite (**Arii et al., 2002**).

2.1.6.2. Chez les bovins

Chez les veaux, l'infection est aiguë et de forme septicémique avec fièvre élevée, pneumonie, arthrite et entérite. La létalité est élevée. La salmonellose est moins fréquente chez les bovins adultes et il s'agit alors souvent d'une infection secondaire qui s'ajoute à une autre maladie ou qui suit à l'apparition de cas cliniques de salmonellose dans la même exploitation. Les symptômes cliniques prédominants sont une diarrhée abondante mêlée de sang ou d'épithélium intestinal, ainsi que de violentes douleurs abdominales. Les vaches gestantes peuvent avorter et excréter l'agent pathogène en grande quantité.

2.1.7. Diagnostic d'une infection à *Salmonella*

➤ Diagnostic direct

Il est basé essentiellement sur l'isolement et l'identification de la salmonelle à partir des produits biologiques tels que le sang (hémoculture), les selles (coproculture), les urines, les pus, les liquide céphalorachidiens sur des milieux sélectifs, milieu *Salmonella-Shigella* (SS) ou Hektoen.

➤ Diagnostic indirect

Il est basé sur des tests sérologiques. Le test de Widal, un test d'agglutination en tube développé en 1896 (**Widal *et al.*, 1896**), détecte la présence d'anticorps agglutinants dans le sérum des patients infectés (**Olopoenia et King, 2000**). Le test n'est que modérément spécifique pour l'infection à *S. Typhi*.

2.1.8. Traitement

2.1.8.1. Préventif

➤ Chez les humains

Il n'existe pas de vaccin pour prévenir la salmonellose chez l'homme, tandis qu'un vaccin contre la fièvre typhoïde a été mis au point, en particulier chez les enfants, mais n'est efficace qu'à 60%. Une personne recevant ce vaccin aurait quand même de fortes chances de développer une salmonellose non typhique. Cependant, des recherches en cours portent sur la production de vaccin humain utile contre tous les serotypes (**Danielle, 2006**).

➤ Chez les bovins

La mise en œuvre de stratégies prophylactiques globales efficaces pour toutes les salmonelles peut être nécessaire pour surmonter la diversité des sérovars de *Salmonella* présents dans les élevage (**Mohler *et al.*, 2009**). Un vaccin vivant oral atténué génétiquement a été mis au point pour protéger le veau contre *S. Typhimurium* et *S. Dublin*. De plus le vaccin contre la *S. Choleraesuis* virulent est efficace expérimentalement contre la salmonellose due à *S. Dublin* chez des jeunes veaux. Toutefois, le meilleur programme est de vacciner la vache pendant la gestation, ce qui donnera une protection passive aux veaux pendant 6 semaines (**Radostitis *et al.*, 2007**).

2.1.8.2. Curatif

➤ Chez les humains

Le traitement de l'infection à *Salmonella* non-typhique est différent de celui des infections à *Salmonella* typhiques. Dans le cas des traitements des infections à *Salmonella* non-typhiques, les antibiotiques ne sont pas recommandés car ils ne raccourcissent pas la maladie et ils prolongent significativement l'excrétion fécale des bactéries et augmentent le nombre de souches résistantes aux antibiotiques (**Kemal, 2014**). Les antibiotiques ne doivent être utilisés que si cela est nécessaire, car la plupart des infections à *Salmonella* non-typhique sont spontanément résolutif et la durée de la diarrhée et de la fièvre ne sont pas vraiment affectées par l'utilisation d'antibiotiques.

➤ Chez les bovins

Bien que les salmonelles soient habituellement sensibles in vitro à de nombreux antibiotiques, leur utilisation en élevage pour le traitement de la salmonellose a été jusqu'à récemment contre-indiquée par l'absence de résultats favorables sur l'évolution de la maladie (**Kemal, 2014**). Cependant, une mesure efficace consiste à limiter l'utilisation inappropriée des antibiotiques chez les animaux destinés à l'alimentation humaine et animale (**Talbot et al. 2006**).

2.2. Genre *Escherichia*

2.2.1. Historique

Escherichia coli a été décrite pour la première fois en 1885 après avoir été isolée dans des selles de nourrissons par l'allemand Theodor Escherich. Son nom actuel lui est ensuite donné en 1919 par Castellani et Chambers. Durant les années 1920 et 1930, plusieurs chercheurs essayèrent d'identifier les types spécifiques de *E. coli* responsables des entéropathies, mais aucun progrès significatif ne fut réalisé jusqu'à la mise au point par Kauffmann, dans les années 1940, d'un schéma de sérotypes précis (**WHO, 1980**). Ainsi, à partir des années 1950, de nombreuses souches de *E. coli* appartenant à des sérotypes particuliers ont été répertoriées, chez l'homme comme chez l'animal, comme étant des souches pathogènes responsables d'affections variées allant d'une simple diarrhée à des infections systémiques sévères voire mortelles (**Nataro et Kaper, 1998 ; Kaper et al., 2004**).

2.2.2. Taxonomie et classification

Le genre *Escherichia* appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* dans le règne des procaryotes. Le genre comprend cinq espèces. Il s'agit de : *E. coli*, *E. albertii*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* et *E. vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* présente des caractéristiques biochimiques propres permettant de les différencier les unes des autres (**Vimont, 2007**). De plus, selon les critères modernes de taxonomie bactérienne, les genres *Shigella* et *Escherichia* sont identiques. La classification de l'espèce se présente comme suit :

Règne : Procaryotae

Domaine : Bacteria

Phylum: Proteobacteria

Classe: Gammaproteobacteria

Ordre: Enterobacteriales

Famille : Enterobacteriaceae

Tribu : Escherichiae

Genre : *Escherichia*

Espèce : *Escherichia coli*.

2.2.3. Epidémiologie

2.2.3.1. Habitat et hôte de *Escherichia coli*

L'espèce *E. coli* appartient à la microflore commensale de l'Homme et de nombreux animaux. C'est une bactérie colonisatrice du tube digestif des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux) mais également des reptiles (**Gordon et Cowling, 2003**). Cette bactérie est présente principalement au niveau du colon et du cæcum à des concentrations environ 10^6 UFC/g de contenu intestinal (**Ducluzeau et Raibaud 1985**). Toutefois, *E. coli* est rejeté dans l'environnement via les fèces à une concentration d'environ 10^8 UFC/ g de fèces (**Smati et al., 2015**) et peut être retrouvé dans les eaux environnementales par le biais des effluents, tels que les eaux usées, les lisiers ou les fumiers des animaux d'élevage ou par les déjections des animaux d'élevage ou des animaux sauvages. Pendant que la plupart des souches de *E. coli* commensales sont donc très bien adaptées à une coexistence avec l'hôte, d'autres sont par contre pathogènes pour leurs hôtes (**Conrad et al., 2016**). Cependant, plusieurs clones de *Escherichia coli* hautement adaptés ont acquis des facteurs de virulence, ce qui leur permet de provoquer un large éventail de maladies (**Croxen et Finlay, 2010**).

2.2.3.2. Réservoir et mode de transmission

Certaines souches de *E. coli* produisant des toxines sont pathogènes pour les animaux et peuvent être à la base des diarrhées chez les veaux. Les ruminants domestiques, notamment les bovins, semblent être les principaux réservoirs des souches STEC pathogènes pour l'Homme, en particulier des souches EHEC O157 (**Gyles, 2007**). Chez ces animaux, le portage digestif et l'excrétion des souches EHEC sont le plus souvent asymptomatiques, et le contact direct ou indirect avec leurs fèces constitue la principale voie de contamination de l'Homme. Quelques souches de STEC pathogènes pour l'animal peuvent cependant être pathogènes pour l'Homme. Nous pouvons citer en exemple, les souches EHEC O118 retrouvées chez des veaux présentant de la diarrhée dont la transmission à l'Homme a été démontrée (**Beutin et al., 2000**). Ces diarrhées sont, par leur fréquence et leur mortalité la cause des pertes économiques importantes (**Avril et al., 1992**).

2.2.4. Bactériologie

➤ Caractères Morphologique

Escherichia coli ou colibacille est un bacille Gram négatif de 0,5 à 1 µm de diamètre et 1 à 3 µm de long et aux extrémités arrondies. C'est une bactérie non sporulée parfois capsulée, mobile grâce à une ciliature péritriche (**Le Minor et Richard, 1993**).

➤ Caractères cultureux

Les souches de *E. coli* sont capables de croître sur des milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande et sont non halophiles. Elles sont aéro-anaérobies facultatives (AAF) formant sur des milieux gélosés ordinaires ou sélectifs des colonies typiques de types (S) (**Le Minor et Richard, 1993**). Elle se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang, elles peuvent être hémolytiques (**Avril et al., 2000**).

➤ Caractères biochimiques

Les bactéries appartenant à l'espèce *Escherichia coli* et répondant à la définition des entérobactéries, fermentent le glucose avec souvent production de gaz, n'utilisent pas le citrate, ne produisent pas d'enzymes extracellulaires (protéases, DNases, lipases), ne produisent pas d'H₂S, n'hydrolysent pas l'urée, ne désaminent pas le tryptophane ou la phénylalanine. Les *E. coli* fermentent également l'arabinose, le mannose, le mannitol, et le maltose, mais pas l'inositol, et ont souvent un test de l'ONPG positif. Ces caractéristiques n'ont rien d'absolu puisque des plasmides métaboliques peuvent permettre aux *E. coli* de produire de l'H₂S, d'utiliser le citrate, ou d'hydrolyser l'urée. Ces caractères permettent de différencier les différentes espèces.

➤ Caractère antigénique

Le sérotypage est un critère utile pour identifier les souches pathogènes de *E. coli* dans les échantillons alimentaires, environnementaux et cliniques, et pour la compréhension de l'épidémiologie (**Wang et al., 2010**). Le sérotypage de *E. coli* est basé sur les profils des antigènes de surface O (somatiques), H (flagellaires) et K (capsulaire) (**Kauffmann, 1944**). De plus, de nombreux antigènes des classes O, H et K (56 H-antigènes, 80 K-antigènes, 173 O-antigènes) ont été rapportés, et qui peuvent avoir toute une combinaison possible, ce qui fait 50 000 à 100 000 sérotypes. L'antigène O détermine le sérogroupe.

2.2.5. Physiopathologie

Le cas de *E. coli* est typique. Bien que la majorité des souches de *E. coli* soient commensales, certaines d'entre elles sont associées à des infections intestinales ou extra-intestinales très diverses chez l'homme (**Levine, 1998**).

2.2.5.1. Infections intestinales

L'essentiel des signes cliniques est lié à la production des toxines (cytotoxines, entérotoxines). Cependant, le processus infectieux est multifactoriel et dépend à la fois de facteurs bactériens et de facteurs de l'hôte (**Paton et Paton, 1998**). Les étapes essentielles de ce processus sont telles que, après ingestion, les souches de *E. coli* pathogènes doivent résister à l'acidité de l'estomac. Une étape de colonisation du tube digestif est nécessaire. Certaines souches de *E. coli* sont capables de produire des lésions d'attachement/effacement. Toutefois, les toxines produites par les bactéries doivent ensuite traverser l'épithélium intestinal, avant de rejoindre le système circulatoire et atteindre les récepteurs spécifiques localisés à la surface des cellules endothéliales, principalement au niveau intestinal. Les toxines entraînent la mort des cellules cibles par arrêt des synthèses protéiques. Un rôle des bactéries et/ou des toxines sur l'activation du système immunitaire est également suspecté (**Heyderman et al., 2001**).

2.2.5.2. Infections extra-intestinales

Les souches responsables d'infections extra-intestinales possèdent des facteurs de virulence qui contribuent au franchissement par la bactérie des différentes étapes du processus physiopathologique : adhésion, invasion, et multiplication (**Johnson, 1991**).

L'adhésion aux cellules épithéliales est une étape clé dans le processus infectieux ; en effet, elle permet aux bactéries de pouvoir par la suite se multiplier et coloniser la muqueuse, étapes auxquelles succède la phase invasive, préambule de l'infection. La fixation de *E. coli* sur les cellules épithéliales dépend de l'expression à sa surface de protéines d'adhésion nommées adhésines, en particulier les fimbriae. Les propriétés d'adhérence spécifiques liées aux fimbriae constituent l'un des facteurs essentiels du pouvoir pathogène des *E. coli* uropathogènes. Durant la phase d'invasion, la bactérie peut également sécréter des toxines responsables de lésions tissulaires importantes chez l'hôte et en particulier une hémolysine qui entraîne la lyse des hématies et provoque la formation de canaux sélectifs sur les surfaces membranaires. Si, chez l'homme, les facteurs de virulence présents chez la souche sont importants pour le développement d'une infection extra-intestinale à *E. coli*, la prédiction de la sévérité initiale de l'infection et son évolution ne peuvent reposer sur la seule étude de la virulence intrinsèque de la souche, et la prise en compte de facteurs liés à l'hôte (**Maslow et al., 1993 ; Martinez et al., 2006**).

2.2.5.3. Facteurs de virulences

- Adhésine

La capacité d'adhésion de *E. coli* aux cellules eucaryotes humaines et animales joue un rôle fondamental tant dans la colonisation du tube digestif (adhésion aux entérocytes) que dans les pathologies extra- intestinales (adhésion aux cellules urothéliales et endothéliales). Les adhésines sont des éléments structuraux composé de deux domaines distincts (lectine et pili de type Ig) qui favorisent l'établissement de contact entre la bactérie et les cellules cibles de l'hôte (**Kalas *et al.*, 2013**). Elles sont généralement situés à l'extrémité des pili ou fimbriae et déterminent l'antigène d'adhésion (**Demers et Sansonneti, 1998**).

➤ Invasines

On appelle invasines les structures permettant à la bactérie d'être internalisée dans la cellule afin de traverser une barrière épithéliale et/ou endothéliale par transcytose. Les invasines ont été particulièrement étudiées chez les souches responsables de méningites néonatales (**Bidet *et al.*, 2012**).

➤ Toxine

E. coli pathogène peut causer des maladies dans divers endroits du corps humain (**Wells et Henderson, 2013**). Le site de l'infection dépend du répertoire de la virulence des facteurs tels que les adhésines et les toxines exprimées par le pathogène. Chez l'espèce *E. coli* plus de sept toxines sont répertoriées. Les entérotoxine thermolabile (LT) et thermostable (Sta et Stb) sont responsables de diarrhée aqueuse. Les cytoxines *Stx1* et *Stx2* sont responsables de colites hémorragiques ou de syndrome urémique hémolytique (SHU) conduisant à une diarrhée accompagnée de sang (**Donnenberg, 2005**).

➤ Systèmes de capture de fer

Ils sont utilisés par la bactérie pour capter le fer dans l'organisme qu'elle infecte. En effet, le fer est indispensable aux bactéries en intervenant dans de nombreuses fonctions métaboliques (transport de l'oxygène, synthèse de l'ADN, transport des électrons...). Chez *E. coli* il existe de nombreux systèmes de capture des ions ferriques soit sous forme complexés aux ions citrates (système fec) dans les fluides de l'organisme, soit liés à l'hème de l'hémoglobine (système chu), soit enfin en excréant des molécules appelées sidérophores qui sont capables de soustraire les ions Fe⁺⁺⁺ aux transporteurs physiologiques et de l'acheminer à la bactérie via un récepteur spécifique (**Braun, 2003**).

2.2.6. Pouvoir pathogène

L'espèce *E. coli* est subdivisée en de nombreuses souches pathogènes pour l'homme et l'animal sur la base de la possession de propriétés ou de la production de facteurs spécifiques qui sont responsables de leur pouvoir pathogène (**Mainil, 2003**).

2.2.6.1. Chez l'Homme

Chez l'Homme, sur la base de différents d'interaction hôte-bactérie et des signes cliniques, les *E. coli* sont regroupés en deux catégories, les *E. coli* pathogènes intestinaux (InPEC) et les *E. coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC) (Nataro et Kaper, 1998 ; Kaper *et al.*, 2004).

2.2.6.1.1. Pathogènes intestinaux

➤ Les souches de *E. coli* entérotoxigènes (ETEC)

Elles sont majoritairement associées à deux syndromes cliniques importants : la diarrhée du nourrisson dans les pays en voie de développement et la diarrhée du voyageur. Les souches de *E. coli* entérotoxigènes (ETEC) colonisent essentiellement la partie proximale de l'intestin grêle grâce à leurs « facteurs de colonisation » (CFAx et CSx) qui sont des adhésines fimbriaires (Cassels et Wolf, 1995). Ils n'induisent pas d'altération histologique marquée de la muqueuse. Le pouvoir pathogène des ETEC s'explique principalement par la sécrétion des toxines thermostables (ST) et/ou thermolabiles (LT).

➤ Les souches de *E. coli* entéro-pathogènes (EPEC)

Elles sont responsables de gastro-entérites infantiles qui touchent en particulier les enfants en bas âge (< 3 ans). Lors des infections, des lésions histopathologiques particulières apparaissent, appelées lésions d'attachement et d'effacement (lésions A/E). Ce phénotype est caractérisé par l'effacement des microvillosités intestinales et par l'adhérence intime entre les bactéries et la membrane cytoplasmique des entérocytes. Plusieurs gènes dont le gène *eae* sont à l'origine de ces lésions (Jerse *et al.*, 1990).

➤ Les souches de *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC)

Elles sont de plus en plus reconnues comme étant responsables de retards de croissance et de diarrhées persistantes dans les pays en voie de développement ainsi que dans les pays industrialisés. Les souches de *E. coli* entéroaggrégatifs (EAEC) sont caractérisées par une adhésion aggrégative, à l'origine des nécroses au pôle apical des villosités avec un œdème inflammatoire et hémorragique de la sous-muqueuse. Elles élaborent une entérotoxine thermostable (EASTI) et une entérotoxine thermolabile (Kaper *et al.*, 2004).

➤ Les souches de *E. coli* entéroinvasifs (EIEC)

Elles sont phylogénétiquement assez proches de *Shigella* spp et leurs mécanismes de pathogénie sont similaires (invasion de l'épithélium intestinal). Elles sont responsables de syndromes dysentériques, caractérisés par une forte fièvre, des crampes abdominales et des nausées,

accompagnés d'une diarrhée aqueuse qui évolue rapidement en une dysenterie (selles contenant du sang et du mucus).

➤ Les souches de *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC)

Elles sont responsables de diarrhées et d'infections urinaires. Les diarrhées peuvent être aqueuses et contenir du mucus. L'expression d'une adhésine fimbriale (appartenant à la famille Afa/Dr) et d'une protéine de membrane externe confère aux bactéries un phénotype d'adhésion « diffuse », sur les lignées cellulaires en culture de type Hep-2 (Cookson et Nataro, 1996).

➤ Les souches de *E. coli* Entérohémorragiques (EHEC)

Elles sont à l'origine de troubles plus ou moins sévères allant d'une simple diarrhée à des colites hémorragiques, voire à un Syndrome Hémolytique et Urémique chez l'enfant ou à un Purpura Thrombotique et Thrombocytopénique chez l'adulte, pouvant conduire parfois à la mort du patient. Les EHEC qui correspondent aux souches isolées chez les malades possèdent typiquement au moins un gène *stx* codant la Shiga-toxine (Stx1 ou Stx2) (Riley *et al.*, 1983) ainsi que d'autres facteurs de virulence comme le gène *eae* codant le facteur d'attachement et d'effacement ou le gène *ehx* codant l'entérohémolysine (Schmidt *et al.*, 1995). L'ensemble des souches de *E. coli* possédant au moins un gène *stx* représente le groupe des STEC.

2.2.6.1.2. Pathogènes extra-intestinaux

➤ Les souches de *E. coli* uropathogène (UPEC)

Les souches *E. coli* uropathogènes (UPEC) sont responsables de 80% des infections des voies urinaires. Ces infections se produisent lorsqu'il y a contamination de la région urogénitale par la flore fécale. Les bactéries responsables peuvent atteindre la vessie, provoquer une cystite aiguë ou infecter les reins et provoquer une pyélonéphrite aiguë. Dans certains cas les infections des voies urinaires peuvent mener à une septicémie et reposent sur la présence de plusieurs facteurs de virulence. La présence ou non de ces facteurs influence la sévérité des infections (Kaper *et al.*, 2004).

➤ Les souches de *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC)

Les souches de *E. coli* associées à la méningite néonatale (NMEC) provoquent des méningites chez les nouveau-nés. Bon nombre de survivants souffrent de défauts neurologiques graves. Les bactéries sont transportées par voies hématogènes (voies sanguines) (Kaper *et al.*, 2004).

2.2.6.2. Chez les bovins

Escherichia coli est un agent ubiquiste faisant partie de la flore gastro-intestinale normale des animaux et la plupart des souches d'*E. coli* sont inoffensives. Par contre, certaines souches ont réussi

à acquérir des attributs spécifiques leur permettant une adaptation et leur offrant la capacité de causer diverses maladies (**Fairbrother et Nadeau, 2010**). De nombreuses études mettent en évidence le caractère pathogène des EPEC vis à vis des animaux. Les EPEC sont responsables de diarrhées chez les bovins (**Kobayashi et al., 2001**). Les symptômes peuvent varier d'une simple diarrhée, à une diarrhée aqueuse abondante mucoïde ou sanglante, accompagnée d'anorexie, de déshydratation et de léthargie (**Swennes et al., 2012**). De plus, les STEC sont également responsables d'infection chez les animaux. Ils sont responsables de diarrhées chez les veaux (**Coura et al., 2014**). L'absence de récepteur pour les Shiga-toxines chez les bovins adultes pourrait expliquer que les ruminants ne développent pas de toxémie ou de dommage vasculaire systémique (**Pruimboom-Brees et al., 2000**).

2.2.7. Diagnostic d'une infection causée par *Escherichia coli*

Le diagnostic d'une colibacillose est basé sur la recherche du colibacille par des techniques bactériologiques à partir des prélèvements que sont les selles, sang, urines, liquide céphalorachidien (LCR) et les pus.

2.2.8. Traitement

2.2.8.1. Préventif

➤ Chez les Humains

Le traitement préventif chez les humains fait surtout appel à la bonne pratique de l'hygiène (**Croxen et Finlay, 2010**).

➤ Chez les bovins

La prévention contre une infection à colibacille à court terme est basée sur des mesures hygiéniques telles que : Entretien de l'environnement des animaux (maintenir le cadre des animaux propre), séparer les veaux d'âges différents et des vaches. Cependant, une prévention à long terme, basée sur la vaccination contre les sérotypes septicémiques de *E. coli* présents dans l'élevage est possible (**Rébillard, 2007**).

2.2.8.2. Curatif

➤ Chez les humains

Le traitement curatif d'une diarrhée aiguë est avant tout un traitement symptomatique par la réhydratation (**Croxen et Finlay, 2010**). La diarrhée des voyageurs peut être prévenue par des mesures d'hygiène ou par la prise d'antibiotiques. Les fluoroquinolones ou le cotrimoxazole sont utilisés à titre curatif. Les souches de *E. coli* sont généralement sensibles aux antibiotiques actifs sur

les bacilles à Gram négatif: amino-pénicillines, céphalosporines, quinolones, aminosides, triméthoprim/sulfaméthoxazole (**Avril et al., 1992**). Néanmoins, cette sensibilité doit toujours être vérifiée par un antibiogramme.

➤ Chez les bovins

Le traitement des colibacillooses vise essentiellement à contrôler la prolifération bactérienne. Secondairement l'objectif est de limiter les effets du choc endotoxinique, de restaurer le statut immunitaire et d'apporter à l'animal une nutrition correcte (**Schelcher, 1991**). Les antibiotiques sont préférablement utilisés par voie parentérale et en particulier veineuse pour l'obtention d'un effet systémique rapide. Dans le traitement des infections telles que les septicémies, il est préférable d'utiliser des antibiotiques ayant un grand volume de distribution (**Hoffsis et Welker, 1984**). Les familles d'antibiotiques actifs sur les colibacilles, diffusant bien dans l'organisme et généralement recommandés sont : les aminosides, les céphalosporines, les fluoroquinolones.

3. Antibiotiques

3.1. Définition

En 1945 Selman Waksman a défini le mot "Antibiotique" comme une substance chimique d'origine microbienne qui possède des pouvoirs antimicrobiens. Selon le troisième dictionnaire international de Webster (1981), un antibiotique est défini comme étant une substance produite par un microorganisme (bactérie ou champignon) et dans une solution diluée a la capacité d'inhiber la croissance ou tuer un autre microorganisme (germe pathogène). Le manuel bien connu de Brock de la microbiologie définit un antibiotique comme un agent chimique produite par un organisme et qui est nuisible à d'autres organismes.

3.2. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères tels que leur origine (biosynthétisés), leur nature chimique (dérivés d'acides aminés, hétérosidiques ou polycycliques), leur mécanisme d'action et leur spectre d'action. De toutes ses classifications, la classification la plus souvent utilisée est celle par famille, car elle possède un certain nombre de caractères communs tel que la composition chimique ou origine, le spectre d'action similaire ou très rapproché, les cibles bactériennes identiques, la résistance bactérienne et les effets indésirables rapprochés (**Yala et al., 2001**).

3.3. Mode d'action des antibiotiques

Le pouvoir antimicrobien de la plupart des classes d'antibiotiques concerne certaines caractéristiques uniques de la structure bactérienne ou de leurs processus métaboliques (**Tableau I**). Le mécanisme d'action des antibiotiques est le suivant :

➤ Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire

La paroi est constituée essentiellement de peptidoglycane (PG), ou mucopeptide, qui est une macromolécule polysaccharidique constituée par une succession régulière d'acétoglucosamine et d'acide N-acétylmuramique. Ces acides aminés se constituent en petits peptides et ceux-ci sont reliés entre eux par des ponts peptidiques conférant une grande rigidité à l'ensemble. Cette transpeptidation est la dernière étape de la synthèse de la paroi bactérienne et elle se fait sous l'influence d'une enzyme, la transpeptidase, (**Bourin et al., 1993**). Cependant, lorsque les bactéries sont privées de leur paroi, elles deviennent fragiles et sans défense vis-à-vis des agressions mécaniques et des perturbations osmotiques (**Bourin et al., 1993**). Des antibiotiques tels que les pénicillines, les carbapénèmes et les céphalosporines sont capables de bloquer la réticulation des unités peptidoglycanes en inhibant la formation de liaisons peptidiques catalysée par les PLP (protéines de liaisons des pénicillines) (**Josephine et al., 2004**). La plupart des antibiotiques appartenant à la classe des glycopeptides (par exemple, la vancomycine) sont capables d'inhiber la croissance bactérienne en inhibant la synthèse de PG. Ils inhibent la synthèse de PG en se liant à des unités de PG, ainsi qu'en bloquant l'activité de la transglycosylase et de la transpeptidase (**Kahne et al., 2005**).

➤ Désorganisation de la structure ou de la fonction de la membrane cellulaire

Les classes d'antibiotiques qui endommagent les membranes cellulaires des bactéries sont spécifiques à chaque groupe microbien en fonction des différences de types de lipides dans leurs membranes cellulaires. Par exemple, la Daptomycine dépolarise la membrane dépendante du calcium, ce qui conduit à la cessation de la synthèse macromoléculaire et perturbation de la membrane cellulaire chez les bactéries (**Alborn et al., 1991**). Les polymyxines provoquent la désintégration de la membrane cellulaire bactérienne en se liant efficacement au fragment lipidique du lipopolysaccharide dans la cellule bactérienne (**Falagas et al., 2010**).

➤ Inhibition de la synthèse d'acide nucléique

Les antibiotiques interfèrent avec la synthèse de l'acide nucléique en bloquant la réplication ou en arrêtant la transcription. La réplication de l'ADN implique le dénouement de la structure traditionnelle à double hélice, un processus facilité par une hélicase (**Gale et al., 1981**). Les antibiotiques de la famille des quinolones, par exemple, interfèrent avec la fonctionnalité de l'enzyme

hélicase, empêchant ainsi l'enzyme de jouer son rôle de déroulement de l'ADN. Cette action tronque finalement le processus de réplication et de réparation de l'ADN des bactéries sensibles aux quinolones (**Chen et al., 1996**). Les antibiotiques dont le mode d'action est l'inhibition de la synthèse d'acide nucléique ciblent également la topoisomérase II et la topoisomérase IV de la bactérie. La perturbation des activités de ces enzymes chez les bactéries affecte négativement l'ARN polymérase, ce qui empêche la synthèse de l'ARN. Les quinolones qui inhibent de cette manière la synthèse d'acide nucléique bactérienne n'interagissent pas avec l'ARN polymérase de mammifère, ce qui les rend particulièrement antagonistes vis-à-vis des bactéries à Gram positif et de certaines bactéries à Gram négatif.

➤ Inhibition de la synthèse des protéines

Les antibiotiques qui inhibent la synthèse des protéines font partie des classes les plus larges d'antibiotiques et peuvent être divisés en deux sous-classes : les inhibiteurs de 50S et les inhibiteurs de 30S. Des antibiotiques tels que l'érythromycine, la clindamycine, la lincomycine, le chloramphénicol, le linézolide, etc. font partie des inhibiteurs du ribosome 50S (**Katz et Ashley, 2005**). En termes généraux, les antibiotiques qui inhibent le ribosome 50S le font en bloquant physiquement soit la phase d'initiation de la traduction protéique, soit la phase d'élongation de la synthèse protéique où l'acide aminé entrant est lié à la chaîne peptidique naissante en croissance (**Patel et al., 2001**). Des exemples d'antibiotiques qui bloquent l'initiation de la traduction des protéines sont les membres d'oxazolidinones (**Patel et al., 2001**), tandis que les macrolides tels que le lincosamide et la streptogramine bloquent la synthèse des protéines en inhibant la phase d'élongation de la traduction de l'ARNm (**Vannuffel et Cocito, 1996**). Ces derniers groupes d'antibiotiques seraient donc inefficaces lorsque l'allongement aurait dépassé une longueur critique (**Tenson et al., 2003**). Les inhibiteurs du ribosome 30S agissent principalement en bloquant l'accès des aminoacyl-ARNt au ribosome. Les exemples d'antibiotiques qui fonctionnent de cette manière comprennent la tétracycline, la streptomycine, la spectinomycine, etc. (**Hong et al., 2014**). Il est intéressant de noter que la tétracycline inhibe également certaines protéines au niveau des ribosomes 50S (**Epe et Woolley, 1984**). Parmi les inhibiteurs du ribosome, la sous-classe des aminoglycosides, d'origine naturelle, est la seule à être largement bactéricide. Les macrolides, les streptogramines, la spectinomycine, les tétracyclines et le chloramphénicol sont généralement bactériostatiques. Cependant, certains de ces antibiotiques inhibiteurs des ribosomes qui ont généralement une action bactériostatique pourraient être bactéricides dans certaines conditions liées à un mode spécifique à l'espèce ou au traitement. Par exemple, le chloramphénicol connu pour être typiquement bactériostatique tue efficacement *S. pneumoniae* et *Neisseria meningitidis* (**Rahal et Simberkoff, 1979**), ainsi que *H. influenza* (**Goldstein et al., 1990**).

➤ Blocage des principales voies métaboliques

Certains antibiotiques, tels que les sulfamides et le triméthoprim, imitent un substrat nécessaire au métabolisme cellulaire des bactéries. Cette imposture fait que les enzymes bactériennes s'attachent à l'antibiotique plutôt qu'au substrat normal. En particulier, les sulfamides agissent comme le tétrahydrofolate nécessaire à la synthèse de l'acide folique dans les cellules bactériennes (**Talero et Chess, 2012**). L'acide folique est essentiel dans le métabolisme des acides nucléiques et des acides aminés.

Tableau I: Mode d'action des principales classes et molécules d'antibiotiques (UE, 2010)

Classes	Molécules	Mode d'action antibactérien	Spectre d'activité
Sulfamidés	Toutes les substances appartenant au groupe des sulfamidés	Ils inhibent la synthèse des folates par l'action des inhibiteurs compétitifs de la dihydroptéroate synthétase	Cocci à Gram positif
Quinolones	Acide oxolinique, difloxacin, sarafloxacin, danofloxacin, enrofloxacin, flumequin, marbofloxacin	Ils inhibent la gyrase de l'ADN bactérien ou la topoisomérase IV, et par conséquent inhibent la réplication et la transcription de l'ADN	Large spectre sur <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (fluoroquinolones, en combinaison avec d'autres antimycobactériens)
Bêta-lactamines	Amoxicilline, ampicilline, benzylpénicilline, céfalexine, céfalcétri, céfalonium, céfapirine, céfapéradone, céfquinone, céftiofur, céfazoline, cloxacilline, céfoperazone, pénéthamate, dicloxacilline, nafcilline, oxacilline	Ils perturbent la synthèse de la couche de peptidoglycane des parois cellulaires bactériennes en se liant aux protéines contribuant à cette synthèse	Cocci à Gram positif Bactéries à Gram positif et Gram négatif, <i>Treponema pallidum</i> , <i>Borrelia</i>
Tétracyclines	Chlortétracycline, doxycycline, oxytétracycline, tétracycline	Ils se lient aux sous-unités ribosomales 30S en inhibant la liaison de l'aminocyl-ARNt au complexe ARNm-ribosome	<i>Treponema pallidum</i> , <i>Chlamydia</i> , <i>Borrelia</i> , <i>Rickettsie</i> , <i>Plasmodium falciparum</i>
Aminoglycosides	Dihydrostreptomycine, gentamicine, kanamycine, néomycine, streptomycine, paromomycine, apramycine, spectinomycine	Ils se lient à la sous-unité 30S du ribosome bactérien (certains se lient à la sous-unité 50S) en inhibant la translocation du peptidyl-ARNt du site A au site P et en causant une lecture erronée de l'ARNm	Bactéries à Gram positif et Gram négatif (comportant <i>Pseudomonas aeruginosa</i>), <i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Phénolés	Thiamphénicol, florfenicol	Ils se lient aux sous-unités 50S du ribosome en empêchant la formation de la liaison peptidique	<i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Salmonella Typhi</i>
Macrolides	Erythromycine, spiramycine, tylosine, tilmicosine, gamithromycine, tulathromycine, tylvalosine, tildipirosine	Ils se lient réversiblement aux sous-unités 50S du ribosome de la bactérie en inhibant la translocation du peptidyl-ARNt	Cocci à Gram positif, <i>Treponema pallidum</i> , pathogènes intracellulaires, <i>Mycoplasma</i> , <i>Plasmodium falciparum</i>
Lincosamides	Lincomycine, pirlimycine	Ils se lient aux sous-unités 50S du ribosome en inhibant la transpeptidation/translocation	Cocci à Gram positif, anaérobies (clindamycine), <i>Plasmodium falciparum</i> (clindamycine)
Polypeptides	Bacitracine, colistine, tyrothricine	Ils réagissent fortement sur les phospholipides membranaires et perturbent le fonctionnement et la perméabilité de ces membranes	Bactéries à Gram positif et Gram négatif, <i>Bacillus polymyxa</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
Orthosomycines	Avilamycine		Bactéries à Gram positif
Rifamycines	Rifamycine SV, rifaximine, rifampicine	Ils bloquent la synthèse des ARN-messagers	Coques à Gram positif et à Gram négatif, bacilles à Gram positif large spectre
Ionophores	Salinomycine, monensin		Bactéries à Gram positif, coccidiostatique
Novobiocine	Novobiocine	Ils inhibent la réplication de l'ADN	Coques à Gram positif et à Gram négatif, bacilles à Gram positif, <i>Haemophilus</i> , <i>Pasteurella</i>
Pleuromutilines	Tiamuline, valnemuline	Ils inhibent la synthèse protéique au niveau de l'unité 50S des ribosomes	Large spectre

3.4. Site d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne (**Figure 1**). Cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés tels que la paroi bactérienne, la membrane cellulaire, les ribosomes, l'ADN et d'autres sites en agissant tant qu'anti-métabolites, c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries (**Cohen et Jaquot, 2001**).

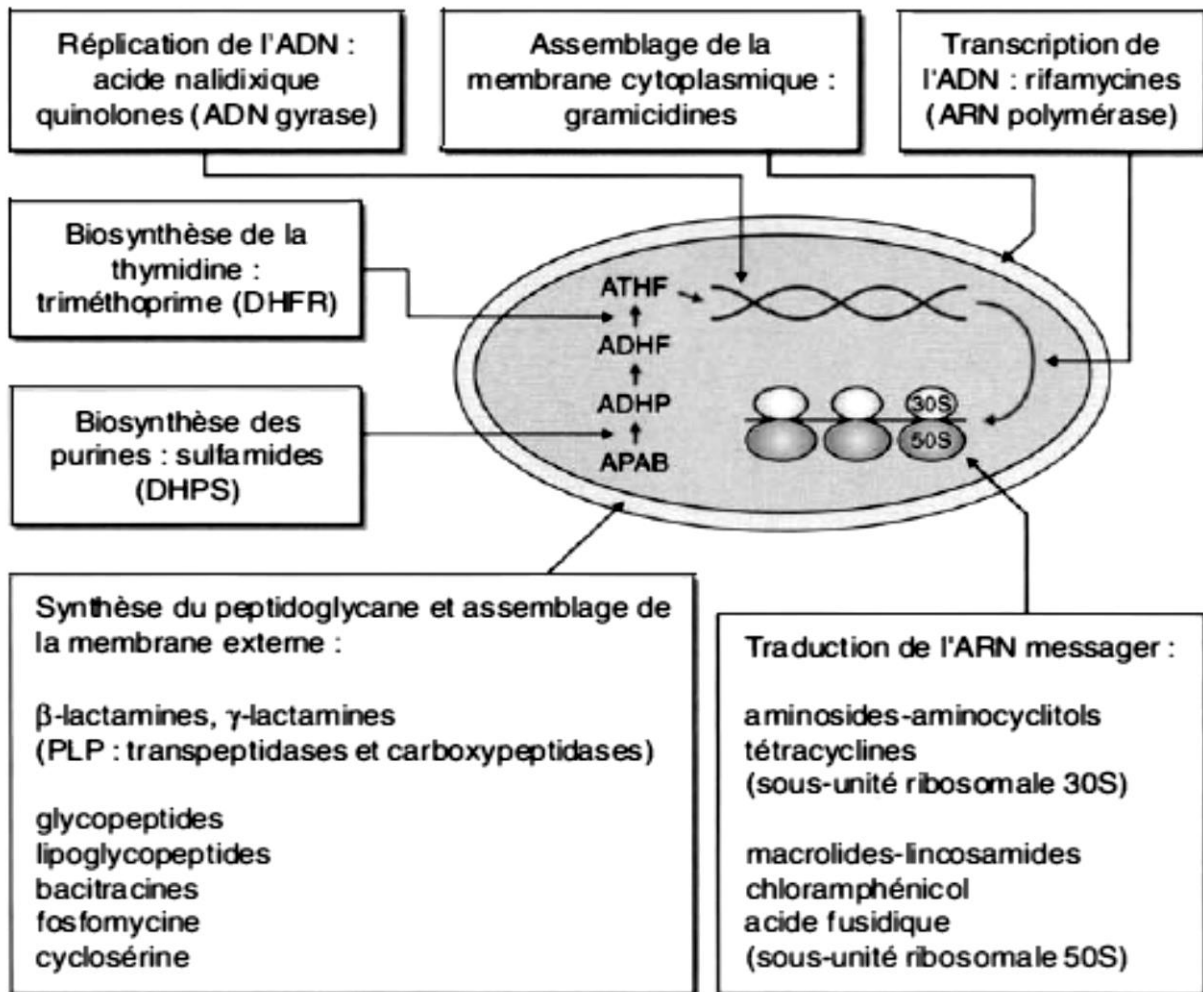


Figure 1: Principaux sites d'action de divers antibiotiques

Les cibles des molécules sont indiquées entre parenthèses. ADHF : acide dihydrofolique ; ADHP : acide dihydroptéroïque ; ATHF : acide tétrahydrofolique ; APAB : acide para-aminobenzoïque ; DHFR : dihydrofolate réductase ; DHPS : dihydroptéroate synthase ; PLP : protéines liant la pénicilline.

Source : adapté de Neu (1987)

3.5. Utilisation des antibiotiques en élevage bovin

3.5.1. Objectif de l'utilisation des antibiotiques en élevage

L'utilisation des antibiotiques en élevage de rente se fait selon quatre objectifs variables. Ils sont utilisés tout d'abord dans un but curatif visant à l'éradication d'une infection présente (**Corpet, 1987**). Ce type de traitement réduit l'excrétion bactérienne, permettant dans certains cas d'obtenir une guérison bactériologique et, lors des infections zoonotiques, peut permettre d'éviter la contamination humaine. Ils sont également utilisés à but prophylactique pour prévenir une infection. Ceci permet d'éviter une situation de risque potentiel. Cette démarche d'anticipation permet, en prévenant les symptômes, d'éviter une baisse de production. Aussi, une utilisation métaphylactique adapté à la médecine de groupe permet-elle d'administrer le même remède à plusieurs individus soumis au même agent contaminant, qu'ils présentent ou non des symptômes (**Labro, 2012**). Enfin, un usage zootechnique dont le principe consiste à utiliser les antibiotiques comme additifs à la ration en vue d'améliorer la croissance. Cet usage est interdit dans l'Union Européenne (UE) depuis 2006. Cette pratique présente de graves risques car les antibiotiques utilisés comme additifs alimentaires pour favoriser la croissance sont utilisés sans prescription vétérinaire sur une longue période, à de faibles doses. Ce qui favorise la sélection et la propagation de bactéries résistantes.

3.5.2. Différentes voies d'utilisation des antibiotiques en élevage

L'utilisation des antibiotiques en élevage est sous le contrôle des vétérinaires. Les antibiotiques sont disponibles sous plusieurs formulations galéniques pour répondre aux différentes voies d'administration. Certains, sont incorporés dans les aliments pour animaux lors de leur fabrication, et se présentent également sous forme de poudres et de solutions, qui seront administrées via l'eau de boisson. Pour des traitements individuels, les formulations les plus courantes sont des comprimés, bolus, solutions ou suspensions. Les antibiotiques peuvent être également administrés par voie intraveineuse, intramusculaire ou sous-cutanée. Des traitements locaux (cutanée) s'effectuent à l'aide de pommades et solutions (**Sanders et al., 2017**).

3.6. Principaux antibiotiques utilisés en élevage

Les principales familles d'antibiotiques sont représentées mais seul un nombre restreint de molécules sont disponibles en tant que médicaments antibiotiques vétérinaires. Le **tableau II** présente la liste des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire (**Faye, 2005**).

Tableau II: Liste des agents antimicrobiens important utilisés en médecine vétérinaire (OIE, 2015)

Classe	Sous -classe	Agents antimicrobiens
Aminocoumarine		Novobiocine
Aminoglycosides	Aminocyclitol	Spectinomycine, Streptomycine, Dihydrostreptomycine
	Aminoglycosides + 2 Désoxystreptamines	Kanamycine, Néomycine, Framycétine, Paromomycine, Apramycine*, Fortimycine, Gentamicine, Tobramycine, Amikacine
Phenicol	Amphénicols	Florphénicol, Thiamphénicol
Ansamycine – rifamycines		Rifampicine, Rifaximine
Bicyclomycine		Bicozamycine
Céphalosporines	Céphalosporines de première génération	Céfacétrile, Céfalexine, Céfalotine, Céfapyrine, Céfazoline, Céfalonium
	Céphalosporines de deuxième génération	Céfuroxime
	Céphalosporines de troisième génération	Céfoperazone Ceftiofur, Ceftriaxone
	Céphalosporines de quatrième génération	Cefquinome
Lincosamides		Pirlimycine, Lincomycine
Macrolides (C renvoie à la Structure chimique)	Macrolides C14	Érythromycine, Oléandomycine
	Macrolides C15	Gamithromycine, Tulathromycine
	Macrolides C16	Carbomycine, Josamycine, Kitasamycine, Spiramycine, Tilmicosine, Tylosine, Mirosamycine, Terdécamycine, Tildipirosine, Tylvalosine
	Macrolides C17	Sédécamycine
Orthosomycines		Avilamycine*
Pénicillines	Pénicillines naturelles (y compris les esters et les sels)	Bénéthamine, Pénicilline, Benzylpénicilline, Pénéthamate* (hydriodide), Benzylpénicilline procaïne/ Benzathine pénicilline
	Aminopénicillines	Mécillinam
	Aminopénicillines	Amoxicilline, Ampicilline, Hétacilline
	Aminopénicilline + inhibiteur des bêta-lactamases	Amoxicilline + Acide clavulanique, Ampicilline + Sulbactam
	Carboxypénicillines	Ticarcilline, Tobicilline
	Uréidopénicilline	Aspoxicilline
	Phénoxy-pénicillines	Phénoxy-méthylpénicilline, Phénéthi-cilline
Pénicillines Antistaphylococciques	Cloxacilline, Dicloxacilline, Nafcilline, Oxacilline	
Acide phosphonique		Fosfomycine
Pleuromutilines		Tiamuline, Valnémuline
Polypeptides		Enramycine, Gramicidine, Bacitracine
	Polypeptides cycliques	Colistine, Polymixine
Quinolones	Quinolones de première génération	Fluméquine, Miloxacine, Acide Nalidixique, Acide oxolinique
	Quinolones de deuxième génération (fluoroquinolones)	Ciprofloxacine, Danofloxacine, Difloxacine, Enrofloxacine, Marbofloxacine, Norfloxacine, Ofloxacine, Orbifloxacine, Sarafloxacine
	Quinoxalines*	Carbadox, Olaquinox
Sulfamides	Sulfonamides	Sulfachlorpyridazine, Sulfadiazine, Sulfadiméthoxine, Sulfadimidine (Sulfaméthazine, Sulfadimérazine), Sulfadoxine, Sulfafurazole, Sulfaguanidine, Sulfamérazine, Sulfadiméthoxazole, Sulfaméthoxine
		Sulfamonométhoxine, Sulfanilamide, Sulfapyridine, Phthalylsulfathiazole, Sulfaquinoxaline
	Sulfonamides + diaminopyrimidines	Sulfaméthoxy-pyridazine, Ormétrime+ Sulfadiméthoxine, Triméthoprime+ Sulfonamide
	Diaminopyrimidines	Baquiloprime, Triméthoprime, Ormétrime
Streptogramines		Virginiamycine
Tétracyclines		Chlortétracycline, Doxycycline, Oxytétracycline, Tétracycline
Thiostrepton		Nosiheptide

* molécules d'emploi exclusivement vétérinaire.

3.7. Risques liés à l'utilisation des antibiotiques

L'administration des antibiotiques aux animaux d'élevage peut conduire à la présence de résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires issus de ces animaux et à la sélection de bactéries résistantes (**Sanders *et al.*, 2017**).

3.7.1. Risque lié aux résidus d'antibiotiques

Les résidus d'antibiotiques peuvent présenter deux types de risques pour le consommateur à savoir des risques toxicologiques et microbiologiques. Au plan toxicologique, de nombreux effets sont testés. Il s'agit des effets sur la reproduction et le développement ; des effets mutagènes ; des risques allergènes, etc. Au plan microbiologique, ils peuvent notamment, modifier la résistance à la colonisation du microbiote intestinal, modifier la répartition des principales espèces le composant et contribuer également à la sélection de bactéries résistantes et aux transferts de gènes de résistances au sein du microbiote (**Cerniglia et Kotarski, 2005**).

3.7.2. Sélection de bactéries résistantes

Le phénomène d'antibiorésistance chez l'animal est souvent interprété comme une conséquence de la pression de sélection exercée par les antibiotiques à usage vétérinaire (**Schwarz *et al.*, 2001**). Cette pression exercée par l'antibiotique va sélectionner et maintenir les organismes résistants de la flore bactérienne. La population bactérienne subit différents niveaux de pression de sélection. Deux facteurs déterminent le niveau de pression de sélection (**McEwen et Fedorka, 2002**) : il s'agit du type d'antibiotique utilisé et la modalité d'utilisation de l'antibiotique (dose et durée d'utilisation, voie d'administration).

4. Résistance bactérienne

4.1. Définition de la résistance

La résistance bactérienne se définit comme étant la capacité que possède une bactérie à continuer sa croissance ou à survivre en présence de l'antibiotique. Il existe différents types de mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance, suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise (**Sabtu *et al.*, 2015**).

4.2. Différents types de résistance

4.2.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle, innée ou intrinsèque est programmée sur le génome (essentiellement chromosomique) et constante à l'intérieur du taxon. Elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce (**Sabtu *et al.*, 2015**) et est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle peut être due à des particularités structurales s'opposant à l'action de l'antibiotique sur sa cible. La résistance naturelle peut être médiée par l'expression constitutive ou induite d'une enzyme d'inactivation ou par la mise en œuvre d'un processus d'échappement vis à vis de l'antibiotique à savoir un manque d'affinité du composé pour la cible bactérienne, une inaccessibilité de la molécule à la cellule bactérienne, une expulsion de l'antibiotique par des pompes à efflux chromosomiques et une inactivation enzymatique innée de l'antibiotique (**Muylaert et Mainil, 2012**). La résistance naturelle fait partie des caractères normaux de l'espèce. Elle détermine le niveau de sensibilité des bactéries et définit le phénotype sauvage d'une espèce (la résistance de classe).

4.2.2. Résistance acquise

La résistance acquise est consécutive à des modifications de l'équipement génétique (**Sabtu *et al.*, 2015**). Elle se définit comme une caractéristique propre à quelques souches bactériennes d'un genre ou d'une espèce particulière provoquant l'émergence et la diffusion de résistances au sein de populations de germes normalement sensibles. Deux phénomènes majeurs à la base de l'acquisition de résistances par modifications du génome bactérien ont été décrits. Il s'agit des mutations responsables des résistances endogènes, et l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger responsable des résistances exogènes. De plus certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène (**Guardabassi et Courvalin, 2006**).

4.3. Mécanisme de résistance

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des antibiotiques. Les mécanismes les plus répandus étant l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification ou le remplacement de la cible de l'antimicrobien, l'efflux actif ou encore la pénétration réduite de la molécule. D'autres mécanismes tels que la protection ou la surproduction de la cible de l'antibiotique ont été également décrits. Ils sont, cependant, plus rares et surtout associés à certaines classes de composés (**Guardabassi et Courvalin, 2006**).

4.3.1. Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries Gram positive, les bactéries Gram négative jouissent d'une enveloppe plus complexe et plus difficilement franchissable. Ainsi, au sein des bactéries Gram négatives, les antibiotiques hydrophiles pénètrent dans la bactérie via des protéines transmembranaires nommées porines, alors que les molécules hydrophobes diffusent simplement à travers la couche phospholipidique. Des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines et qui conduisent à leur perte, ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression, se traduiront par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. Citons comme exemple, la réduction de l'expression de la porine *OmpF* chez *E. coli* qui entraîne une réduction de sensibilité aux quinolones, aux bêtalactamines, aux tétracyclines et au chloramphénicol. La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatives plus précisément chez les *Enterobacteriaceae* (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Muylaert et Mainil, 2012).

4.3.2. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

Les bactéries produisent des enzymes qui altèrent chimiquement les antibiotiques et les rendent ainsi inactifs : c'est le cas des bêtalactamases hydrolysant le noyau bêtalactam des pénicillines et des céphalosporines, mécanisme le plus répandu de la résistance à la pénicilline (Jacoby., 1994). D'autres enzymes en revanche, inactivent des molécules d'antibiotiques en y ajoutant des groupements chimiques : c'est le cas des aminosides qui peuvent être inactivés par phosphorylation, adénylylation ou acétylation (Shaw *et al.*, 1993). Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Muylaert et Mainil, 2012).

4.3.3. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être modifiée ou remplacée de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. Ce type de résistance peut être la conséquence de l'acquisition de matériel génétique mobile codant pour une enzyme modifiant la cible de l'antibiotique, ou peut résulter d'une mutation au niveau de la séquence nucléotidique de la cible (Muylaert et Mainil, 2012). Comme par exemple la protéine liant la pénicilline (PLP) à gène muté permet aux bactéries de synthétiser normalement leurs parois cellulaires, même en présence d'antibiotiques de la classe des bêtalactamines (Roy, 1997).

4.3.4. Pompes à efflux

Les bactéries produisent souvent des protéines membranaires agissant comme pompes à efflux. L'efflux actif (Pompes à efflux) est un mécanisme médié par des protéines transmembranaires (transporteurs actifs) et utilisé par les bactéries pour expulser à l'extérieur de la cellule des métabolites et des composés toxiques étrangers. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques (**Muylaert et Mainil, 2012**). La résistance provient de la réduction de la concentration de l'antibiotique dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible. Certains transporteurs actifs sont très spécifiques et on les appelle pompes SDR (*specific-drug-resistance*), alors que d'autres agissent sur une multitude de molécules et l'on les nomme pompes MDR (*multiple-drug-resistance*).

4.3.5. Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones. Ainsi, on ne dénombre pas moins de huit (8) protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines. La résistance aux fluoroquinolones observée est notamment due à la présence de gènes plasmidiques *qnr* (quinolone résistance) dont 5 groupes existent. Ce mécanisme a été rapporté parmi différentes bactéries Gram négatives à travers le monde (**Rodriguez-Martinez et al., 2008**). Les protéines *qnr* en se fixant sur les topoisomérases, cibles des fluoroquinolones, réduisent l'affinité de la famille d'antibiotiques pour leurs cibles (**Robiczek et al., 2006a ; Cavaco et al., 2009 ; Wang et al., 2009**).

4.3.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible (**Guardabassi et Courvalin, 2006**) (**Figure 6**).

4.4. Supports génétiques de la résistance

Les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être situés, soit sur le chromosome bactérien, soit sur des éléments extra-chromosomiques. Ainsi, une bactérie peut acquérir une résistance aux antibiotiques par deux grands mécanismes génétiques : si le support de la résistance est le

chromosome, la résistance est dite chromosomique ; par contre, si les supports sont des éléments extra-chromosomiques, la résistance est dite extra-chromosomique (**Podglajen, 2006**).

4.4.1. Support chromosomique

Le chromosome bactérien est porteur des informations génétiques nécessaires à l'existence de la bactérie et contient aussi les gènes responsables de sa résistance. Les gènes de résistance codant pour des enzymes d'inactivation ou des systèmes d'échappement dans le cas d'une résistance naturelle, s'expriment de façon constitutive lorsqu'ils sont portés par le chromosome conférant les caractères de résistance naturelle de la bactérie. La résistance chromosomique acquise résulte d'une mutation. Elle est par conséquent rare (1 mutation sur 10^6 à 10^{10} divisions), aléatoire, spécifique à un antibiotique ou à une famille d'antibiotiques, à l'exception des porines (**Podglajen, 2006**). La résistance apparaît dans ce cas au hasard et n'est donc pas influencée par l'antibiotique qui ne fait que la révéler.

La mutation du gène peut entraîner l'apparition d'une protéine particulière ou d'une variabilité structurelle responsable de la résistance ; elle peut aussi entraîner la disparition ou la modification d'une protéine structurale ou enzymatique normale.

4.4.2. Support extra-chromosomique

La résistance extra-chromosomique est due à la présence d'éléments extra-chromosomiques portant des gènes de résistance. Les mouvements des gènes de résistance aux antibiotiques peuvent se produire à deux niveaux (intracellulaire et intercellulaire), impliquant chacun des éléments de mobilité différents tels que les plasmides, les phages, transposons et les intégrons (**Boerlin et Reid-Smith, 2008**).

4.4.2.1. Eléments génétiques mobiles

4.4.2.1.1. Plasmides

Les gènes de résistance aux antibiotiques peuvent être transmis d'une espèce à l'autre par des plasmides. Les plasmides sont des éléments d'ADN extra-chromosomiques capables de réplication indépendante. Ils confèrent à la bactérie hôte la capacité de synthèse de pili dit « sexuels » par l'intermédiaire desquels une copie du plasmide est transférée. Certains plasmides peuvent s'intégrer dans le génome chromosomique. Leur transmission d'une cellule bactérienne à une autre peut s'effectuer de façon verticale, mais surtout, sur le mode horizontal, par conjugaison (**Podglajen, 2006**). On classe les plasmides en groupes d'incompatibilité (Inc) sur base de leur mode de réplication et de maintien à l'intérieur de la bactérie (**Couturier et al., 1988**). Il existe par conséquent de

nombreuses classifications, mais la classification la plus utilisée est basée sur les propriétés phénotypiques, en particulier sur la transférabilité par conjugaison. On distingue donc les plasmides conjugatifs ou autotransférables et les plasmides non conjugatifs (**Podglajen, 2006**)

Les plasmides ne sont pas essentiels à la survie de la bactérie. Cependant, ils sont porteurs de gènes conférant un avantage sélectif à la cellule qui les possède. Des plasmides de résistance sont identifiés à la fois parmi des bactéries pathogènes et commensales. Ils sont porteurs de gènes de résistance vis-à-vis de la majorité des antibiotiques disponibles pour un usage clinique (**Li, 2005 ; Muylaert et Mainil, 2012**). Ils sont également capable de porter simultanément des gènes de résistances vis-à-vis de plusieurs antibiotiques de familles différentes, et même qu'il soit porté par des genres bactériens différents (**Sherley et al., 2004 ; Harbottle et al., 2006**).

Les plasmides sont caractérisés par leur type et leur origine de réplication (*oriV*), le nombre de copies, la classe d'incompatibilité, la spécificité d'hôte, le mode et l'origine de transfert (*oriT*), le trait phénotypique (résistance aux antibiotiques, aux antiseptiques, aux métaux lourds, présence de facteurs de virulence). Ils sont utilisés comme vecteur de clonage et comme vecteur d'expression. De plus, les plasmides bactériens revêtent une importance toute particulière dans l'étude des phénomènes de résistance car ils constituent à la fois un vecteur de premier plan pour la dissémination des résistances et un immense réservoir génétique.

4.4.2.1.2. Transposons

Les transposons sont des éléments mobiles d'ADN capables de se transférer entre un chromosome et un plasmide ou encore deux plasmides.

La transposition se réalise par l'intermédiaire d'enzymes spécialisées que sont les transposases, les intégrases etc. Ces enzymes agissent par un mécanisme d'excision-intégration. Tous les transposons bactériens sont constitués au niveau de leurs extrémités, de séquences d'ADN inversées et répétées, cibles des transposases et de courtes séquences répétées de l'ADN cible qui encadrent le transposon (**Muylaert et Mainil, 2012**). Parmi les éléments transposables impliqués dans la résistance aux antibiotiques, on distingue :

- les **séquences d'insertions** (*IS*) qui sont les plus petits transposons bactériens et contiennent très peu d'informations génétiques outre les gènes codant pour les transposases. Ces séquences d'insertion ne codent pas pour des gènes sélectifs.
- les **transposons composites** ; on parle de transposon composite lorsque deux séquences d'insertions similaires, généralement en orientation inversée, encadrent d'autres gènes que ceux requis pour la transposition. Exemple : gènes de résistance aux antibiotiques.
- les **transposons non composites** ne sont pas associés à des séquences d'insertions. Ils sont composés de courtes séquences répétées inversées encadrant une région centrale composée

notamment des gènes nécessaires à la transposition et des gènes de résistance. Ces gènes ne représentent qu'une petite partie de l'unité transposable.

- les **transposons conjugatifs** possèdent des fonctions de transfert, faisant d'eux une sorte d'hybride entre le transposon et le plasmide. Ils ne possèdent pas de séquences répétées inversées (IR). Le transposon conjugatif est capable de promouvoir son excision du génome de la cellule hôte, pour former une structure intermédiaire circulaire d'ADN bicaténaire, suivie ensuite d'une étape de conjugaison à une bactérie voisine. Cette étape de conjugaison peut être vue comme une forme de réplication (**Harbottle et al., 2006 ; Muylaert et Mainil, 2012**).

- les **ISCR** (*insertion séquence et common region*) réalisent une transposition répllicative. Ils se composent d'un gène codant pour une enzyme analogue des transposases, non flanqué des séquences répétées inversées habituellement présentes dans les *IS*, mais délimité par des séquences d'initiation et de terminaison de réplication (**Boerlin et Reid-Smith, 2008**).

- les **îlots génomiques** ; ils se définissent comme une région d'ADN chromosomique de grande taille, généralement comprise entre 10 et 200 kilobases. Ces structures sont souvent insérées au niveau de l'extrémité 3' d'un ARN de transfert, site de reconnaissance spécifique de certains types d'intégrase. On les appelle éléments intégratifs conjugatifs (EIC). Les îlots génomiques sont généralement porteurs d'éléments d'insertion ou de transposons, impliqués dans l'introduction, la mobilisation ou la délétion de matériel génétique à l'intérieur de ceux-ci. Ils sont porteurs de gènes conférant un avantage sélectif à la bactérie hôte et jouent un rôle crucial dans la dissémination de nombreux gènes tels que des gènes de résistance aux antibiotiques, des gènes de virulence, ou encore des gènes codant pour diverses voies métaboliques (**Juhas et al., 2009**). La **figure 2** propose une représentation simplifiée des séquences d'insertion, des transposons composites et des transposons complexes.

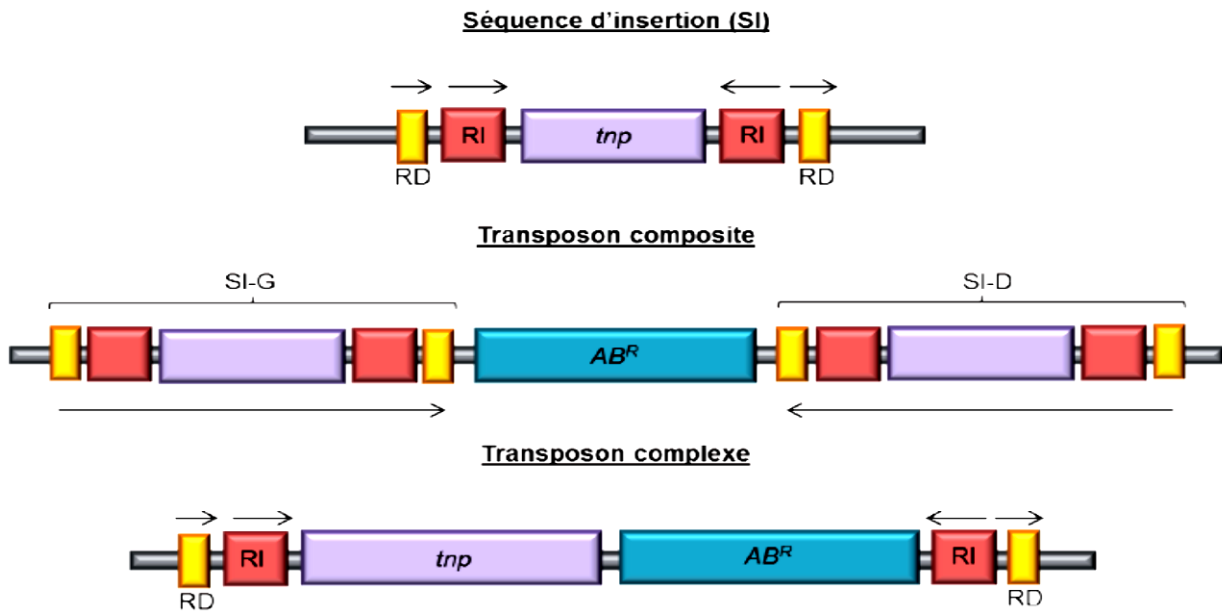


Figure 2: Représentation simplifiée d'une séquence d'insertion, d'un transposon composite et d'un transposon complexe (Muylaert et Mainil, 2012).

La séquence d'insertion se compose de deux courtes séquences directes d'ADN cible et de deux séquences d'ADN répétées inversées, cibles des transposases, encadrant une partie centrale formée par le gène codant pour la transposase. Le transposon composite se compose de deux séquences d'insertion généralement orientées de façon opposée, encadrant une partie centrale comprenant un (des) gène(s) de résistance à un (des) antibiotique(s). Le transposon complexe se compose de deux courtes séquences directes d'ADN cible et de deux séquences d'ADN répétées inversées encadrant une partie centrale comprenant notamment le gène codant pour la transposase (et des gènes codant pour d'autres enzymes non illustrés sur cette représentation) et un (des) gène(s) de résistance à un (des) antibiotique(s). *tnp* : gène codant pour la transposase, AB^R : gène codant pour une résistance à un antibiotique, RI : séquence répétée inversée, RD : séquence répétée directe, SI-G : séquence d'insertion copie gauche, SI-D : séquence d'insertion copie droite.

4.4.2.1.3. Intégrons

Les intégrons sont des systèmes génétiques de capture, d'incorporation et de transformation en gènes fonctionnels, de fenêtres de lecture ouverte. Ils ne sont pas mobiles à eux seuls, mais ils sont souvent localisés sur des éléments génétiques conjugatifs tels que les plasmides et les transposons. Ils sont dotés d'une structure spécifique, composée de deux segments conservés encadrant une région centrale dans laquelle peuvent s'insérer les « cassettes » de gène de résistance aux antimicrobiens (**Figure 3**).

Actuellement, quatre classes d'intégrons ont été identifiées sur la base de la structure du gène codant pour l'intégrase, parmi lesquelles les intégrons de classe 1 semblent être les plus largement répandus. L'extrémité 5' conservée des éléments de cette classe comporte un gène codant pour une intégrase, suivi d'un site d'attachement primaire, dit *attI*. L'intégrase catalyse une réaction de recombinaison entre le site *attI* et une cible secondaire *attC* d'une cassette de gène. Les cassettes de gènes sont des éléments génétiques circulaires et libres d'environ 500 à 1000 paires de bases qui ne possèdent pas de région promotrice et qui ne peuvent donc pas être exprimées seules. Un élément de cette cassette, de 59 paires de bases, dit site *attC*, et localisé en aval d'une fenêtre de lecture ouverte sert de site de recombinaison. La recombinaison conduit à l'insertion de la fenêtre de lecture ouverte en aval d'un promoteur résidant localisé dans l'intégron. L'extrémité 3' conservée des intégrons de classe 1 se compose quant à elle, des gènes *sulI* et *qacEΔ1* codant respectivement pour une résistance aux sulfamides et aux ammoniums quaternaires. Les fenêtres de lecture ouvertes codant pour des résistances aux antibiotiques sont les plus fréquentes, et plus de 100 gènes de résistances différents couvrant la plupart des classes d'antimicrobiens ont été identifiés sous la forme de cassettes de gène (**Recchia et Hall, 1995**).

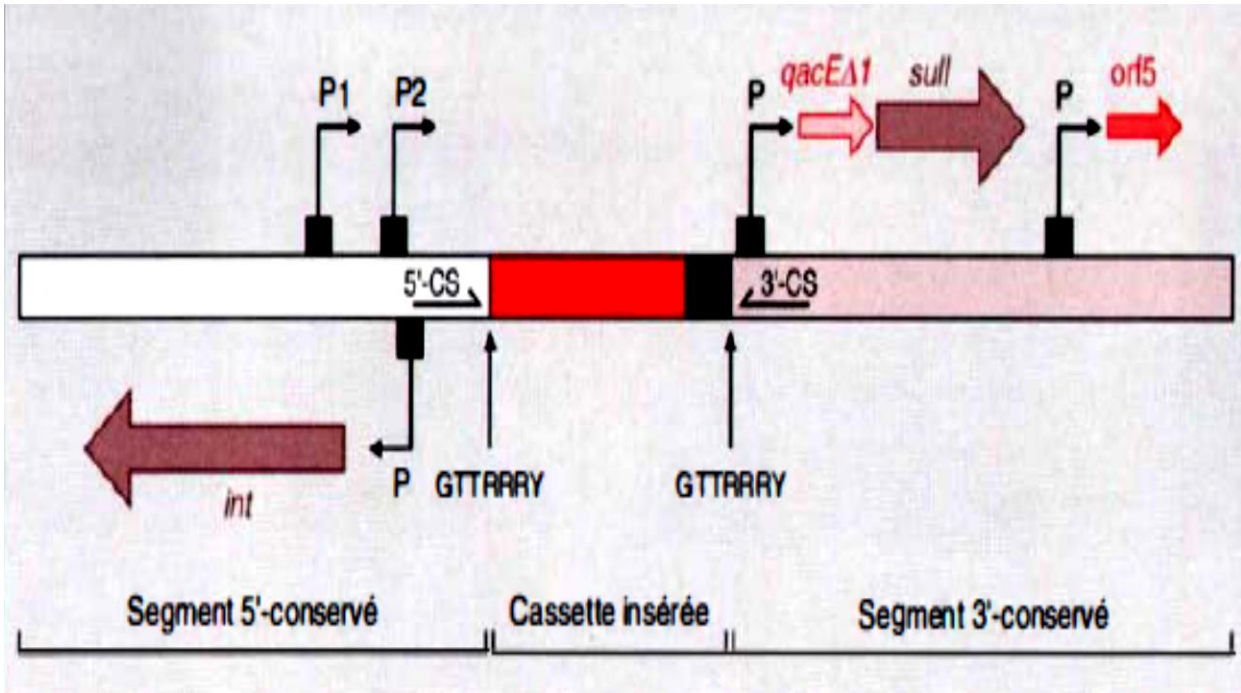


Figure 3: Structure générale des intégrons (Roy, 1997).

Les flèches indiquent la direction de la transcription, l'emplacement et l'orientation des promoteurs. Les séquences GTTRRRY indiquent les points de crossing-over pour l'intégration spécifique de site des cassettes. Les courtes flèches 5'-CS et 3'-CS indiquent les oligonucléotides utilisés pour la cartographie des intégrons par PCR. qacEb. 1 : résistance aux composés aminés quaternaires (faible, gène tronqué).

4.4.2.2. Mécanismes de transfert du matériel génétique

Trois mécanismes sont potentiellement responsables du transfert du matériel génétique. Il s'agit : de la transformation (acquisition de segments d'ADN libre), de la transduction (transfert via des bactériophages) et de la conjugaison (transfert par des plasmides ou d'autres éléments conjugatifs) (**Boerlin et Reid-Smith, 2008**).

4.4.2.2.1. Transformation

Elle résulte de l'incorporation d'ADN exogène avec, pour conséquence, l'acquisition par la bactérie réceptrice, des caractères héréditaires de la bactérie donatrice d'ADN. Pour qu'un ADN étranger puisse pénétrer dans une bactérie, celle-ci doit être compétente. Après pénétration, l'ADN étranger s'intègre dans le chromosome bactérien par recombinaison. Dans le cas de plasmides, ceux-ci demeurent extra-chromosomiques et se répliquent de façon autonome (**Beaune, 2004**).

4.4.2.2.2. Transduction

Le vecteur est un bactériophage (virus) qui, en se répliquant, intègre son ADN à celui de la bactérie. Il peut amener des gènes bactériens dont celui de la résistance à l'antibiotique. Il pourra ensuite transférer ces gènes de résistance à une nouvelle bactérie (**Baudry et Brézellec, 2006**).

4.4.2.2.3. Conjugaison

Pendant la conjugaison entre deux cellules bactériennes, un ADN simple brin est généré, puis transféré d'une cellule donatrice à une cellule réceptrice. Ce simple brin est par la suite répliqué pour générer un plasmide circulaire (**Samouelian et al., 2009**). La conjugaison bactérienne devient alors possible si les cellules contiennent un plasmide particulier, appelé le facteur F (F pour fertilité). Les cellules F⁺ ou donneurs, possèdent à leur surface de longs filaments tubulaires (les filaments sexuels, ou pili). Un ou plusieurs pili peuvent se lier à des récepteurs spécifiques de la surface des cellules qui ne contiennent pas le facteur F (cellules F⁻, ou cellules réceptrices). Lors de la conjugaison, un des brins du facteur F passe dans la cellule F où son brin complémentaire sera synthétisé. La cellule F⁻ devient ainsi une cellule F⁺ puisqu'elle contient à présent le facteur F normal bicaténaire. Cependant, le facteur F peut s'intégrer dans le chromosome de l'hôte. Dans ce cas, l'on parle de cellules Hfr (Haute fréquence de recombinaison) et ont une fréquence de recombinaison des gènes chromosomiques beaucoup plus élevée : lors de leur conjugaison avec des cellules F⁻.

4.5. Mécanisme de résistance aux antibiotiques

4.5.1. Résistance aux bêta-lactamines

4.5.1.1. Définition et classification des bêta-lactamines

La famille des bêtalactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence d'un cycle bêta-lactam indispensable à l'activité antibiotique. Ils sont également caractérisés par une faible toxicité, associées à un mode d'action fort complexe sur des protéines de la membrane cytoplasmique, dénommées protéines liant la pénicilline (PLP) ou *penicillin binding proteins*. Les bêta-lactamines sont classées en 4 grandes catégories, les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactames (**Buonomo et al., 2011**) (**Figure 4**).

4.5.1.2. Mode d'action des bêta-lactamines

Toutes les bêta-lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, collectivement appelées PLP, sont insérées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne (**Cavallo et al., 2004**).

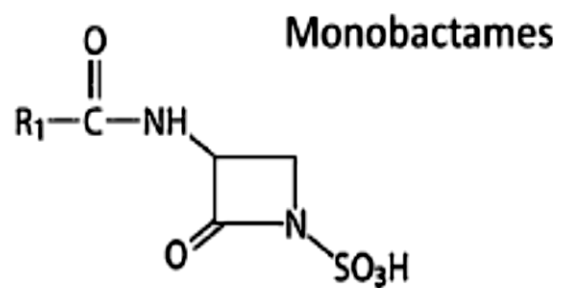
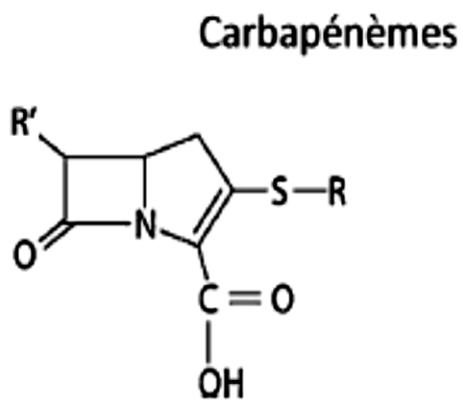
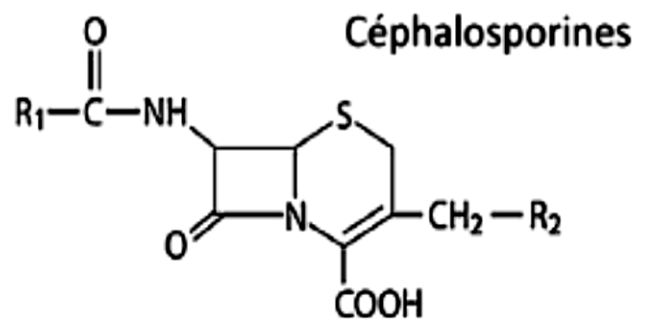
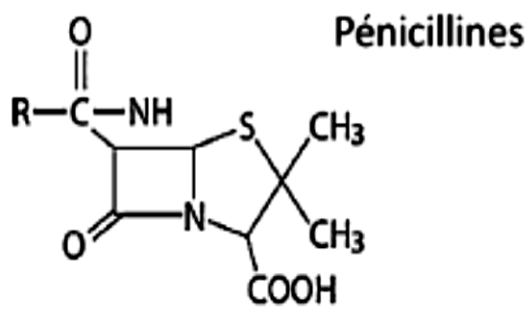


Figure 4: Structure des bêta-lactamines (Buonomo *et al.*, 2011)

4.5.1.3. Mécanisme de résistance aux bêta-lactamines

Le mécanisme peut être de nature enzymatique ou non enzymatique (**Cavallo et al., 2004**).

4.5.1.3.1. Mécanisme de résistance non enzymatique

Il existe trois mécanismes de résistance non enzymatique (**Livermore et Williams, 1996**).

✓ Imperméabilité de la membrane externe

Chez *E. coli* et *Salmonella*, la pénétration des bêta-lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. La sensibilité aux bêta-lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. Cependant, l'altération des porines par mutation est à l'origine des résistances acquises aux bêta-lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, soit par une diminution quantitative des porines (situation plus fréquente). Aussi, la diminution de la synthèse des porines peut-elle jouer un rôle dans l'apparition de la résistance aux bêta-lactamines (**Livermore et Williams, 1996**).

✓ Systèmes d'efflux

L'hyper-expression des systèmes d'efflux représente un mécanisme de résistance aux antibiotiques très répandu. Cette hyper-expression fait souvent suite à des mutations survenant dans les gènes répresseurs qui régulent la transcription de tous ces systèmes transporteurs. Ces systèmes d'efflux sont surtout actifs sur les bêta-lactamines les plus hydrophobes qui ne passent pas la barrière de la membrane cytoplasmique et s'accumulent dans l'espace périplasmique (**Nikaido., 1998 ; Nikaido et al., 1998 ; Mazzariol et al., 2000**). Ils agissent en synergie avec la barrière d'imperméabilité bactérienne que représente la membrane externe et les bêta-lactamases constitutives.

✓ Modification des protéines liant la pénicilline

C'est un mécanisme de résistance qui fait suite à des mutations dans les gènes chromosomiques qui codent pour les PLP normales ou à l'acquisition de gènes étrangers codant pour des PLP ayant peu d'affinité pour les bêta-lactamines. On peut ainsi aboutir à des altérations quantitatives et qualitatives des PLP, avec diminution d'affinité pour les bêta-lactamines, ou aboutir à une substitution dans leurs fonctions, des PLP cibles par une autre PLP moins affine (**Cavallo et al., 2004**).

4.5.1.3.2. Mécanisme de résistance enzymatique : Bêta-lactamases

Le mécanisme de résistance enzymatique est basé sur la production de bêta-lactamases. Elles constituent de loin le mécanisme le plus répandu de la résistance des bactéries aux bêta-lactamines (**Cavallo et al., 2004**).

Les bêta-lactamases sont un groupe hétérogène d'enzymes d'origine bactérienne capables d'inactiver les bêta-lactamines par ouverture du cycle bêta-lactame, structure de base commune à toutes les bêta-lactamines (**Cavallo et al., 2004**). Parmi les nombreuses classifications de cette enzyme, les plus utilisées sont celles de Ambler et de Bush-Jacoby-Meideros (**Ambler, 1980 ; Bush et al., 1995 ; Livermore, 1995**).

4.5.1.3.2.1. Classification de Ambler

La classification d'Ambler, qui reflète la structure fondamentale de l'enzyme, est basée sur la séquence peptidique du site enzymatique ou sur la séquence totale du gène codant la bêta-lactamase. Elle propose quatre classes : classes A, B, C et D (**Ambler, 1980**).

- Les bêta-lactamases de classe A

Les bêta-lactamases de classe A ou pénicillinases, d'origine chromosomique ou plasmidique, constituent le groupe le plus important. Elles hydrolysent préférentiellement les pénicillines (amoxicilline, ticarcilline, pipéracilline) et sont sensibles aux inhibiteurs de bêta-lactamases (acide clavulanique, tazobactam) (**Livermore, 1995**).

- Les bêta-lactamases de classe B

Les bêta-lactamases de classe B ou métallo-bêta-lactamases, utilisent un ion de zinc (Zn^{2+}) comme cofacteur permettant ainsi l'hydrolyse du cycle bêta-lactame (**Ambler, 1980**). Elles hydrolysent toutes les bêta-lactamines sauf l'aztréonam. La plupart des métallo-bêta-lactamases hydrolysent une variété de pénicillines et de céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs classiques (**Bebrone, 2007**).

- Les bêta-lactamases de classe C

Les bêta-lactamases de classe C, ou céphalosporinases, hydrolysent préférentiellement les céphalosporines (céfalotine, ceftazidime, céfuroxime etc). Elles sont inhibées par la cloxacilline mais résistantes aux inhibiteurs de la bêta-lactamase (l'acide clavulanique et du sulbactam) (**Philippon et al., 2002**). Cependant, certaines sont faiblement inhibées par le tazobactam. Leur hyperproduction est associée au phénotype de multirésistance observé chez certains bacilles à Gram négatif. Les représentants de ce groupe sont du type *AmpC*, FOX, ACT, CMY.

- Les bêta-lactamases de classe D

Les bêta-lactamases de classe D ou oxacillinases (OXA) constituent un groupe hétérogène. Elles sont caractérisées par une hydrolyse plus rapide de l'oxacilline et de la cloxacilline que de la benzylpénicilline (**Poirel *et al.*, 2010**). Les oxacillinases classiques sont inhibées *in vitro* par le chlorure de sodium.

4.5.1.3.2.2. Classification de Bush

La classification fonctionnelle de Bush, plus complète et plus récente, reflète le spectre d'activité de l'enzyme et répartit les bêtalactamases en quatre groupes en fonction du profil de leur substrat (pénicilline, oxacilline, carbénicilline, céphaloridine, céphalosporines de troisième génération et imipénème) et d'inhibition (acide clavulanique et EDTA) (**Bush *et al.*, 1995**).

- ✓ Le groupe 1 (classe C de Ambler) regroupe toutes les céphalosporinases de type AmpC insensibles à l'acide clavulanique.
- ✓ Le groupe 2 constitue le groupe le plus vaste et comporte les bêtalactamases bien inhibées par l'acide clavulanique. Plus la moitié des enzymes de ce groupe ont un support plasmidique et appartiennent toutes à la classe moléculaire A, excepté les cloxacillinases qui appartiennent à la classe D. Ce groupe comporte 8 sous-groupes :
 - le sous-groupe *2a* (pénicillinases de support le plus souvent plasmidique ou transposable)
 - le sous-groupe *2b* (bêta-lactamases à large spectre inhibées par l'acide clavulanique)
 - le sous-groupe *2be* (bêta-lactamases à spectre étendu portées par des chromosomes ou des plasmides)
 - le sous-groupe *2br* (bêta-lactamases à large spectre sélectionnées par l'utilisation intensive de l'amoxicilline acide clavulanique)
 - le sous-groupe *2c* (bêta-lactamases hydrolysant préférentiellement la carbénicilline)
 - le sous-groupe *2d* (connu sous le nom d'oxacillinase, (OXA) le plus souvent porté par des cassettes dans des intégrons de classe 1, faiblement inhibé par l'acide clavulanique)
 - le sous-groupe *2e* (céphalosporinases inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam)
 - le sous-groupe *2f* (enzymes localisée dans le chromosomique ou portées par des plasmides et qui hydrolysent les carbapénèmes mais pas les métalloenzymes.
- ✓ Le groupe 3 (classe B de Ambler) correspond au groupe des metallo- bêtalactamases *et ne* sont pas inhibées par l'acide clavulanique, mais par l'EDTA.
- ✓ Le groupe 4 groupe d'enzyme rarement rencontrée à support chromosomique et insensible l'acide clavulanique.

4.5.1.3.2.3. Mécanisme d'action des bêta-lactamases

De façon générale, les bêta-lactamases hydrolysent le pont amide du cycle bêtalactame (correspondant à la structure de base des bêta-lactamines) pour donner un acylenzyme qui sera ensuite dégradé en acide inactif (**Elhani, 2012**). Les bêta-lactamases des classes A, C et D de Ambler sont des enzymes à sérine active qui utilisent au sein de leur site actif une sérine intervenant dans le processus catalytique.

Par ailleurs, les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont caractérisées par une résistance à haut niveau aux amino-carboxy-acyluréidopénicillines ainsi qu'aux céphalosporines de première et deuxième génération. Elles sont également caractérisées par une diminution plus ou moins franche de l'activité des C3G et des céphalosporines de quatrième génération et de l'aztréonam (**Philippon et al., 1989**). Cependant, ces bêta-lactamases sont inhibées par les inhibiteurs de bêta-lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) qui restaurent en grande partie l'activité des pénicillines auxquelles ils sont associés. Il s'agit d'un phénomène d'inhibition irréversible avec destruction de l'inhibiteur (action suicide).

4.5.1.3.2.4. Différents type de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

➤ Les BLSE de type TEM (Temoneira)

La première enzyme (TEM-1) décrite en 1965 était produite par une souche de *E. coli* isolée chez une patiente nommée Temoneira en Grèce, d'où la nomination (**Datta et Kontomichalou, 1965**). Les substitutions d'acides aminés qui ont eu lieu au niveau de l'enzyme TEM sont localisées à des positions limitées et aux positions 104, 164, 238 ou 240. Ce qui produit un phénotype BLSE mais les BLSE de type TEM avec un plus large spectre possèdent plus d'une substitution (**Bradford, 2001**). De nombreuses enzymes de type TEM induisent une résistance plus importante à la ceftazidime et à l'aztréonam qu'au céfotaxime. Mais, ceux qui possèdent une substitution d'une sérine à la position 238 induisent aussi une résistance au céfotaxime. Actuellement, plus de 160 enzymes de type TEM ont été décrites en se basant sur les différentes combinaisons de changement d'acides aminés (**Elhani, 2012**). TEM-3 a été décrite en 1989 et est la première bêta-lactamase de type TEM à exprimer le phénotype BLSE (**Sougakoff et al., 1988**). Il est également important de noter que tous les mutants des enzymes TEM-1 et TEM-2 ne sont pas des BLSE, comme les enzymes TEM résistantes aux inhibiteurs (TRI) ou encore les enzymes CMT (Complex mutant TEM) qui sont à la fois TRI et BLSE. Les gènes *bla_{TEM-1}* et *bla_{TEM-2}* sont portés par le transposon Tn3 comme la majorité des BLSE de type TEM. Les gènes *bla_{TEM}* n'ont jamais été identifiés à l'intérieur d'une structure en intégron (**Poirel et al., 2008**).

➤ Les BLSE de type SHV (Sulphydryl Variable)

Les enzymes SHV dérivent toutes de SHV-1 qui est une bêta-lactamase codée par le gène *bla_{SHV}* (**Haeggman et al., 2004**). Cette désignation SHV est liée au sulfhydryl variable. Elle a été choisie parce que l'on pensait que l'inhibition de l'activité SHV par le ρ -chloromercuribenzoate est variable suivant le substrat utilisé (cette activité n'a jamais été confirmée avec l'enzyme purifiée) (**Paterson et Bonomo, 2005**). La majorité des BLSE de type SHV est caractérisée par la substitution d'acides aminés Gly238Ser ou Gly238Ser et Glu240Lys. Le résidu sérine à la position 238 est indispensable pour l'hydrolyse efficace du céfotaxime et le résidu lysine est crucial pour l'hydrolyse efficace de la ceftazidime (**Huletsky et al., 1993**). Plus de 100 variants SHV BLSE ont été décrits SHV-12, SHV-2 et SHV-5 sont parmi les BLSE de type SHV les plus communes (**Elhani, 2012**). Comme pour les gènes *bla_{TEM}*, les gènes *bla_{SHV}* n'ont jamais été décrits à l'intérieur de structures en intégroon (**Poirel et al., 2008**).

➤ Les BLSE de type CTX (Cefotaximase-Munich)

La première BLSE de type CTX-M (FEC-1) a été décrite chez une souche de *E. coli* au Japon en 1986 (**Matsumoto et al., 1988**). Depuis, plus de 110 variants CTX-M ont été décrits et ont été classés en 6 groupes phylogénétiques : le groupe CTX-M-1 avec M-1, 3, 10, 11, 12, 15, 22, 23, 28, 29 et 30 ; le groupe CTX-M-2 avec M-4, 5, 6, 7, 20, et Toho-1 ; le groupe CTX-M-8 avec CTX-M-8, CTX-M-40 et CTX-M-63 ; le groupe CTX-M-9, avec M-13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 27, le groupe CTX-M-25 avec CTX-M-26 et enfin le groupe CTX-M-45 (**Elhani, 2012**). Ces nouvelles BLSE ne sont pas étroitement liées aux bêta-lactamases de type TEM ou SHV puisqu'elles ne présentent que 40 % d'homologie avec ces BLSE classiques (**Bradford, 2001**). Le groupe CTX-M confère à l'origine, chez les entérobactéries, un plus haut niveau de résistance au céfotaxime (ou ceftriaxone), céfépime et l'aztréonam qu'à la ceftazidime, d'où la nomination CTX-M. Certaines d'entre elles ont évolué plus récemment par mutation (ponctuelle ou non) générant également un haut niveau de résistance à la ceftazidime telles que les enzymes CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, CTX-M-23 et CTX-M-32. Les BLSE de type CTX-M sont inhibées plus par le tazobactam que par l'acide clavulanique. Contrairement à ce qui a été observé chez les enzymes de type TEM et SHV (élargissement du site actif), la structure cristallographique de CTX-M-14, CTX-M-27, CTX-M-9 et CTX-M-16 a montré que les substitutions d'acides aminés induisaient des interactions spécifiques pouvant être responsables d'une meilleure activité vis-à-vis de la ceftazidime et du céfotaxime plutôt qu'une expansion du site actif (**Perez et al., 2007**). Il faut également noter qu'aucun gène *bla_{CTX-M}* n'a été décrit sous forme de cassette dans un intégroon de classe 1 (**Poirel et al., 2008**).

➤ Les Autres types de BLSE

D'autres BLSE ont une distribution moins large, caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime (**Arlet et Philippon, 2003 ; Bradford, 2001**). Elles sont inhibées par l'acide clavulanique et en général ont le même substrat que TEM et SHV (**Paterson et Bonomo, 2005**). Elles appartiennent à la classe A et sont individualisées en BES-1 (*brazilian extended spectrum*), GES-1 (*Guyana extended spectrum*), PER-1 (*Pseudomonas extended resistance*) (**Weldhagen et al., 2003**), SFO-1 (*Serratia fonticola*), TLA-1 (Tlahuicas, tribu mexicaine), et VEB-1 (*Vietnam extended spectrum*). Des enzymes proches de GES-1 ont été découvertes en Grèce, malheureusement dénommées à tort IBC (*integron borne cephalosporinase*) (IBC-1, IBC-2) (**Philippon et Arlet, 2006**). En fin, les enzymes OXA possèdent une grande activité catalytique pour la cloxacilline, l'oxacilline et la méticilline. Actuellement, il y'a 11 BLSE du groupe OXA, dérivées de OXA-1, OXA-2 et OXA-10. Elles hydrolysent en general mieux la ceftazidime que le céfotaxime. Les enzymes OXA ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique à l'exception de l'OXA-18.

4.5.2. Résistance aux quinolones

4.5.2.1. Généralité sur les quinolones

Les quinolones forment une large classe d'antibactériens de synthèse, bactéricides et très utilisés en thérapeutique (**Cattoir, 2012**). La première molécule de ce groupe fut l'acide nalidixique et fut introduite pour un usage clinique dans les années 1960 (**Ball, 2000**). Cependant, les premières quinolones développées ont eu une application clinique limitée (infections urinaires) due à leur faible absorption lors d'une administration orale, à une activité antibactérienne modérée, à une liaison aux protéines importantes et à une toxicité importante (**Bryskier, 2005**). L'addition d'une molécule de fluor en position 6 et la substitution pipérazine en position 7 a augmenté l'activité de ces composés (**Ball, 2000**). Ces molécules sont alors désignées fluoroquinolones car elles portent un groupement fluor sur le noyau quinolone. Elles présentent un spectre d'activité élargi et sont devenues très utilisées en médecine humaine et vétérinaire au fur et à mesure de l'émergence de la résistance aux antibiotiques. Par conséquent, les fluoroquinolones sont indiquées par voie orale ou parentérale dans le traitement de nombreuses infections (**Van Bambeke et al., 2005**).

Les quinolones sont classées en quatre générations sur la base de leur activité et leur spectre d'action. En médecine vétérinaire, seules les 3 premières générations de quinolones sont utilisées, les fluoroquinolones de 4^{ème} génération étant réservées à la médecine humaine (**Kesteman, 2009**).

- ✓ Les quinolones de première génération comme l'acide nalidixique ou l'acide oxolinique étaient réservées aux infections urinaires du fait de leurs faibles concentrations sériques.
- ✓ Les quinolones de deuxième génération (fluoroquinolones) comme la ciprofloxacine, la norfloxacine ou l'ofloxacine utilisés en médecine humaine et la fluméquine utilisés en médecine vétérinaire ont une activité plus importante sur les bactéries à Gram négatif ainsi que contre certains pathogènes atypiques.
- ✓ Les fluoroquinolones de troisième génération (fluoroquinolones) comme la gatifloxacine, la grepafloxacine, la levofloxacine, la moxifloxacine ou la sparfloxacine utilisés en médecine humaine et la danofloxacine, l'enrofloxacine, la difloxacine, l'orbifloxacine, l'ibafloxacine ou la marbofloxacine utilisés en médecine vétérinaire ont une activité étendue aux bactéries à Gram positif.
- ✓ Les fluoroquinolones de quatrième génération comme la gémifloxacine ou la trovafloxacine ont un spectre d'activité étendu aux bactéries anaérobies.

4.5.2.2. Mode d'action

Les quinolones inhibent la réplication et la transcription bactérienne en inhibant le fonctionnement des topoisomérases bactériennes de type II, l'ADN gyrase (cible principale chez les bactéries à Gram négatif) et la topoisomérase IV (cible principale chez les bactéries à Gram positif) (**Hooper, 2000**). Ces enzymes sont essentielles à la croissance bactérienne en contrôlant la topologie de l'ADN lors des étapes de réplication, de transcription, et de recombinaison de l'ADN. Ces enzymes tétramériques, homologues entre elles, sont constituées de deux sous-unités GyrA et GyrB (ADN gyrase) ou ParC et ParE (topoisomérase IV). L'ADN gyrase introduit un superenroulement négatif dans la double hélice d'ADN bactérien en amont de la fourche de réplication (**Levine *et al.*, 1998**), ce qui est essentiel pour l'initiation de la réplication de l'ADN bactérien et pour la transcription. Quant à la topoisomérase IV, elle possède une activité de décaténation qui permet la séparation des chromosomes répliqués à la fin d'une séquence de réplication (**Adams *et al.*, 1992 ; Zechiedrich *et al.*, 1997**).

Les quinolones se fixent sur le complexe ADN-topoisomérase. Ce complexe devient irréversible conduisant, d'une part, à la création des changements conformationnels qui entraînent l'inhibition de l'activité normale de l'enzyme (bactériostase) (**Drlica et Zhao, 1997**) et d'autre part, à la libération des cassures double brin de l'ADN activant le système SOS ou produisant un effet toxique pour la bactérie, responsable de la bactéricidie intense des quinolones. L'effet bactéricide varie en fonction de la molécule et de l'espèce bactérienne considérées (**De Lastours et Fantin, 2014**).

4.5.2.3. Mécanisme de résistance aux quinolones

Plusieurs types de mécanismes de résistance ont été décrits, à savoir les mécanismes de résistances chromosomiques et des mécanismes de résistances plasmidique (**Figure 5**).

➤ Mécanismes de résistances chromosomiques

La résistance aux quinolones est principalement chromosomique, due à une diminution de l'affinité de l'antibiotique pour sa cible (**Ruiz, 2003**). Ceci est lié à des mutations chromosomiques dans les gènes de structure des topoisomérases, le plus souvent dans les gènes *gyrA* ou *parC*, plus rarement les gènes *gyrB* ou *parE* (**De Lastours et Fantin, 2014**). La première mutation survient généralement au niveau de la topoisomérase pour laquelle la quinolone a la plus grande affinité, ce qui peut varier en fonction de l'espèce bactérienne et en fonction de la quinolone (**Cambau et al., 2009 ; Cattoir et al., 2006**). De plus, deux autres mécanismes de résistance chromosomiques permettent un défaut d'accumulation des quinolones dans les bactéries ; il s'agit de la diminution de la perméabilité de la paroi des bactéries à Gram négatif par diminution quantitative des porines et de l'hyper-expression des pompes d'efflux chez les Gram négatifs (**Poole, 2000**). Ces mécanismes ne sont pas spécifiques des quinolones car ils concernent aussi l'influx et l'efflux d'autres molécules de petit poids moléculaire, plutôt hydrophiles comme les bêta-lactamines, les aminosides et les sulfamides (**Poole, 2000 ; Poole, 2007**).

➤ Mécanismes de résistances plasmidiques

Pendant longtemps, le seul support connu de résistance aux quinolones était de type chromosomique (**Martínez-Martínez et al., 1998**), plus récemment des mécanismes de résistances plasmidiques ont été décrit chez les bactéries à Gram négatif, généralement associé aux mécanismes

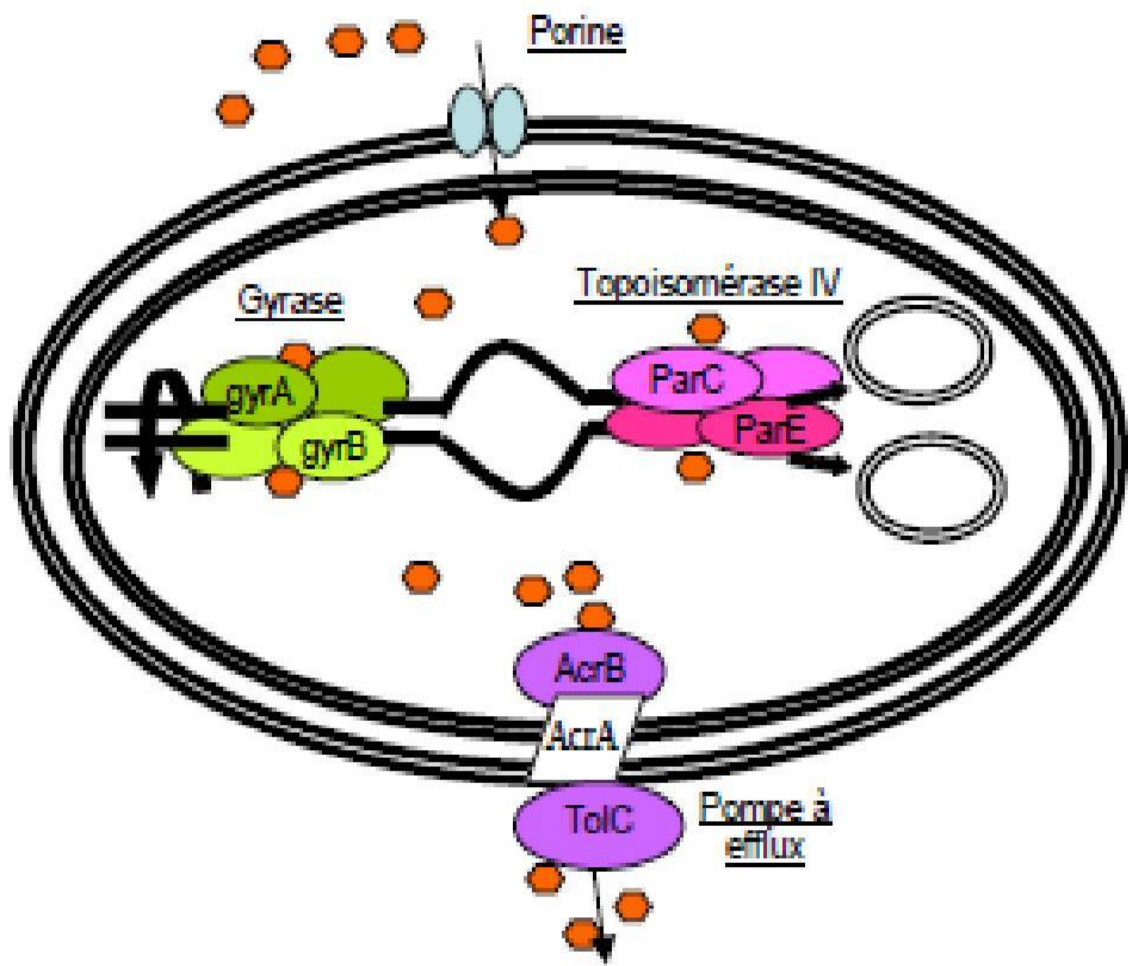


Figure 5: Mécanisme de résistance aux quinolones (Ferran, 2009)

chromosomiques (**Cattoir et Nordmann, 2009**). Trois types de résistance plasmidique ont été décrits à ce jour il s'agit de la protection de la cible due aux protéines Qnr décrite en 1998 (**Martínez-Martínez et al., 1998**), l'inactivation enzymatique due à l'acétyltransférase AAC (6')-Ib-cr identifiée en 2005 (**Robicsek et al., 2006**) et l'efflux actif médié par la pompe QepA rapporté en 2007 (**Yamane et al., 2007 ; Perichon et al., 2007**).

Les protéines Qnr, codées par le gène *qnr*, agissent en protégeant les topoisomérases de l'action des quinolones. Ainsi, la présence d'un gène *qnr* confère un bas niveau de résistance aux quinolones en élevant la CMI de façon modeste. Depuis la première description de *qnrA* (**Martínez-Martínez et al., 1998**), de nombreux autres gènes *qnr* ont été décrits. Ces gènes sont actuellement de dissémination mondiale (**Martínez-Martínez et al., 2008**). En plus des plasmides portant les gènes *qnr*, plusieurs pompes d'efflux plasmidiques ont été décrites et majoritairement sur des plasmides portés par des souches d'origine vétérinaire. Ceci suggère que l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire jouerait un rôle important dans la sélection et la dissémination des mécanismes plasmidiques de résistance aux quinolones. De plus, le gène *qepA* codant pour une de ces pompes à efflux a été décrit en 2007 (**Perichon et al., 2007**). Sa présence a pour conséquence une moindre sensibilité aux quinolones hydrophiles, avec une augmentation des CMI. Enfin, le mécanisme de résistance par inactivation des quinolones n'avait jamais été décrit avant 2006 et la description du gène *aac (6)-Ib-cr*, capable d'acétyler à la fois les aminosides et les fluoroquinolones (**Robicsek et al., 2006b**). Une notion très importante pour les fluoroquinolones est que la résistance est croisée et implique donc toutes les molécules de cette classe d'antibiotiques, même si les niveaux de résistance peuvent varier d'une molécule à l'autre.

4.5.3. Résistance aux cyclines

Les tétracyclines sont des agents antimicrobiens à larges spectres, montrant d'énormes activités contre des bactéries Gram positives et Gram négatives. Elles sont couramment utilisées pour le traitement et la prophylaxie pour les infections humaines et pour la prévention et le contrôle des infections bactériennes en médecine vétérinaire (**Miranda et al., 2003**).

La résistance à la tétracycline est fortement associée, d'une part, à l'acquisition et à l'expression de pompes à efflux, qui réduit le niveau de toxicité des antibiotiques dans les cellules bactériennes et, d'autre part, à la protection du site ribosomal. Cependant, il existe tout de même un gène codant pour une inactivation à la tétracycline (**Fluit et al., 2001**).

Les gènes de résistance à la tétracycline associés au mécanisme d'efflux sont : *tet (A)*, *tet (B)*, *tet (E)*, *tet (G)*, *tet (I)*, *tet (J)*, *tet (K)*, *tet (M)*, *tet (Y)*, *tet (Z)* et *tet (30)*. Les gènes de résistance à la tétracycline, associé au mécanisme de protection ribosomale et ou d'efflux sont *tet (K)*, *tet (L)*, *tet (M)*, *tet (O)*, *tet (S)*, *tet (P)*, *tet (Q)*, *tet (D)*, *tet (H)* et *tet (C)*. Cependant l'unique gène de résistance à la tétracycline

associé au mécanisme d'inactivation ou d'altération enzymatique est le gène *tet* (X) (Roberts, 1996). Toutefois, différents gènes *tet* ont été décrits comme conférant la résistance aux tétracyclines chez les bactéries gram négatives.

Le gène *tet* (A) a été retrouvé aussi bien sur des plasmides que sur les chromosomes, alors que les gènes *tet* (B), *tet* (C), *tet* (D) ont été détecté sur le chromosome chez différents sérotypes des souches de *Salmonellaenterica*, incluant les sérotypes Typhimurium, Enteritidis, Hadar, Saint Paul et Choleraesius (Fresh et Schwarz, 2000)

5. Transmission de l'antibiorésistance

L'utilisation des techniques de typage épidémiologique a permis de mettre en évidence la similarité entre des espèces bactériennes résistantes aux antibiotiques retrouvés chez l'homme et chez l'animal. Plusieurs auteurs ont suggéré l'origine commune de certaines espèces (Nawaz *et al.*, 2000). Cependant, la compréhension du sens de transfert entre les écosystèmes de l'homme et de l'animal s'avère problématique. Toutefois, la littérature est plus riche en exemples de transfert se faisant dans le sens animal-homme. Deux moyens de transfert de l'antibiorésistance de l'animal à l'homme ont été évoqués. Il s'agit du transfert direct de l'antibiorésistance de l'animal à l'homme via la voie alimentaire ou par l'intermédiaire de matériel comme la salive et les fèces et du transfert indirect d'antibiorésistance. Le transfert indirect met en jeu les mécanismes de propagation et de dissémination des gènes de résistance (Schwarz *et al.*, 2001). Aussi, la complexité des interrelations existant entre les différents écosystèmes que sont l'eau, le sol, l'animal et l'homme contribue au transfert de résistance. Les sources et réservoirs potentiels d'antibiorésistance pour l'homme sont donc multiples et variés et pas seulement limités au pool animal (Figure 6) (Icgen *et al.*, 2002).

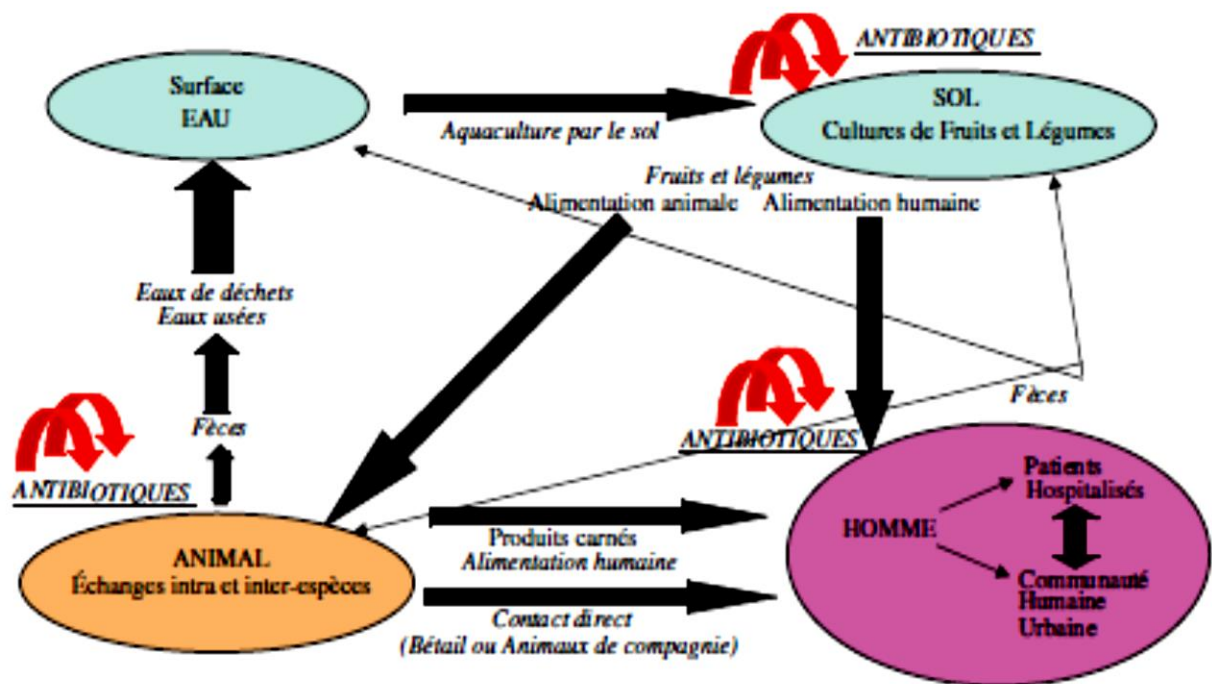


Figure 6: complexité des interactions entre les différents écosystèmes (Faye, 2005)

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Type d'étude

Il s'agit d'une étude basée sur l'analyse des données d'une enquête transversale effectuée dans les fermes et parcs à bétails d'une part et d'autre part sur les analyses microbiologiques et moléculaires des souches de *Salmonella* sp et de *E. coli* isolées chez les bovins.

1.1. Cadre et période d'étude

L'enquête transversale s'est déroulée dans les fermes et les parcs à bétail à des périodes allant de Février à Mars 2016 dans cinq communes du district d'Abidjan. La réalisation de cette enquête a nécessité l'élaboration d'une fiche d'enquête (**Annexe 1**). Cette fiche d'enquête élaborée pour l'acquisition des données en élevage des bovins comportaient six (6) parties. La première partie (**I**) concernait les informations sur les gestionnaires du bétail. La deuxième partie (**II**) traitait les informations sur le cheptel bovin. La troisième partie (**III**) relevait les informations sur les médicaments vétérinaires. La quatrième partie (**IV**) était relative aux vétérinaires. La cinquième partie (**V**) quant à elle, concernait le mode d'approvisionnement des antibiotiques à usage vétérinaire. Enfin, la sixième partie (**VI**) s'appliquait au mode d'utilisation des antibiotiques. Les analyses microbiologiques et moléculaires ont été réalisées au sein des Unité d'Etude et de Recherche des Contaminants Chimiques et Microbiologiques dans les aliments (**UNERCO**), d'Antibiotiques, des Substances Naturelles et de la Surveillance des Micro-organismes aux Anti-infectieux (**ASSURMI**) du département de Bactériologie-Virologie de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, de Gestion des Micro-organismes (**UGM**) du département du Centres de Ressources Biologiques (**CeREB**) et de la Plateforme de Biologie Moleculaire (**PFBM**) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.

1.3. Matériel biologique

Le matériel d'étude était constitué d'échantillons de selles des bovins (**Figure 7**) provenant des élevages et parcs à bétails de cinq (5) communes du district d'Abidjan (**Figure 8**).

Abidjan, partie Sud de la Côte d'Ivoire, avec sur une superficie de 2 119 km². Abidjan est la capitale économique de la Côte d'Ivoire et est située entre 5°00' et 5°30' latitudes Nord et 3°50' et 4°10' longitudes ouest. La ville jouit d'un climat de type subéquatorial, chaud et humide. Avec une superficie de 422 km², la ville comptait en 2014, 4 707 000 habitants soit 20% de la population totale du pays. Abidjan constitue non seulement la plus grande ville de Côte d'Ivoire, mais possède également le plus grand marché à bétail de la Côte d'Ivoire (**Yao et Kallo, 2015**).

Cinq communes du district d'Abidjan ont été sélectionnées pour l'étude. Ce sont : les communes de Port-Bouët, de Yopougon, d'Adjamé, d'Abobo et de Bingerville. Ces communes ont été choisies en fonction de la disponibilité du gestionnaire à participer à l'étude et de la présence d'un cheptel de taille moyenne estimée à 150 têtes de bovins (**N'Goran *et al.*, 2008**). L'investigation a été possible après autorisation des différents acteurs de la filière (propriétaires de bétail, gestionnaires de bétail, vétérinaire etc.).



Figure 7: Selles fraîches de bovin, photographie réalisée par Yao, 2017

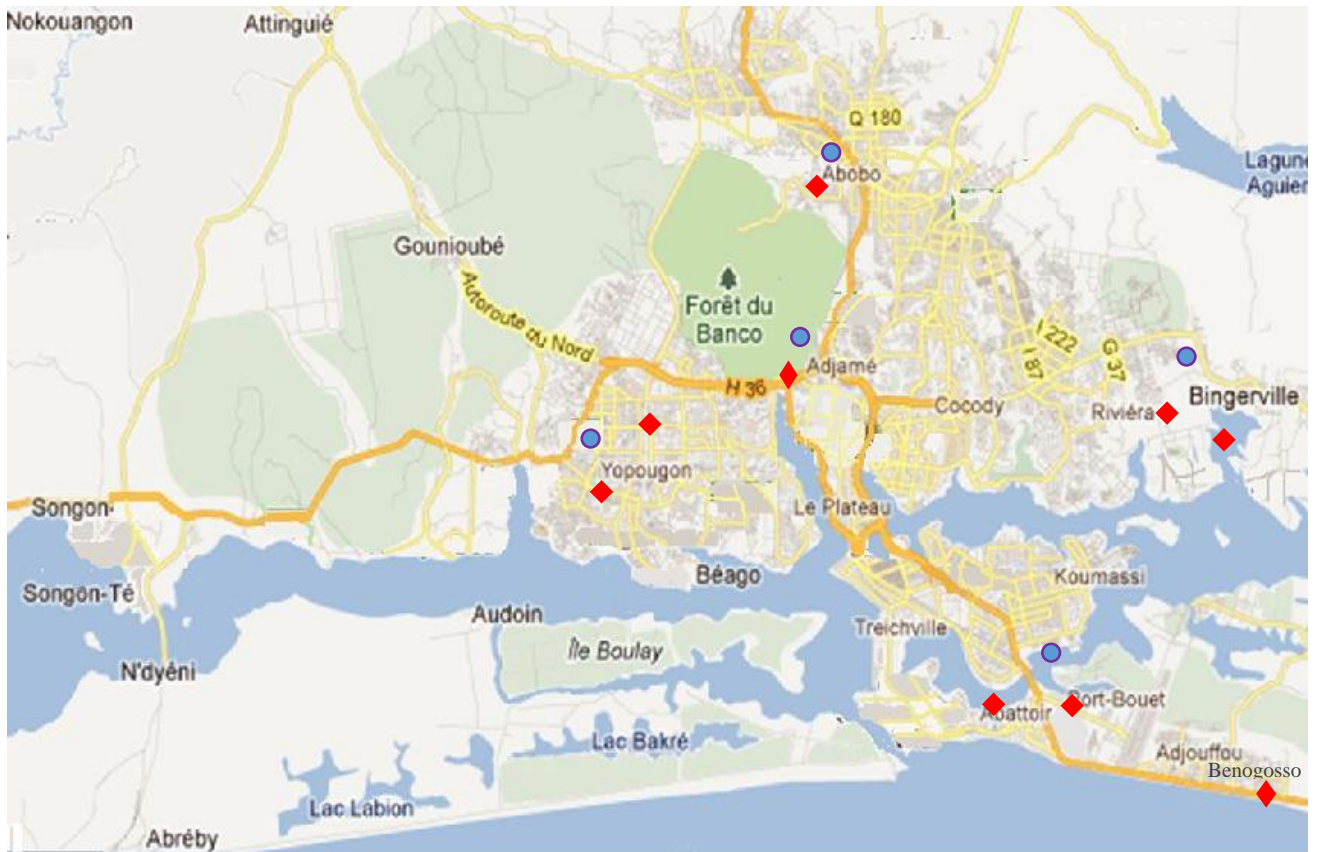


Figure 8 : Les différents sites de prélèvement dans le district d'Abidjan (Sina, 2013 ; modifié)

- ◆ : Site de prélèvement
- : Commune

1.4. Matériel technique

1.4.1. Milieux de cultures

Les milieux Müller-Hinton (Bio-Rad, Marnes, France), Hektoen (Bio-Rad, Marnes, France), Eau Peptonée Tamponnée (EPT) (Bio-Rad, Marnes, France), Rapid'*E. coli* 2 (Rec2) (Bio-Rad, Marnes, France) et Rappaport de Vassiliadis (RV10) (Bio-Rad, Marnes, France), Kligler-Hajna (Bio-Rad, Marnes, France), citrate de Simmons (Bio-Rad, Marnes, France), mannitol-mobilité (Bio-Rad, Marnes, France), Lysine-Fer (Bio-Rad, Marnes, France) ont été utilisés pour la culture et l'identification bactérienne, ainsi que pour la réalisation de l'antibiogramme.

1.4.2. Réactifs pour le Sérotypage

Des antisérum nonavalents, monovalents, trivalents, et polyvalents (Bio-Rad, Marne, France) ont été utilisés pour la recherche des sérotypes des souches de *Salmonella* et de *E. coli*. Le kit Wellcolex *E. coli* O157 :H7 (R30959601, Oxoid, USA) a été utilisé pour la détection du sérotype O157.

1.4.3. Réactifs pour l'antibiogramme

Les disques d'antibiotiques (Bio-Rad, Marnes, France) composés d'Amoxicilline + acide clavulanique, Ampicilline, Céfalotine, Céfépime, Aztreonam, Céfoxitine, Ceftriaxone, Ceftazidime, Céfuroxime, Imipénème, Tétracycline, Minocycline, Gentamicine, Tobramycine, Amikacine, Acide nalidixique, Norfloxacin, Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Colistine et de Triméthoprime/sulfaméthoxazole ont servi à la réalisation de l'antibiogramme (**Tableau III**).

1.4.4. Réactifs pour la Biologie Moléculaire

Les différentes réactions d'amplification géniques ont été réalisées dans des volumes réactionnels contenant les tampons 5X (Green or Colores et GoTaq[®] Flexi Buffer), la solution de MgCl₂ (25mM), les dNTPs (PCR Nucleotide Mix, 10mM), la Taq polymérase (GoTaq[®] G2 Flexi DNA, 500UI) provenant de chez Promega. Le gel d'électrophorèse a été coloré avec la solution de EZ-vision[®] (EZ-Vision[®] In-Gel Solution, 10,000X) provenant de chez Inqaba biotec, West Africa.

Tableau III: Liste des disques d'antibiotiques testés (Bio-Rad, Marnes, France)

Famille	Antibiotique	Symbole	Charge (µg)
β-lactamines	Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	30
	Ampicilline	AMP	10
	Céfalotine	CEF	30
	Céfépime	FEP	30
	Aztréonam	ATM	30
	Céfoxitine	FOX	30
	Ceftriaxone	CRO	30
	Ceftazidime	CAZ	30
	Céfuroxime	CXM	10
	Imipénème	IMP	30
Cyclines	Tétracycline	TET	30
	Minocycline	MNO	30
Aminosides	Gentamicine	GEN	15
	Tobramycine	TMN	10
	Amikacine	AKN	30
Quinolones	Acide nalidixique	NAL	30
	Norfloxacin	NOR	5
	Ciprofloxacine	CIP	5
Phénicol	Chloramphénicol	CHL	30
Polymyxines	Colistine	CST	50
Sulfamides	Triméthoprim/ sulfaméthoxazole	SXT	25

1.4.5. Amorces et souches de référence

Les différents couples d'amorces utilisés pour le typage moléculaire des gènes de résistance et de virulence ont été énumérés dans les tableaux (IV) et (V). Ces couples d'amorces ont été acquis de l'entreprise Inqaba Biotec West Africa Ltd.

Des souches de référence ont été utilisées comme contrôle positif pour tester l'efficacité des milieux de culture et des disques d'antibiotiques, également comme témoin positif pour la recherche moléculaire des gènes de résistances et de virulence chez les souches de *Salmonella* et de *E. coli* (Tableau VI). Ces souches ont été acquises de National Food Institute (DTU Food, Danemark), de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire (IPCI) et de Biomerieux (Marcy, France).

1.4.6. Equipements

Le MALDI-TOF Vitek MS (BioMérieux, France) a été utilisé pour l'identification des souches des souches de *E. coli* et de *Salmonella* isolées.

La lecture et l'interprétation des boîtes de l'antibiogramme a été réalisée à l'aide du système automatisé ADAGIO™ (Bio-Rad).

L'amplification génique a été réalisée à l'aide d'un thermocycleur (Applied biosystems, USA). Tandis que la révélation des fragments d'ADN amplifiés a été effectuée dans une cuve d'électrophorèse horizontale (PCR SCIE-PLAS, China) et le Gel Doc EZ Imager (Bio-Rad, USA) a servi à la lecture du gel électrophorétique.

Tableau IV: Liste des amorces utilisées pour la détection des gènes de résistance

Gène	Amorce	Séquence (5'-3')	Température d'hybridation	Taille du fragment (pb)	Références
<i>bla_{TEM}</i>	TEM front P1 TEM-C-R-ny	GCGGAACCCCTATTTG ACCAATGCTTAATCAGTGAG	55	964	Olesen <i>et al.</i> , 2004 , Moodley et Guardabassi, 2009
<i>bla_{CTX-M}</i>	CTX-M F CTX-M R	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA CGATATCGTTGGTGGTGCCATA	60	544	Birkett <i>et al.</i> , 2007
<i>bla_{SHV}</i>	SHV F SHV R	TTTATGGCGTTACCTTTGACC ATTTGTCGCTTCTTTACTCGC	60	1051	Yagi <i>et al.</i> , 2000
<i>qnrA</i>	QnrA fw QnrA rw	GGATGCCAGTTTCGAGGA TGCCAGGCACAGATCTTG	59	492	Cavaco <i>et al.</i> , 2008
<i>qnrB</i>	qnrB (1-6)F qnrB (1-6)R	GGMATHGAAATTCGCCACTG TTTGCYGYCYGCCAGTCGAA	57	264	Cattoir <i>et al.</i> , 2007
<i>qnrS</i>	qnrS (1-2)F qnrS (1-2)R	TCGACGTGCTAACTTGCG GATCTAAACCGTCGAGTTCGG	57	466	Cavaco <i>et al.</i> , 2008
<i>tetA</i>	TetA primer1 TetA primer2	GTAATTCTGAGCACTGTTCGC CTGCCTGGACAACATTGCTT	57	956	Waters <i>et al.</i> , 1983

Tableau V: Liste des amorces pour la détection des gènes de virulence

Gène	Amorce	Séquence (5'-3')	Température d'hybridation	Taille de amplicon (pb)	Référence
<i>stx</i>	stx1-f	TTCGCTCTGCAATAGGTA	50	555	Franck <i>et al.</i> , 1998
	stx1-r	TCCCCAGTTCAATGTAAGAT			
	stx2-f	GTGCCTGTTACTGGGTTTTTCTTC	50	118	
	stx2-r	AGGGGTCGATATCTCTGTCC			
<i>sta</i>	sta-f	GCTAATGTTGGCAATTTTTATTTCTGTA	50	190	Franck <i>et al.</i> , 1998
	sta-r	AGGATTACAACAAAGTTCACAGCAGTAA			
<i>eae</i>	eae-f	ATATCCGTTTAAATGGCTATCT	50	425	Franck <i>et al.</i> , 1998
	eae-r	AATCTTCTGCGTACTGTGTTCA			
<i>ehA</i>	ehxA-f	GGTGCAGCAGAAAAAGTTGTAG'	57	1551	Schmidt <i>et al.</i> , 1995
	ehxA-r	TCTCGCCTGATAGTGTGGTA			
<i>lt</i>	lt-f	GGCGACAGATTATAACCGTGC	57	450	López-Saucedo <i>et al.</i> , 2003
	lt-r	CGGTCTCTATATCCCTGTT			
<i>spvC</i>	SPVC-1	ACTCCTTGCAACAACCAATGCGGA	56	571	Chiu et Ou., 1996
	SPVC-2	TGTCTTCTGCATTTGCCACCATCA			
<i>invA</i>	INVA-1	ACAGTGCTCGTTACGACCTGAAT	56	244	Chiu et Ou., 1996
	INVA-2	AGACGACTGGTACTGATCGATAAT			
<i>pefA</i>	pefA-r	AGGGAATTCTTCTTGCTTCCATTCCATTATTGCACTGGG	50	157	Mkrtchyan <i>et al.</i> , 2016
	pefA-f	TCTGTTCGACGGGGGATTATTTGTAAGCCACT			
<i>iroN</i>	iroN-F	ACTGGCACGGCTCGCTGTCGCTCTAT	66,5	1205	Mezal <i>et al.</i> , 2013
	iroN-R	CGCTTACC GCCGTTCTGCCACTGC			

Tableau VI: Liste des souches de référence pour la réalisation des différents tests

Espèces	Usage	Références/ Origine
<i>E. coli</i> ATCC25922	Contrôles des milieux de culture et de l'antibiogramme	DTU Food (Danemark)
<i>Salmonella typhimurium</i>	Contrôle de milieux de culture	IPCI (Abidjan,Côte d'Ivoire)
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Souche calibrante du MALDI-TOF	Biomérieux (France)
<i>Salmonella Bredeney TEM-104</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>bla_{TEM}</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Salmonella Virchow 58.67 Holland</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>bla_{CTX}</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Salmonella Keurmassar DAK2</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>bla_{SHV}</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Enterobacter cloacae 03-577</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>qnrA</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Klebsiella pneumoniae KP15</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>qnrB</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Escherichia coli pHCI9</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>qnrS</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Escherichia coli NCTC 50078</i>	témoin positif pour la detection du gène <i>tetA</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Salmonella P5002212 DT104</i>	témoin positif pour le resherche des gènes <i>invA, spvC, pefA</i> et <i>iroN</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Shigella sonnei</i>	témoin positif pour le resherche des gènes <i>stx1, eae, lt</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)
<i>Shigella flexneri</i>	témoin positif pour le resherche des gènes <i>stx1/stx2, ehxA, sta</i>	DTU Food (Lyngby,Danemark)

2. Méthodes

2.1. Enquête sur l'utilisation des antibiotiques

Les fiches d'enquêtes (Annexe 1) ont permis de recueillir des informations sur la conduite de l'élevage bovin dans le district d'Abidjan. Ces informations ont porté sur les caractéristiques socio-démographiques des gestionnaires de bétails, la provenance du bétail, leur suivi par des vétérinaires et surtout les modalités d'utilisation des antibiotiques. Pour la conduite de l'enquête, les questions ont été posées directement aux gestionnaires des bétails et les réponses ont été reportées sur les fiches élaborées. Les différents antibiotiques utilisés lors des thérapies ont été listés par consultation des différents emballages. Sur un total de 201 gestionnaires de bétails interrogés, 172 ont accepté de participer à l'étude.

Le terme "gestionnaire de bétail" a été utilisé pour décrire les éleveurs et les vendeurs de bétails.

2.2. Echantillonnage

2.2.1. Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon a été déterminée par application de la formule déterminant la taille pour un échantillon probabiliste (OMS, 1991).

$$n = \frac{Z^2 \times p(1-p)}{e^2}$$

Dans cette formule, **n** est la taille de l'échantillon ; **Z** est une constante issue de la loi normale ; pour un seuil de confiance de 95%, $Z= 1,96$; **P** est la prévalence attendue de souches de *Salmonella* et de *E. coli* dans les selles de bovin au cours de cette étude ; **e** représente la marge d'erreur choisie (5%).

Pour une prévalence estimée à 50 % la taille minimum d'échantillons probabiliste serait 385. Ainsi, au cours de cette étude, 420 échantillons de selles fraîches de bovin ont été collectés.

2.2.2. Plan d'échantillonnage

L'échantillonnage a consisté à prélever des selles fraîches des bovins obtenues juste après émissions sur les différents sites à bétails. La collecte de l'échantillon a été réalisée en prélevant la deuxième couche entre la partie superficielle et la partie non en contact avec le sol à l'aide de spatules stériles puis mis dans les pots de coprocultures stériles.

Pendant chaque passage 30 échantillons de selles de bovin ont été prélevés. Chaque site a bénéficié de deux passages, ce qui a permis d'obtenir 60 échantillons par passage.

Au niveau de Port-Bouët, les échantillons ont été prélevés sur 3 sites : il s'agit du site d'élevage de Bénogosso, de l'abattoir et le parc à bétail. Un total de 420 échantillons de bouses de bovins a été prélevé entre avril et septembre 2016. Les échantillons ont ensuite été conservés dans une glacière contenant des accumulateurs de froid puis immédiatement transportés au laboratoire de microbiologie alimentaire du département de bactériologie de l'Institut Pasteur de Cocody pour analyse.

Tous les échantillons prélevés ont été analysés pour l'isolement et l'identification des *Salmonella* et *E. coli*.

2.3. Analyses bactériologiques

Une quantité de selle fraîche a été pesée à l'aide d'une balance de précision (Mettler, USA) en vue de réaliser une prise d'essai de 25 grammes (25 g).

2.3.1. Isolement des souches de *Salmonella*

La recherche de *Salmonella* dans les selles fraîches est réalisée selon le protocole standard décrit par la norme NF EN ISO 6579 (**ISO-6579, 2002E**) comportant 4 étapes : le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification biochimique.

2.3.1.1. Pré-enrichissement

La prise d'essai de 25 g de selle fraîche est introduite dans un sachet STOMACHER. Deux cent vingt-cinq (225) mL d'eau peptonée tamponnée (Bio-Rad, Marnes, France) y sont ajoutés puis l'ensemble est homogénéisé en vue de constituer une suspension. La suspension obtenue est ensuite incubée à 37 °C pendant 24 heures.

2.3.1.2. Enrichissement sélectif

Une quantité de 0,1 mL de la culture de pré-enrichissement est ajoutée à 10 mL de bouillon Rappaport de Vassiliadis (Bio-Rad, Marnes, France) contenu dans des tubes à essais puis incubée à 44 °C pendant 24 heures.

2.3.1.3. Isolement sélectif

Il a consisté à ensemercer par la technique de stries d'épuisement, la gélose Hektoen (Bio-Rad, Marnes, France), à partir des bouillons d'enrichissements. Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 24 heures.

Les colonies caractéristiques de couleur bleu-vert avec ou sans centre noir sont sélectionnées pour l'identification des caractères morphologiques et biochimiques.

2.3.2. Isolement des souches de *Escherichia coli* productrice de bêta-lactamase

2.3.2.1. Préparation du milieu d'isolement

2.3.2.1.1. Préparation de la solution stock d'antibiotique (0,4 mg/mL)

Une quantité de 2 mg de la poudre de ceftazidime est pesée, puis 5 mL d'eau distillée stérile est ajouté pour donner une concentration de 0,4 mg/ mL (solution stock de Ceftazidime). La solution stock d'antibiotique est conservée à -20 °C.

2.3.2.1.2. Préparation du milieu Rapid *E. coli* 2 additionné de Ceftazidime (2 mg/L)

Après préparation de la gélose Rapid *E. coli* 2 selon les instructions du fabricant, le milieu est distribué dans les flacons et maintenu en surfusion (45°C). Une quantité de 100 µL de la solution stock de ceftazidime à la concentration 0,4 mg/ mL est incorporée dans la gélose en surfusion de sorte à obtenir un milieu Rapid *E. coli* 2 avec 2 mg/L de ceftazidime. Après homogénéisation, le contenu de chaque flacon a été coulé dans des boîtes de Pétri de 90 millimètres.

2.3.2.2. Isolement des souches de *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase

Il a consisté à ensemercer la suspension obtenue par dilution de la prise d'essai de 25 g de selle fraîche dans 225 mL d'eau peptonée tamponnée (Bio-Rad, Marnes, France) sur la gélose sélective Rapid *E. coli* 2 avec 2 mg/L de ceftazidime. La suspension estensemencée par la technique de stries d'épuisement puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. Les colonies caractéristiques de couleur violette sont sélectionnées pour l'identification des caractères morphologiques et biochimiques.

2.3.3. Identification des souches de *Salmonella* et de *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase isolées

Les colonies caractéristiques obtenues sur les géloses Hektoen (couleur bleu-vert avec ou sans centre noir) et Rapid *E. coli* 2 + 2mg/L de ceftazidime (couleur violette) sont repiquées sur la gélose Müller-Hinton (Bio-Rad, Marnes, France) en vue de leur identification basée sur les caractères morphologiques (état frais, coloration de Gram) et caractères biochimiques (portoir de Leminor). L'incubation est réalisée à 37 °C pendant 24 heures.

2.3.3.1. Identification morphologique

- **Etat frais**

L'état frais est un examen de mise en œuvre très simple et qui a lieu au microscope optique à l'objectif x 40. Il permet d'apprécier la morphologie des bactéries, leur mode de regroupement, leur abondance et leur mobilité. Pour ce faire, une colonie de souche pure obtenue après culture de 24 heures sur gélose Müller-Hinton estensemencée dans 2 mL de bouillon Cœur-cerveille (Bio-Rad, Marnes, France) contenue dans des tubes à essais puis incubée à 37 °C pendant 3 heures. Après incubation, une goutte du bouillonensemencé est prélevée puis déposée sur une lame porte-objet et recouverte par une lamelle couvre objet. Le tout est porté au microscope optique pour la visualisation.

- **Test de la coloration de Gram**

La coloration de Gram est un examen qui permet non seulement de voir la forme et le mode d'association des bactéries mais aussi de distinguer deux types de bactéries (les bactéries Gram positif et les bactéries Gram négatif).

La coloration de Gram est réalisée à l'aide des réactifs du kit de contrôle de Gram (kit Gram-Nicolle, RAL Diagnostics).

Ainsi, un fragment de colonie bactérienne de 24 heures obtenu sur la gélose Müller-Hinton est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur puis barboté dans une goutte d'eau distillée stérile sur une lame propre. Le frottis ainsi obtenu est fixé et séché par flambage à l'alcool, puis successivement traité au violet de gentiane (1 minute), au lugol (30 secondes), à alcool éthylique 70° et enfin à la fuchsine (15 secondes). Entre deux traitements le frottis est rincé à l'eau. La lame est séchée et observée au microscope à l'objectif x 100 après addition de l'huile à immersion.

2.3.3.2. Identification biochimique

- **Mise en évidence de la production du cytochrome C oxydase**

Le test de la mise en évidence de la production du cytochrome C oxydase est réalisé à l'aide des disques imprégnés du réactif chlorhydrate ou l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine ou PDA.

Ainsi, une bactérie possédant l'enzyme respiratoire (cytochrome C oxydase) produit la forme oxydée (violet) de l'oxalate de N-diméthyl paraphénylène diamine à partir de la forme réduite (incolore).

Pour ce faire, une goutte d'eau distillée est déposée sur un disque imprégné du réactif d'oxydase placé sur une lame porte-objet. Un fragment de la colonie à étudier est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur et étalé sur le disque. L'absence de coloration violette après quelques secondes traduit la non

production d'un cytochrome C oxydase et l'apparition d'une coloration violette après quelques secondes traduit la production d'un cytochrome C oxydase par la bactérie

- **Mise en évidence de la production de la catalase**

Le test de mise en évidence de la production de la catalase est réalisé à l'aide du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). La catalase est une enzyme qui catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène libre, réaction dans laquelle le peroxyde d'hydrogène agit comme donneur et accepteur d'électrons. Si une bactérie possède la catalase, un dégagement gazeux sous forme de bulles est produit.

Ainsi, un fragment de la colonie bactérienne de 24 heures est prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile et barboté dans une goutte d'eau oxygénée. La présence d'un dégagement gazeux sous forme de bulles traduit la production de la catalase par la bactérie.

- **Mise en évidence de la production de la β -galactosidase**

Le Test à l'ONPG (OrthoNitroPhényl β -D-Galactopyranoside) permet la recherche de la β -galactosidase qui est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du lactose. L'utilisation du lactose par la bactérie requiert deux enzymes : le **lactose perméase** qui permet au lactose de pénétrer dans la bactérie et la β -galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose. La recherche de la β -galactosidase ne présente d'intérêt que pour les bactéries lactose négatif. L'ortho-nitro-phényl-galactoside (ONPG) incolore, de structure proche du lactose et capable de pénétrer dans la bactérie sans perméase est utilisé comme substrat synthétique. Si la bactérie possède la β -galactosidase, on obtient du galactose et de l'ortho-nitro-phénol (ONP) de couleur jaune.

Une suspension de culture pure de 24 heures est préparée dans un tube stérile contenant 0,5 mL d'eau physiologique. Un disque ONPG est ajouté à la suspension, puis incubé à 37 °C pendant un temps variant entre 3 heures et 24 heures au maximum. La coloration de la suspension en jaune traduit présence β -galactosidase.

- **Réalisation du portoir réduit de Le Minor**

La recherche des autres caractères biochimiques a consisté à ensemençer un portoir réduit de Lemnor constituée de 5 milieux de culture, à savoir les milieux Kligler-Hajna (BioRAD, France), urée-indole (Bio-Rad, Marnes, France), mannitol-mobilité (Bio-Rad, Marnes, France), Lysine-fer (Bio-Rad, Marnes, France) et citrate de Simmons (Bio-Rad, Marnes, France).

Une fois ensemençé, le portoir est incubé à 37 °C pendant 24 heures. Ces milieux sont utilisés pour la mise en évidence de la fermentation du glucose (Glu), du lactose (Lac), du mannitol ; de la production de gaz (Gaz), de l'hydrogène sulfuré (H_2S), de l'uréase (Ur), de l'indole (Ind) ; de la mise

en évidence de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone; de la lysine décarboxylase et de la lysine désaminase.

Les souches de *Salmonella* et *E. coli* identifiées ont été confirmées au **Maldi-Tof (Vitek MS) (Biomerieux, France)**.

2.3.3.3. Identification des souches au Maldi-Tof (Vitek MS)

L'identité des microorganismes isolés des bouses de bovin a été confirmée à l'aide du Maldi-Tof (Vitek MS).

- **Principe du Maldi-Tof®**

Un faisceau laser à une longueur d'onde de 337 nm est utilisé pour désorber et ioniser le mélange matrice/échantillon cristallisé sur une surface métallique. Les molécules de la matrice absorbent l'énergie transmise par le laser, s'excitent et s'ionisent. Cette énergie absorbée par la matrice provoque la dissociation et le passage en phase gazeuse. Les molécules de la matrice ionisée transfèrent leur charge à l'échantillon. L'application d'une tension électrique générant une différence de potentiel propulse les différentes molécules dans un tube de vol. Le temps de vol est déterminé pour chaque ion. Le rapport masse sur charge de chaque ion détecté est calculé à l'aide d'une formule tenant compte de la longueur du tube de vol et du temps de vol. Un spectre de masse est produit et l'identification du microorganisme est obtenue par comparaison de ce spectre avec les spectres de référence présents dans une base de données fournie par le fabricant.

- **Réalisation de l'identification au MALDI-TOF (Vitek MS)**

A l'aide d'une anse jetable stérile, une colonie de 24 heures de chaque souche à analyser est prélevée et un fin frottis réalisé sur les puits successifs d'une microplaque de 96 puits et recouvert chacun par 1 µL de l'acide α -cyano hydroxycinnamique (matrice). Les souches non identifiées ont subi une purification par ensemencement sur milieu sélectif. Une souche de *E. coli* ATCC 8739 (Biomérieux, France) est utilisée comme une souche calibrante.

Les identifications sont acceptées sur la base de l'algorithme décisionnel en fonction des scores de spectrométrie de masse (MS) suivants :

MS Score = 2,3 : Identification excellente

MS Score = 2,0 et < 2,3 et 3 premiers résultats identiques : Bonne identification

MS Score = 1,7 et < 2,0 et 3 premiers résultats identiques : Identification acceptable.

2.4. Caractérisation phénotypique des souches de *Salmonella* et *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase

2.4.1. Détermination de la diversité des souches isolées

Un test de sérotypage est réalisé sur des souches bactériennes de 24 heures en vue de déterminer le sérotype des différentes souches pathogènes de *E. coli* et de *Salmonella* dans les échantillons analysés.

2.4.1.1. Détermination de l'antigène somatique et flagellaire des *Salmonella* par sérotypage

Le sérotypage des *Salmonella* a été réalisé selon la méthode décrite par **Kauffmann et White (1934)**. Cette méthode consiste à procéder à la mise en évidence des antigènes somatiques (Ag O) et flagellaires H (Ag H) ou de capsule Ag (Vi). La détermination du sérotype est réalisée en testant successivement les antisérums polyvalents et monovalents O et H, et l'antisérum capsulaire Vi. L'observation d'agglutinats indique une réaction positive et l'absence d'agglutinat indique une réaction négative.

La souche de *Salmonella* à sérotyper est repiquée sur la gélose trypticase soja (Bio-Rad, Marnes, France) et incubée à 37 °C pendant 24 heures. La première étape est de vérifier la propriété auto-agglutinante des souches de *Salmonella* testées. Pour ce faire, une colonie prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur stérile est émulsionnée dans une goutte d'eau physiologique (NaCl 0,85%) sur une lame porte-objet propre. En cas d'agglutination, le sérotype ne peut être déterminé (souche non pure). En absence d'agglutination, le test est poursuivi en barbotant une colonie de souche dans une goutte d'antisérum de façon à obtenir un trouble homogène sur une lame porte-objet propre au premier jour du sérotypage.

La détermination de la seconde phase flagellaire est réalisée en bloquant la première phase flagellaire par ensemencement de la gélose Svergard additionnée de l'antisérum de la phase 1 ou l'antisérum mélange contenant l'antisérum de la phase 1 correspondante. Cette étape est suivie de la détermination de l'antigène Vi. Enfin, la comparaison de la formule antigénique obtenue avec celles contenues dans le lexique de Kauffmann et White a permis de nommer le sérotype de la souche de *Salmonella*.

2.4.1.2. Détermination de l'antigène somatique de *Escherichia coli* par sérotypage

Le sérotypage des souches de *Escherichia coli* est principalement utilisé en recherche épidémiologique. En effet, on s'aperçoit rapidement que certains sérotypes sont plus fréquemment rencontrés lors de certaines pathologies. L'**annexe 3** présente le schéma général du sérotypage des souches de *E. coli*.

2.4.1.2.1. Groupage des souches de *Escherichia coli* par séro- agglutination

Le sérotypage est effectué par la réaction d'agglutination rapide sur lame à l'aide des immun-sérums spécifiques selon la méthode décrite par **Le Minor *et al.* (1972)**. Pour ce faire, une culture pure de 24 heures obtenue sur gélose trypticase soja (Bio-Rad) et des sérums nonavalent (antisérum de 9 antigènes O), trivalent (antisérum de 3 antigènes O) sont utilisés. Douze immun-sérums monovalents (antisérum d'un seul type d'antigènes O) sont utilisés pour le sérogroupage des souches de *E. coli* entéro-pathogènes. Il s'agit des immun-sérums O26, O55, O86, O111, O114, O119, O124, O125, O126, O127, O128, et O142.

Ainsi, la première étape de l'opération a consisté à tester pour chaque souche, sa propriété d'auto-agglutination. Pour ce faire, un fragment de la colonie de *E. coli* à tester est émulsionné dans une goutte d'eau physiologique (NaCl 0,85%) sur une lame porte-objet propre. En présence d'agglutination, le test est arrêté puis la souche est purifiée. En absence d'agglutination, le test est poursuivi. Ensuite, une goutte d'antisérum est déposée sur une lame porte-objet propre et un fragment de la colonie y est émulsionné à l'aide d'une pipette stérile de façon à obtenir un trouble homogène dans la goutte. La lame est ensuite agitée par des mouvements lents et circulaires jusqu'à l'apparition d'agglutinats fins et granulaires.

2.4.1.2.2. Détermination du sérotype O157

La recherche du sérotype O157 est réalisée par un test d'agglutination à l'aide du Kit Wellcolex *E. coli* O157 : H7 (USA) sur les présomptives souches de *Escherichia coli* O157 (sorbitol négatif). Elle a consisté à déterminer par séro-agglutination, l'antigène somatique O157.

Pour ce faire, un fragment de la colonie de *E. coli* de 24 heures est barboté sur 4 cercles contenant chacun une goutte d'eau saline (NaCl 0,85%) et disposé sur une plaque. Ensuite, une goutte de chacun des réactifs de la phase somatique O (Test latex O157 et control latex O157) est déposée respectivement sur le premier et deuxième cercle de la ligne 1. Après cette étape, les cercles 3 et 4 de la ligne 1 ont par la suite reçu respectivement une goutte de chacun des réactifs de *E. coli* O157 : H7 Control positif + Test latex O157, et une goutte de chacun des réactifs *E. coli* O157 :H7 Control négatif + Test latex O157. Le contenu de chaque cercle a été soigneusement mélangé par un mouvement de rotation lent pendant 30 secondes. Ainsi, la présence d'agglutination dans le premier et deuxième cercle de la première ligne signifie que la souche possède l'antigène O157.

2.4.2. Antibiogramme des souches de *Salmonella* et *Escherichia coli* isolées

L'antibiogramme est réalisé sur l'ensemble des souches isolées. Les molécules d'antibiotiques utilisées sont celles utilisées en médecine vétérinaire et en médecine humaine.

Le principe est basé sur la technique de diffusion des disques en milieu gélosé selon la méthode décrite par **Bauer *et al.* (1966)**.

La réalisation de l'antibiogramme a consisté à préparer l'inoculum bactérien, à l'ensemencer sur la gélose, à appliquer les disques d'antibiotique, à incuber les boîtes, à lire et à interpréter les résultats.

➤ Préparation de l'inoculum bactérien

A partir d'une culture de 24 heures obtenue sur gélose Müller-Hinton, deux à trois colonies bactériennes ont été prélevées et émulsionnées dans 10 mL d'eau saline NaCl 0,85% (BioMérieux, Marcy, France) pour l'obtention d'une turbidité à l'échelle 0,5 de MacFarland équivalent à une concentration bactérienne d'environ 10^6 UFC/mL. La suspension ainsi obtenue a constitué l'inoculum bactérien.

➤ Ensemencement, application des disques et incubation

Un écouvillon stérile est trempé dans l'inoculum bactérien, puis ensemencé sur toute la surface de la gélose Müller-Hinton, en stries serrées en pivotant chaque fois la boîte.

Après l'ensemencement, les disques d'antibiotiques sont posés sur la surface de la gélose Müller-Hinton à l'aide d'un applicateur de disque. Deux disques sont éloignés au minimum de 30 mm de sorte à éviter des chevauchements des zones d'inhibition. Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) sur la paille pendant environ 15 minutes afin de permettre une pré-diffusion des antibiotiques. Avant d'être utilisés, un contrôle interne des disques d'antibiotiques a été effectué conformément aux recommandations du CA-SFM (2016) à l'aide de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922. Ce contrôle permet de s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les boîtes ensemencées sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures.

➤ Interprétation

La mesure des diamètres d'inhibition est réalisée à l'aide du système automatisé ADAGIO™ (BioRad, Marnes, France). Les valeurs des diamètres d'inhibition obtenues ont permis de classer les souches en : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) conformément aux recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (EUCAST/ CA-SFM, 2016). Les souches à résistance intermédiaire (I) ont été catégorisées souches résistantes.

2.4.3. Détection du phénotype BLSE selon le test de double disque synergie

Toutes les souches de *E. coli* isolées ont fait l'objet d'une détection de la production de bêta-lactamase à spectre élargi par le test de double diffusion ou double synergie. Cette détection est réalisée selon la méthode de **Jarlier *et al.* (1988)**. Elle est conduite dans les conditions standard de l'antibiogramme.

Des disques de Ceftazidime, de Ceftriaxone, de Céfépime, de Céfoxitine, d'Aztreonam et d'Imipénème ont été disposés autour d'un disque d'amoxicilline/acide clavulanique sur la gélose Müller-Hinton puis incubés à 37°C pendant 24 heures (**Figure 9**). L'apparition d'une image en forme de bouchon de champagne traduit la production d'une bêta-lactamase à spectre élargi par la souche de *E. coli* testée (**Drieux *et al.*, 2008**)

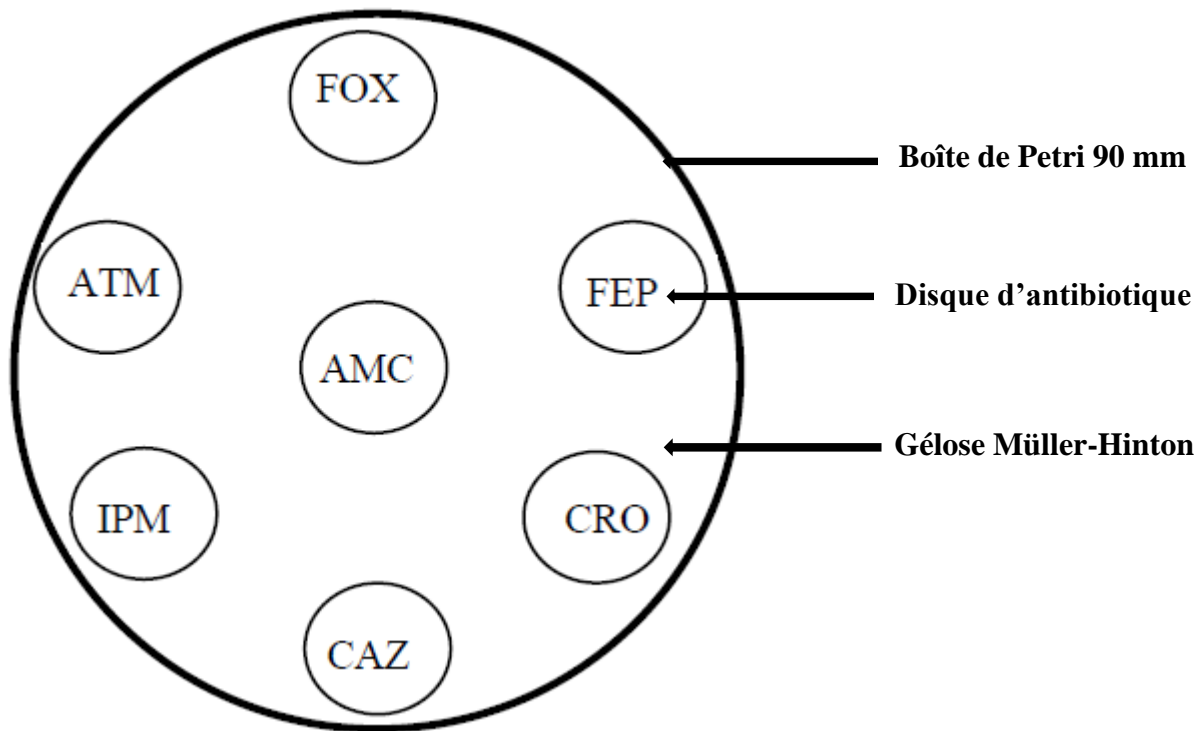


Figure 9: Disposition des disques d'antibiotiques pour le test de double synergie

AMC = amoxicilline + acide clavulanique ; ATM = aztréonam ; FOX= céfoxitime ; FEP = céfépime ; CRO = ceftriaxone ; CAZ = ceftazidime ; IPM = imipénème.

2.5. Caractérisation moléculaire des souches bactériennes

2.5.1. Choix des souches

Des souches de *Salmonella* présentant une résistance phénotypique à au moins un antibiotique testé et les souches de *E. coli* BLSE résistantes aux quinolones ont été sélectionnées pour le typage moléculaire des gènes de résistance aux antibiotiques.

2.5.2. Préparation des souches

Les souches bactériennes sont ensemencées par stries sur une gélose Müller-Hinton (MH) et mis à incuber à 37 °C pendant 24 heures afin d'avoir des colonies jeunes.

2.5.3. Recherche des gènes de résistance par PCR

La recherche moléculaire des marqueurs de résistance est réalisée après amplification génique (PCR) et a concerné la recherche des gènes de résistance aux bêta-lactamines (*CTX-M*, *SHV*, *TEM*), aux fluoroquinolones (*qnr A*, *B* et *S*) et aux tétracyclines (*TetA*).

2.5.3.1. Extraction d'ADN génomique par la méthode phénol-chloroforme-iso amylique

2.5.3.1.1. Extraction de l'ADN

A l'aide d'un embout stérile, une à trois colonies de chaque souche bactérienne sur la gélose Müller-Hinton sont prélevées et mises en suspension dans 1,5 mL d'eau PPI dans un tube Eppendorf de 2 mL, puis homogénéisées à l'aide d'un vortex. Le mélange est centrifugé (centrifugeuse réfrigérée Mikro 22 R Hettich, Allemagne) à 14 000 tours/min pendant 10 min à 4 °C. Les surnageants sont éliminés et les culots sont conservés dans les bacs à glace pour l'extraction de l'ADN.

Les culots sont préalablement mis en suspension dans 500 µL d'eau pure (Nuclease-Free Water) dans les tubes Eppendorf propres et stériles. Les tubes sont d'abord incubés à -20 °C pendant 15 minutes, puis à 95 °C pendant 15 minutes pour créer la lyse de la cellule bactérienne. Les suspensions obtenues sont homogénéisées vigoureusement au vortex pour libérer le contenu cellulaire. Une centrifugation est ensuite réalisée (centrifugeuse réfrigérée Mikro 22 R Hettich, Allemagne) à 14000 tours/min pendant 10 minutes à 4 °C. Les surnageants constitués d'aliqots d'ADN sont récupérés dans de nouveaux tubes Eppendorf propres et stériles. Les différents aliqots d'ADN sont conservé à -20 °C pour la purification.

2.5.3.1.2. Purification de l'ADN

Les différents aliquots d'ADN constituant les extraits d'ADN sont purifiés par ajout de 500 μL de phénol-chloroforme-alcool iso amylique (v/v/v). Le mélange est homogénéisé au vortex puis centrifugé à 14000 tours/min pendant 10 minutes à 4°C. Après la centrifugation, 800 μL du surnageant est délicatement récupéré dans un tube Eppendorf stérile. Un volume de 80 μL d'acétate de sodium 3M et 500 μL d'éthanol absolu glacé sont ajoutés au surnageant puis incubés à -20 °C pendant 24 heures. Après incubation les tubes sont ensuite centrifugés à 14 000 tours/min pendant 20 min à 4°C. Un volume de 1 mL d'éthanol 70 % est ajouté au culot obtenu, puis centrifugé à 14000 tours/min pendant 10 min à 4°C. Le surnageant est éliminé, puis le culot est séché à l'aide d'un thermomixeur (Speed vac) à 70 °C. Ce culot séché est resuspendu dans 60 μL d'eau pour préparation injectable (eau PPI), puis conservé à -20 °C. Cette suspension contenant l'ADN est utilisée pour la recherche des gènes de résistance aux antibiotiques.

2.5.3.2. Réalisation de la PCR

L'amplification est réalisée dans un mélange réactionnel de 50 μL constitué de tampon 5X coloré (Promega, USA), tampon 5X non coloré (Promega, USA), 25 mM de MgCl_2 (Promega, USA), 10 mM de chaque dNTPS (Biorad, France), 10 μM amorces spécifiques (Reverse et Forward), 5U de Taq polymérase (Go taq ® G2 Flexi DNA Polymerase) (Promega, USA), et 5 μL d'ADN. Des témoins négatifs (eau pour PCR uniquement) et positifs (ADN de la souche possédant les différents gènes CTX-M, SHV, TEM, qnrA, qnrB, qnrS, TetA) sont réalisés (**Tableau IV**). L'amplification est effectuée dans un thermocycler (Applied biosystems, USA) selon les programmes d'amplification PCR consignés dans le **Tableau VII**.

2.5.3.3. Migration et observation du gel

Le gel d'agarose à 1,5% est préparé à partir du tampon TAE 10X (Tris- Acétate-EDTA) et 5 μL d'une solution de EZ-vision® (Inqaba biotec, West Africa). La solution de EZ-vision® a permis de révéler et de visualiser l'ADN sous rayon UV (Ultraviolet). Dix microlitres (10 μL) du produit d'amplification sont déposés dans chaque puit sur le gel. Un marqueur de poids moléculaire 100 pb est également déposé sur le gel en même temps que les produits de l'amplification, afin de déterminer approximativement la taille des fragments à analyser. La migration électrophorétique est réalisée à 120 volts/cm pendant environ 1 heure. Après la migration, l'ADN est observé sous rayon UV ($\lambda = 312 \text{ nm}$) à l'aide du système automatisé Gel Doc EZ Imager.

Tableau VII: Programmes PCR pour la détection des gènes de résistance

Etape d'amplification	Condition de température / durée		
	CTX-M, TEM, SHV	QnrA, QnrB, QnrS	TetA
Dénaturation initiale	94°C/5min	95°C/5min	95°C/5min
Dénaturation cyclique	94°C/1min	95°C/30s	95°C/30s
Hybridation	60°C/1min	60°C/30s	56°C/30s
Elongation cyclique	72°C/1min	72°C/1min	72°C/1min
Elongation finale	72°C/7min	72°C/10min	72°C/10min
Nombre de cycle	30	35	35

2.5.4. Recherche des gènes de virulence

2.5.4.1. Extraction de l'ADN total par choc thermique

L'extraction de l'ADN est réalisée par la préparation d'une suspension de souches à étudier dans 500 µL d'eau pure (Nuclease-Free Water). Après incubation pendant 15 minutes à -20 °C, puis pendant 15 minutes à 95 °C, les suspensions obtenues sont homogénéisées vigoureusement au vortex pendant 1 minute. Ces différentes suspensions sont ensuite centrifugées pendant 10 minutes à 14000 tours/min. Le surnageant est récupéré dans un nouveau tube Eppendorf de 1,5 mL, et conservé à -20 °C. Ce surnageant a servi d'extrait d'ADN pour la réalisation de la PCR.

2.5.4.2. Amplification des gènes de virulence

La préparation du mélange réactionnel ou Mix est réalisée dans les mêmes conditions que précédemment (2.6.3.2). Cependant, les amorces qui ont permis de cribler les gènes de virulence sont différentes de celles des gènes de résistance. Elles sont consignées dans le **Tableau V**. Des témoins ont été réalisés : un témoin négatif (eau biomole uniquement) et des témoins positifs (ADN de la souche possédant les différents gènes *invA*, *spvC*, *iroN*, *pef*, *stx1*, *stx2*, *eae*, *lt*, *ehxA* et *sta*). L'amplification est effectuée selon les programmes spécifiques de chaque gène. (**Tableau VIII**).

2.5.4.3. Analyse des produits d'amplification

L'analyse des produits d'amplification obtenus est effectuée sur gel d'agarose à 2%, préparé à partir du tampon TAE 10X (Tris- Acétate-EDTA) et 5 µL d'une solution de EZ-vision® comme décrit précédemment.

2.6. Traitement des données

Les données de l'enquête et les données des différentes analyses sont saisies dans le logiciel Excel® 2016. Les analyses statistiques des données de l'enquête sont réalisées avec le logiciel RStudio (version 3.4.4). La régression logistique binaire est utilisée pour apprécier l'effet des facteurs associés à l'utilisation des antibiotiques en élevage bovin dans le district d'Abidjan. Pour la variable catégorielle « antibiotique », la modalité tétracycline a été considérée comme la référence. Les odds-ratio ont été extraits dans le but de quantifier l'effet des modalités : site, activité du gestionnaire, nationalité, niveau d'étude, formation qualifiante, formation diplômante, propriétaire du bétail, expérience professionnelle. Les différents taux en pourcentage (%) sont calculés pour chaque expérience.

Tableau VIII: Programmes PCR pour la détection des gènes de pathogénicité

Etape d'amplification	Condition de température / durée				
	<i>invA, spvC</i>	<i>iroN, pefA</i>	<i>stx1, stx2</i>	<i>eae, sta</i>	<i>lt,ehxA</i>
Dénaturation initiale	94°C/2 min	34°C/2min	94°C/2min	94°C/2min	94°C/2 min
Dénaturation cyclique	94°C/ 30 s	94°C/30s	94°C/30s	94°C/30s	94°C/60s
Hybridation	56°C/30s	65°C/30s	50°C/45s	50°C/45s	57°C/60s
Elongation cyclique	72°C/2min	72°C/1min	70°C/90s	70°C/90s	72°C/60s
Elongation finale	72°C/10min	72°C/10min	72°C/10min	72°C/10min	72°C/10min
Nombre de cycle	35	35	45	45	45

RESULTATS

1. Utilisation des antibiotiques en production bovine

1.1. Caractérisation des gestionnaires de la production bovine

Au total 172 gestionnaires de bétails ont été enquêtés dans cinq communes du district d'Abidjan à savoir les communes de Port-Bouët, de Yopougon, d'Abobo, d'Adjamé et de Bingerville. La proportion des répondants a été plus élevée dans la commune de Port-Bouët avec un taux de 38,4% (**Tableau IX**).

Les bouviers enquêtés ont été pour la majeure partie des éleveurs de bétails (80,8%) de nationalité Burkinabé (47,7%). La majorité n'a pas été scolarisée (83,1%), n'a ni de formation qualifiante (97,1%), ni de formation diplômante (98,8%) mais justifie une expérience professionnelle de 10 à 15 ans (41,9%) voir plus de 20 ans (29,1%) de pratique d'élevage bovin (**Tableau X**).

1.2. Information sur le cheptel bovin

Les informations relatives au cheptel bovin ont révélé que le cheptel provenait de 9 pays différents à savoir : la Côte d'Ivoire, le Ghana, le Mali, le Burkina, le Tchad, le Niger, le Cameroun, la Hollande et la France. Cependant, les résultats obtenus ont montré que le Mali et le Burkina Faso ont constitué les plus grands fournisseurs de bétail avec des proportions respectives de 93% et 60,5% (**Figure 10**).

En ce qui concerne la taille du cheptel bovin, les exploitations enquêtées ont été pour la majeure partie de petites exploitations avec une taille inférieure ou égale à 100 têtes de bovins. D'ailleurs, les enquêtes ont révélé une forte proportion des exploitations possédant moins de 50 têtes de bœufs (58,7%), suivie de celles dont la taille était de 50 à 100 têtes de bœufs (24,4%). Ce cheptel était commercialisé par tranche d'âge. La population la plus commercialisée a été celle dont l'âge était inférieur à 5 ans avec une fréquence de 34,9%. Cependant, certains étaient de préférence commercialisés à l'âge de 5 à 10 ans et de plus de 15 ans avec des fréquences respectives de 21,5% et 29,7% (**Tableau XI**).

Tableau IX: Nombre de gestionnaires enquêtés en fonction des communes

Localités enquêtées						
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon	Total
Effectif	23	20	22	66	41	172
Taux (%)	13,4	11,6	12,8	38,4	23,8	100

Tableau X: Caractérisation des enquêtés

Zone enquêtée Paramètres	Distribution					Total	Proportion (%)
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon		
Activité principale							
Eleveur	13	3	21	64	38	139	80,8
Vendeur	10	17	1	2	3	0233	19,2
Nationalité							
Ivoirienne	9	4	0	6	1	20	11,6
Burkinabé	8	10	11	42	11	82	47,7
Guinéenne	0	1	2	1	5	9	5,2
Malienne	6	5	9	17	24	61	35,5
Niveau d'étude							
Collège	3	3	0	3	3	12	7
Primaire	6	7	0	3	1	17	9,9
Non scolarisé	14	10	22	60	37	143	83,1
Formation qualifiante							
Oui	1	4	0	0	0	5	2,9
Non	22	16	22	66	41	167	97,1
Formation diplômante							
Oui	0	0	0	2	0	2	1,2
Non	23	20	22	64	41	170	98,8
Expérience professionnelle							
Moins de 5 ans	5	3	2	7	3	20	11,6
Entre 5 et 10 ans	0	1	0	3	2	6	3,5
Entre 10 et 15 ans	10	9	5	29	19	72	41,9
Entre 15 et 20 ans	4	2	1	10	7	24	14
Plus de 20 ans	4	5	14	17	10	50	29,1

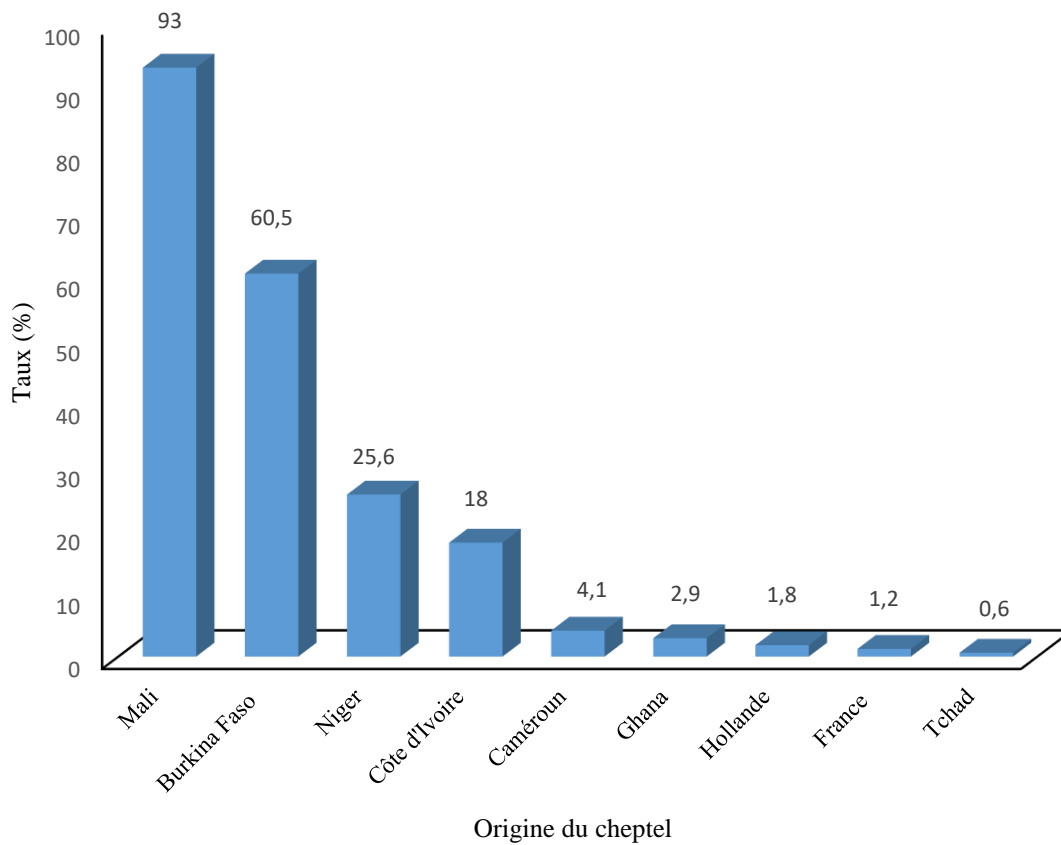


Figure 10: Pays de provenance du cheptel

Tableau XI : Gestion du cheptel bovin

Zone enquêtée Paramètres	Distribution					Effectif	Proportion (%)
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon		
Taille du cheptel (tête)							
Moins de 50	20	19	11	40	28	118	68,6%
Entre 50 et 100	3	1	2	10	13	29	16,9%
Entre 100 et 150	0	0	6	7	0	13	7,6%
Entre 150 et 200	0	0	0	4	0	4	2,3%
Entre 200 et 250	0	0	2	4	0	6	3,5%
Entre 250 et 300	0	0	0	1	0	1	0,6%
Plus de 300	0	0	1	0	0	1	0,6%
Age de vente							
Moins de 5 ans	16	14	0	20	10	60	34,9
Entre 5 et 10 ans	1	2	4	21	9	37	21,5
Entre 10 et 15 ans	0	0	0	1	1	2	1,2
Plus 15 ans	3	3	15	13	17	51	29,7
Moins de 5 ans et entre 5 et 10 ans	3	1	3	9	4	20	11,6
Entre 5 et 10 ans et entre 10 et 15 ans	0	0	0	2	0	2	1,2

1.3. Utilisation des antibiotiques

Les résultats ont montré que 98,8% des bouviers ont utilisé des antibiotiques pour traiter les animaux au cours de la pratique de l'élevage (**Tableau XII**). Ces antibiotiques ont été utilisés pour trois types de traitement à savoir : curatif, préventif et de croissance.

Ces traitements ont été réalisés de façon individuelle ou en association. Les associations Curatif/croissance, Curatif/préventif et Curatif/préventif /croissance ont été les plus observées dans cette enquête avec des fréquences respectives de 30,2%, 26,7% et 20,4%. La dose d'antibiotique administré aux bétails a été fonction du poids de l'animal (100%). Cependant, cette administration s'est faite pour la plupart de façon hebdomadaire (25%) et mensuelle (47,7%). Le mode d'administration comprenant l'injection sous-cutané/ voie orale a été la plus utilisée, soit 62,2% (**Tableau XII**).

1.4. Suivi vétérinaire

Les informations relatives au suivi des bouviers par des vétérinaires ont montré que plus de la moitié des bouviers enquêtés, soit 62,8% ne sont pas suivi par des vétérinaires. Cependant, seuls quelques-uns ont bénéficié de visites hebdomadaire (17,2%), mensuelle (15,6%) et trimestrielle (20,3%). De plus, 92,2% de ces bouviers n'utilisent pas de registres d'élevage (**Tableau XIII**).

1.5. Mode d'approvisionnement en antibiotique

Il ressort de l'analyse de ces résultats que 85,5% de bouviers se sont approvisionnés suite à une prescription vétérinaire, contre 14,5% sans prescription vétérinaire préalable (**Tableau XIV**). Environ 81,4% de bouviers ont acheté les antibiotiques dans des officines vétérinaires. Toutefois, la plupart des bouviers enquêtés ont répondu qu'ils ont sollicité parfois (41,9%) le conseil du vétérinaire lors de l'achat de ces antibiotiques. Cependant, 25,6% de bouviers n'ont jamais eu recours au conseil avant de s'approvisionner en antibiotique.

Tableau XII: Modalité d'utilisation des antibiotiques

Zone enquêtée Paramètres	Distribution					Effectif	Proportion (%)
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon		
Soin des animaux malades							
Antibiotiques	23	20	22	65	40	170	98,8
Autre	0	0	0	1	1	2	1,2
Type de traitement							
Curatif	6	4	7	3	4	24	14
Curatif-croissance	6	8	2	5	14	35	20,3
Curatif-préventif	7	2	7	18	12	46	26,7
Curatif-préventif-croissance	2	5	6	32	7	52	30,2
Préventif	0	1	0	2	2	5	2,9
Préventif-croissance	2	0	0	6	2	10	5,8
Dose d'utilisation							
En fonction du poids	23	20	22	66	41	172	100
Fréquence d'utilisation							
Journalier	3	9	2	6	13	33	19,2
Hebdomadaire	9	5	3	17	9	43	25
Mensuelle	8	5	15	39	15	82	47,7
Trimestrielle	3	1	2	4	4	14	8,1
Nombre de prise pendant le traitement							
Une fois	4	11	10	27	20	72	41,9
Deux fois	13	6	4	10	10	43	25
Entre 2 à 5 fois	6	3	7	25	11	52	30,2
Plus de 5 fois	0	0	1	4	0	5	2,9
Mode d'administration							
Aliment-injection	0	0	0	3	0	3	1,7
Aliment-Injection-Voie orale	0	0	2	2	1	5	2,9
Eau	0	1	0	0	1	2	1,2
Eau-Aliment-Injection-voie Orale	0	2	0	1	2	5	2,9
Eau-Injection	0	1	0	0	0	1	0,6
Eau-Injection-voie orale	5	5	5	7	14	36	20,9
Injection	7	1	0	3	2	13	7,6
Injection-voie orale	11	10	15	50	21	107	62,2

Tableau XIII: Etat du suivi vétérinaire

Localités enquêtées Paramètres	Distribution					Effectif	Proportion (%)
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon		
Suivi vétérinaire							
Non	11	13	12	39	33	108	62,8
Oui	12	7	10	27	8	64	37,2
Fréquence de visites							
Pas de visite	5	4	4	14	3	30	46,9
Hebdomadaire	5	2	1	1	2	11	17,2
Mensuelle	0	1	3	5	1	10	15,6
Trimestrielle	2	0	2	7	2	13	20,3
Registre d'élevage							
Non	12	7	8	24	8	59	92,2
Oui	0	0	2	3	0	5	7,8

Tableau XIV: Mode d'approvisionnement en antibiotiques

Localités enquêtées Paramètres	Distribution					Effectif	Proportion (%)
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon		
Approvisionnement suite à une prescription							
Non	2	2	4	11	6	25	14,5
Oui	21	18	18	55	35	147	85,5
Origine des antibiotiques							
Marché à bétail	1	1	1	3	3	9	5,2
Marché à bétail-vendeur ambulante	0	0	0	0	1	1	0,6
Pharmacie vétérinaire	22	14	19	59	26	140	81,4
Pharmacie vétérinaire-marché à bétail	0	5	2	4	10	21	12,2
Pharmacie vétérinaire-marché à bétail-vendeur ambulante	0	0	0	0	1	1	0,6
Conseil vétérinaire							
Jamais	4	1	7	18	14	44	25,6
Parfois	8	12	7	26	19	72	41,9
Toujours	11	7	8	22	8	56	32,6

1.6. Antibiothérapie

Au niveau de la pratique de l'antibiothérapie, la plupart des bouviers (45,9%) ont estimé par moment le poids des animaux avant de leurs administrer les différentes doses d'antibiotiques, certains (19,2%) par contre ne l'estiment jamais. La majorité (60,5%) ont pratiqué l'automédication. Cependant, environ 86,1% ont répondu qu'ils respectent la durée d'administration, la posologie, et la fréquence d'administration de l'antibiotique et qu'ils arrêtent les différents traitements lorsqu'ils observent une amélioration clinique et une guérison clinique (41,3%) de l'animal. De plus face à un animal malade 55,2% des bouviers mettent systématiquement un traitement antibiotique en place (**Tableau XV**).

1.7. Principales familles d'antibiotiques

La tétracycline a été l'antibiotique la plus utilisée par les bouviers au cours de cette enquête avec une proportion de 80,4%, suivie des macrolides (49,4%), des bêta-aminoglycosides (31,4%) et les sulfamides (21,5%). Cependant, les bêta-lactamines, les polypeptides et les quinolones ont été observés avec des taux moindre (**Figure 11**).

1.8. Relation entre l'utilisation de la tétracycline et les caractéristiques des enquêtés

Les résultats des analyses de régression logistiques multivariées ont montré que seule la variable « expérience professionnelle » est associée à la forte utilisation de la tétracycline observée dans cette étude (**Tableau XVI**). Les bouviers ayant une expérience professionnelle comprise entre 15 et 20 ans (OR=8.013 ; IC95% 1.388-66.953 ; $p=0.029$) et plus de 20 ans (OR=5.804 ; IC95% 1.356-26.742 ; $p=0.018$) ont augmenté significativement l'utilisation de la tétracycline dans les élevages. Ainsi, dans les élevages enquêtés l'utilisation de la tétracycline a été amplifiée par les bouviers ayant des expériences professionnelles de 15 à 20 ans et de plus de 20 ans (**Figure 12**).

Tableau XV: Pratique de l'antibiothérapie

Localités enquêtées Paramètres	Distribution					Effectif	Proportion (%)
	Abobo	Adjamé	Bingerville	Port-Bouët	Yopougon		
Estimation du poids avant administration							
Jamais	4	2	4	12	11	33	19,2
Parfois	11	12	5	29	22	79	45,9
Toujours	8	6	13	25	8	60	34,9
Assistance vétérinaire avant administration							
Non	14	6	10	42	32	104	60,5
Oui	9	14	12	24	9	68	39,5
Suivie de la prescription							
Non	1	1	4	12	6	24	14
Oui	22	19	18	54	35	148	86
Critère d'arrêt du traitement							
Amélioration	4	0	2	7	4	17	9,9
Amélioration-durée indiquée	0	1	1	1	1	4	2,3
Amélioration-guérison	9	7	10	24	21	71	41,3
Amélioration-guérison - durée indiquée	1	3	1	4	3	12	7
Durée indiquée	3	2	0	5	1	11	6,4
Guérison	6	4	8	20	10	48	27,9
Guérison -durée indiquée	0	3	0	5	1	9	5,2
Attitude face à un animal malade							
Traitement antibiotique	12	11	12	37	23	95	55,2
Traitement antibiotique-autre attitude	1	0	0	4	5	10	5,8
Autre attitude	0	0	0	1	5	6	3,5
Appel du vétérinaire	7	3	0	11	1	22	12,8
Traitement antibiotique-appel du vétérinaire	3	2	9	11	3	28	16,3
Traitement antibiotique-appel du vétérinaire-autre attitude	0	1	0	1	2	4	2,3
Appel du vétérinaire-autre attitude	0	3	1	1	2	7	4,1

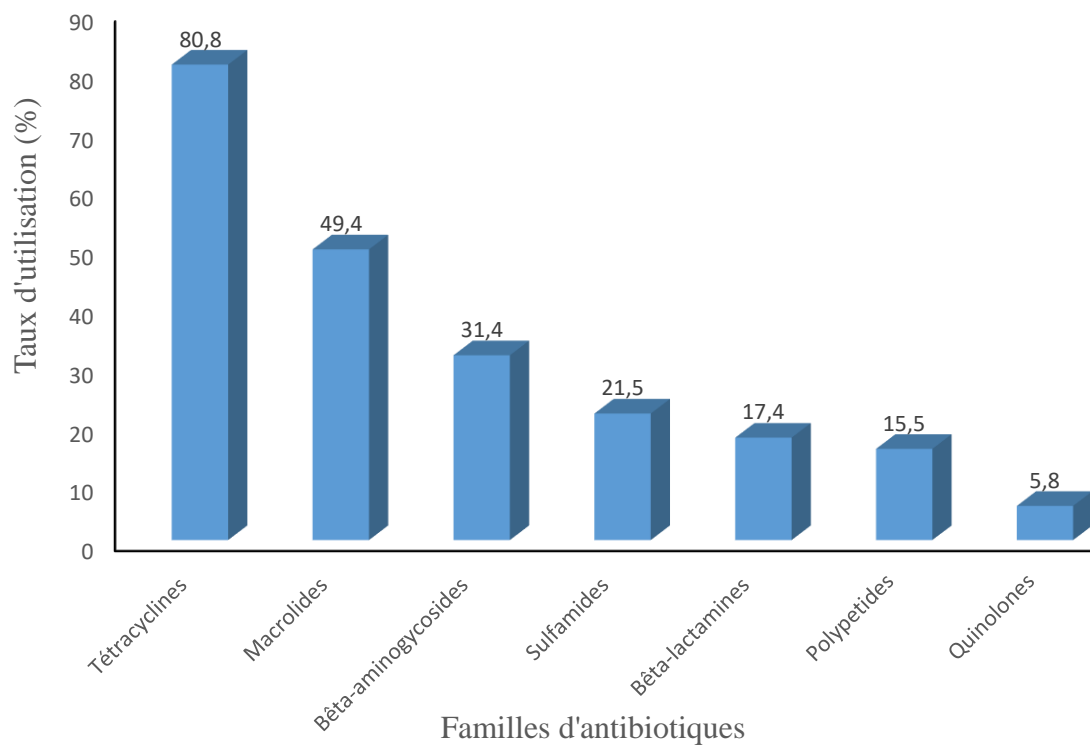


Figure 11: Principales familles d'antibiotiques utilisées par les éleveurs

Tableau XVI: Analyse de régression logistique multivariée de variables indépendantes associées à l'utilisation de la tétracycline

Variabes	Modalités	OR	IC 95 % OR	p
Site d'étude		2,583	0,314-24,706	0,389
	Adjamé	1,516	0,230-10,675	0,662
	Bingerville	0,809	0,116-5,459	0,826
	Port-Bouët	1,506	0,290-7,180	0,611
	Yopougon	0,612	0,107-3,088	0,561
Activité principale	Vendeur	0,592	0,135-2,654	0,483
Nationalité	Ivoirienne	1,222	0,253-7,063	0,809
	Guinéenne	0,384	0,065-2,514	0,293
	Malienne	0,916	0,342-2,483	0,862
Niveau d'étude	Non-scolarisé	0,951	0,180-4,248	0,949
	Primaire	5,137	0,645-53,949	0,134
Formation qualifiante	Oui	0,314	0,026-3,709	0,340
Formation diplômante	Oui	0,307	0,006-11,177	0,489
Propriétaire	Oui	0,403	0,140-1,170	0,089.
Nombre d'années Expérience professionnelle	Entre 5 et 10 ans	2,542	0,209-88,687	0,513
	Entre 10 et 15 ans	1,524	0,430-5,050	0,496
	Entre 15 et 20 ans	8,013	1,388-66,953	0,029*
	Plus de 20 ans	5,804	1,356-26,742	0,018*

OR: Odds-ratio

IC : Intervalle de confiance

* : $P < 0,05$ considéré comme statistiquement significatif

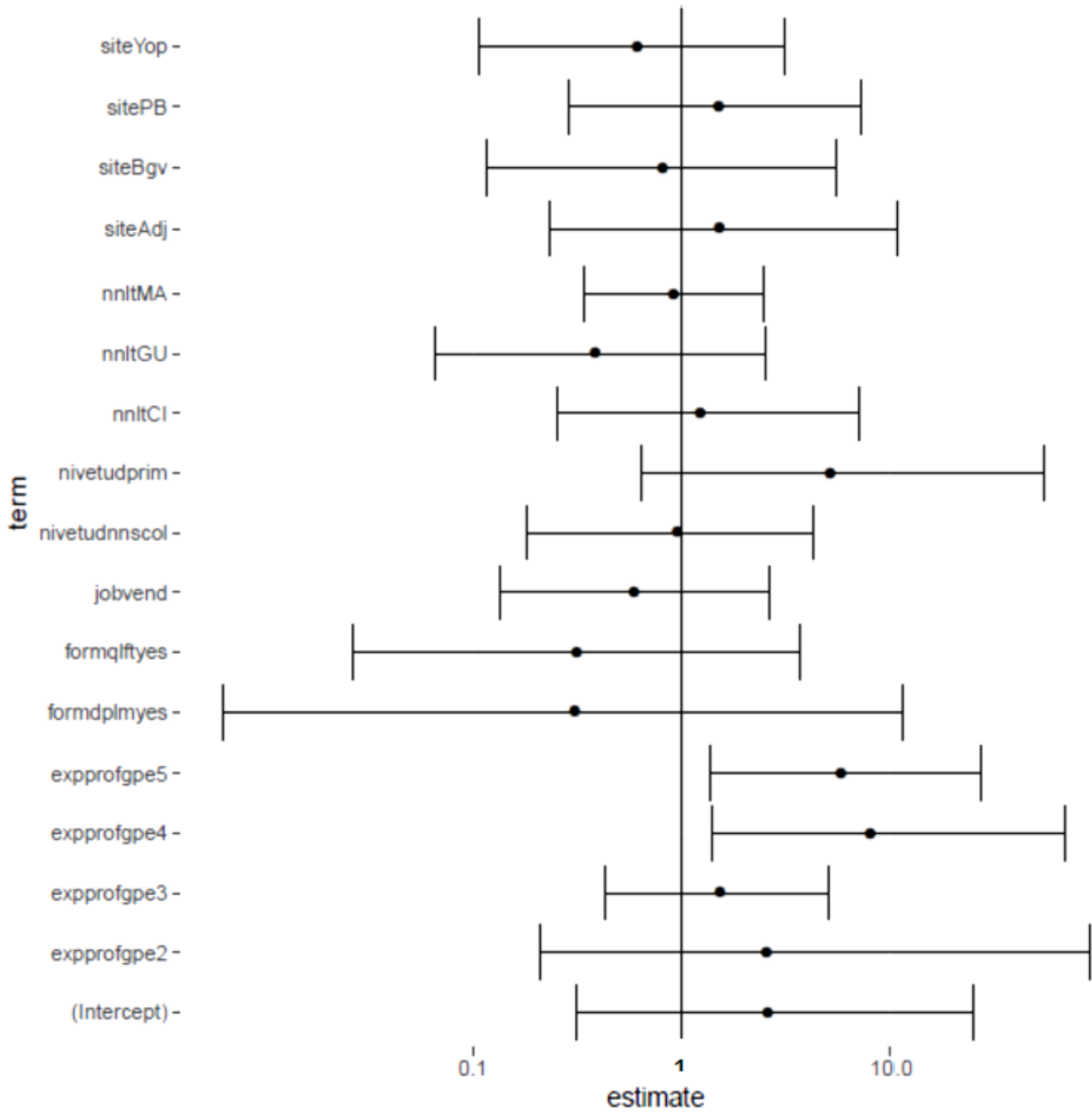


Figure 12: Effet des différentes variables indépendantes associées à l'utilisation de la tétracycline dans les élevages

Site Yop= Site Yopougon ; **Site PB**= site Port-Bouët ; **SiteBgv**= Site Bingerville ; **SiteAdj**= Site Adjamé ; **nntMA**= nationalité Malienne ; **nntGU**=nationalité Guinéenne ; **nntCI**= nationalité Ivoirienne ; **nivtudprim**= niveau d' étude primaire ; **nivtudnnscol**= niveau d'étude non scolarisé ; **jobvend**= vendeur ; **formqftyes**= formation qualifiant (oui) ; **formdplmyes**= formation diplômante (oui) ; **expprofgpe5**=expérience professionnelle de plus de 20 ans ; **expprofgpe4**= expérience professionnelle de 15 à 20 ans ; **expprofgpe3**=expérience professionnelle de 10 à 15 ans ; **expprofgpe2**= expérience professionnelle de 5 à 10 ans.

2. Isolement et identification des souches de *Salmonella* et *Escherichia coli*

2.1. Fréquence d'isolement des souches de *Salmonella* et de *Escherichia coli*

L'utilisation de l'automate MALDI-TOF (Vitek MS) a permis une confirmation effective des souches de *Salmonella* et de *E. coli* identifiées dans les bouses de bovins. Ainsi, sur un total de 420 échantillons de bouses de bovin prélevés puis analysés, 84 souches de *Salmonella* soit une prévalence de 20% et 85 souches de *E. coli* résistantes soit une prévalence de 20,2% ont été isolées. Ces souches de *Salmonella* et de *E. coli* résistantes ont été isolées respectivement sur les milieux Hektoen et Rapid *E. coli* 2+ d'antibiotique (ceftazidime) (**Figure 13**).

La proportion des souches de *Salmonella* et de *E. coli* résistantes à la ceftazidime isolées a variée en fonction des communes. Une différence significative ($P < 0,05$) a été observé entre les différentes proportions de ces souches obtenues dans les différentes communes. Ainsi, les proportions des souches de *Salmonella* ont été plus élevées dans les communes de Port-Bouët (9,8%) et d'Adjamé (7%). Par contre, elles ont été de 1,2%, 1% et 1% dans les communes d'Abobo, de Yopougon et de Bingerville respectivement. Quant à la proportion des souches de *E. coli* résistantes à la ceftazidime, elle a été plus élevée dans la commune d'Abobo (7,4%) que dans les autres communes. La proportion des autres communes a varié entre 2,9 à 3,6% (**Figure 14**).

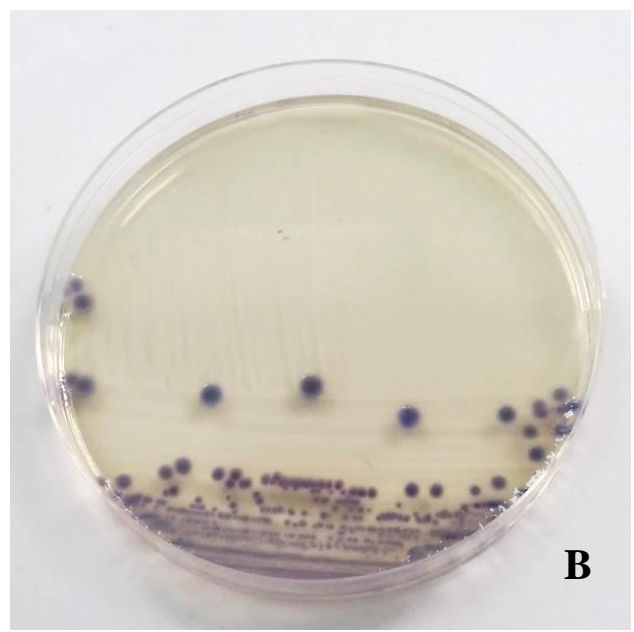
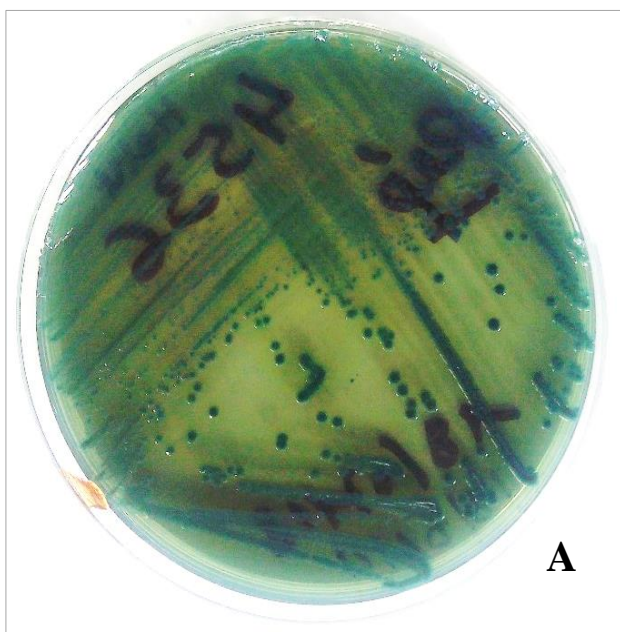


Figure 13: Colonies suspectes de *Salmonella* et de *E. coli* sur des milieux spécifiques

A : colonies de *Salmonella* sur gélose Hektoen

B : colonies de *E. coli* résistantes à la ceftazidime sur le milieu Rapid *E. coli* 2 + ceftazidime (2mg/L)

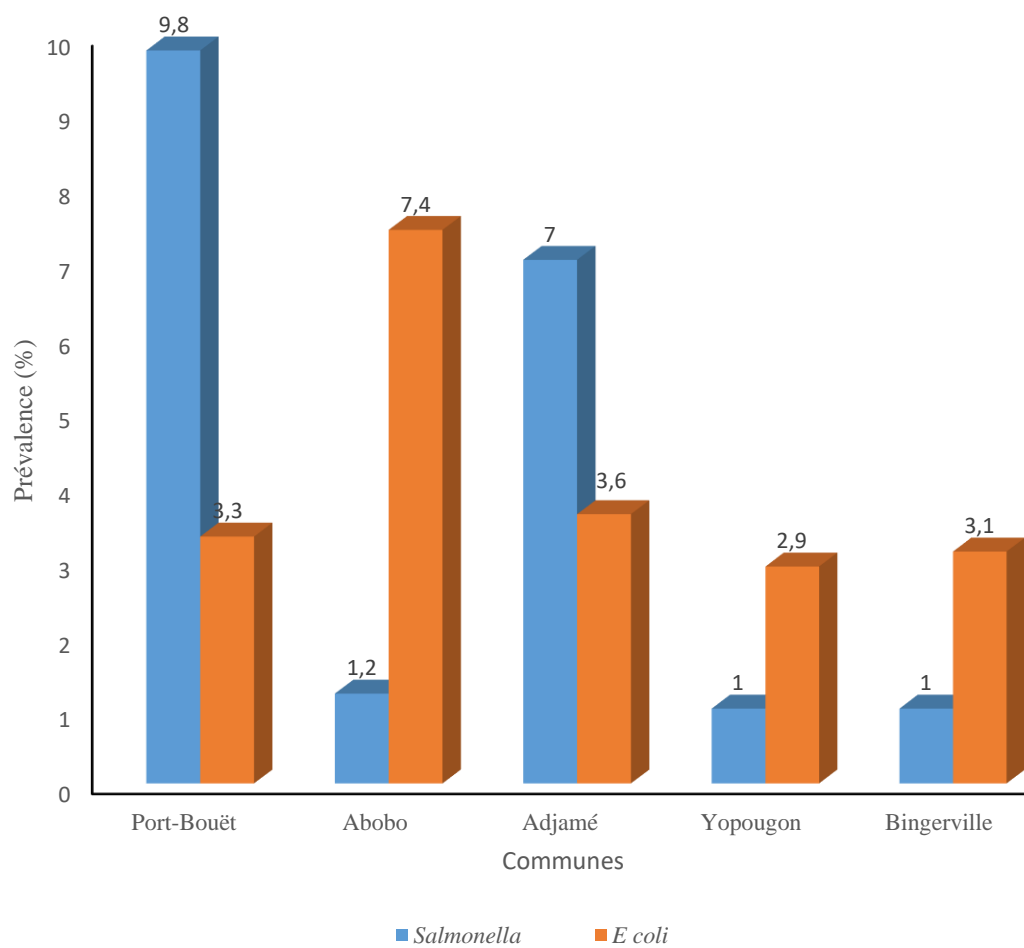


Figure 14: Prévalence des souches de *Salmonella* et de *E. coli* en fonction de la commune

2.2. Répartition des souches selon l'aspect des bouses

Les souches de *Salmonella* et de *E. coli* sont détectées dans les fèces diarrhéiques avec des prévalences respectives de 44,1% et 36,5%. Cependant, dans les fèces non-diarrhéiques, les prévalences obtenues ont été de 63,5% pour les souches de *E. coli* et 55,9% pour les souches de *Salmonella*.

La plus forte prévalence de *Salmonella* dans les fèces diarrhéiques est obtenue dans la commune de Port-Bouët (46%) suivie de celle d'Adjamé (40,6%). Dans les fèces non diarrhéiques des fréquences élevées des souches de *Salmonella* sont observées dans la commune de Port-Bouët (51,1%) suivie de celle d'Adjamé (31,9%). Concernant les souches de *E. coli* résistantes à la ceftazidime, des fréquences élevées ont été déterminées dans les fèces diarrhéiques dans les communes d'Adjamé (35,5%) et d'Abobo (22,6%). Aussi, la prévalence la plus élevée de souches de *E. coli* résistantes dans les fèces non diarrhéiques est obtenue dans la commune d'Abobo (46,3%). Des prévalences moindres de 16,7%, 7,4%, 16,7% et de 13% ont été obtenues respectivement dans les communes de Port-Bouët, Adjamé, Yopougon et de Bingerville (**Figure 15**).

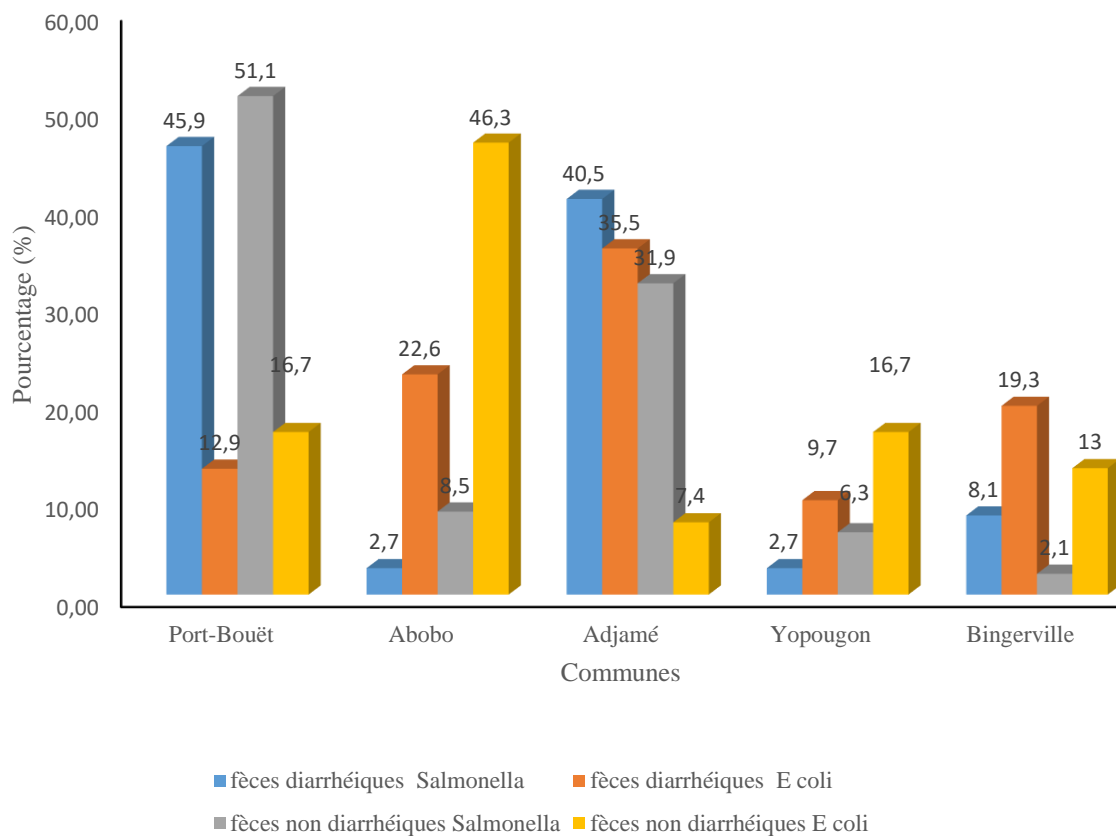


Figure 15 : Distribution des souches de *Salmonella* et de *E. coli* selon l'aspect des bouses en fonction des communes

2.3. Sérotypes des souches de *Salmonella* et de *Escherichia coli* isolées dans les bouses

2.3.1. Sérotypes des souches de *Salmonella*

Le test d'agglutination effectué à l'aide des immuns sérums (Ag O, H et Vi) sur l'ensemble des souches de *Salmonella* a révélé 50 sérotypes différents. Sur l'ensemble des 84 souches de *Salmonella* utilisées pour le test, 100% ont été positives aux tests d'agglutination. Les fréquences de détection des différents sérotypes dans les localités de Port-Bouët, Adjamé, Abobo, Yopougon et de Bingerville ont été respectivement de 48,8%, 35,7%, 6,0%, 4,8% et 4,8%.

Parmi les 50 sérotypes détectés, *Salmonella II* a été le sérotype le plus détecté dans cette étude, avec une fréquence de 13,1% (11/84). Les autres sérotypes ont été détectés avec des fréquences moins élevées allant de 8,3% à 1,2% (**Tableau XVII**).

2.3.2. Sérotypes des souches de *Escherichia coli*

Le sérotypage a été réalisé sur l'ensemble de 85 souches de *E. coli* résistantes isolées. Cependant, 78 souches, soit 91,8% ont été positives aux tests d'agglutinations.

Les fréquences de détection de l'ensemble des sérogroupe des localités de Port-Bouët, Adjamé, Abobo, Yopougon et de Bingerville ont été respectivement de 14,1%, 16,5%, 34,1%, 14,1% et 12,9%.

Le sérogroupe O127 a été le plus détecté au cours de cette étude avec une fréquence de 12,9%. Le nombre de souche de *E. coli* O127 (n=5) a été plus élevé dans la commune d'Abobo que dans les autres communes (**Tableau XVIII**).

Tableau XVII : Répartition des sérotypes de *Salmonella* selon les communes

Sérotypes	Port-Bouët	Adjamé	Abobo	Yopougon	Bingerville	Fréquence (N%)
Virchow	2	0	0	0	0	2 (2,4%)
Muguga	2	0	0	0	0	2 (2,4%)
IIIa	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Agbeni	4	0	3	0	0	7 (8,3%)
Enteritidis	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Neumenster	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
II	7	1	1	1	1	11 (13,1%)
Othmerschen	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Brikama	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Durcham	2	0	0	0	0	2 (2,4%)
Catanzaro	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Parkroyal	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Senftenberg	1	1	0	0	0	2 (2,4%)
Schwarzengrund	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
kambole	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Umbadah	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Dessau	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Tudu	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Gustavia	1	1	0	0	0	2 (2,4%)
Canton	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Muenster	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Salford	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Potsdam	1	0	0	1	0	2 (2,4%)
Fufu	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
budapest	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Urbana	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Wichita	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Torhout	1	0	0	0	0	1 (1,2%)
Baguirmi	1	1	0	0	0	2 (2,4%)
Africana	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Kedougou	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Dublin	0	3	0	0	0	3 (3,6%)
Alfort	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
hohentwiel	0	6	0	1	0	7 (8,3%)
Clerkenwell	0	2	0	0	0	2 (2,4%)
Kisangani	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Bradford	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Shubra	0	2	0	0	0	2 (2,4%)
Chicago	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Erfurt	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Scarborough	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Schleissheim	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Langensalza	0	2	0	0	0	2 (2,4%)
Preston	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Wuiti	0	1	0	0	0	1 (1,2%)
Bron	0	0	1	0	0	1 (1,2%)
Typhi	0	0	0	1	0	1 (1,2%)
Bochum	0	0	0	0	1	1 (1,2%)
Atakpame	0	0	0	0	1	1 (1,2%)
Chomedey	0	0	0	0	1	1 (1,2%)
Total (N%)	41(48,8)	30(35,7)	5(6,0)	4(4,8)	4(4,8)	84 (100%)

Tableau XVIII : Répartition des sérogroupes des souches de *E. coli* selon les communes

Sérogroupe	Abobo	Adjamé	Yopougon	Bingerville	Port-Bouët	Fréquence (N%)
O26	3	2	0	2	1	8(9,4)
O55	3	2	2	1	1	9(10,6)
O86	3	0	0	0	1	4(4,7)
O111	3	1	1	1	2	8(9,4)
O114	3	0	2	0	1	6(7,1)
O119	3	3	0	1	0	7(8,2)
O124	0	2	0	0	0	2(2,4)
O125	0	0	1	0	2	3(3,5)
O126	2	0	1	1	0	4(4,7)
O127	5	3	1	2	0	11(12,9)
O128	3	0	0	1	3	7(8,2)
O142	1	1	2	2	1	7(8,2)
O157	0	0	2	0	0	2(2,4)
Total (N%)	29(34,1)	14(16,5)	12(14,1)	11(12,9)	12(14,1)	78(91,8)

3. Profil de résistance

3.1. Profil de résistance aux antibiotiques des souches de *Salmonella* et de *Escherichia coli*

3.1.1. Profil de résistance des souches de *Salmonella*

Il ressort dans l'ensemble un faible niveau de résistance aux bêtalactamines. Cependant, les taux de résistance les plus élevés ont été observés à la céfalotine (6%), à l'ampicilline (2,4%) et au céfuroxime (2,4%).

Quant aux quinolones, il a également été observé dans l'ensemble un faible niveau de résistance principalement à l'acide nalidixique (3,6%), à la ciprofloxacine (3,6%) et la norfloxacine (3,6%).

Concernant le niveau de résistance aux cyclines, aux aminosides, aux polypeptides, aux sulfamides et aux phénicol, il ressort que le taux de résistance a été plus élevé aux polypeptides suivis des cyclines, notamment à la colistine (33,3%), la tétracycline (20,2%) et à la minocycline (20,2%). Quant aux aminosides et aux sulfamides, de faibles taux de résistances ont été observés à la gentamicine (1,2%), à la tobramycine (3,6%) et à la triméthopime / sulfaméthoxazole (6%). Cependant, aucune résistance n'a été observée à la céfoxitine, à l'imipenème, à l'amikacine et au chloramphénicol (**Tableau XIX**).

Tableau XIX : Résistance des souches de *Salmonella* aux antibiotiques

Famille d'Antibiotique	Taux de résistance (%)
	R (n=84)
Bêtalactamines	
AMP	2,4
AMC	1,2
CEF	6
CXM	2,4
FOX	0
CRO	1,2
CAZ	1,2
FEP	1,2
ATM	1,2
IMP	0
Quinolones	
NAL	3,6
CIP	3,6
NOR	3,6
Cyclines	
TET	20,2
MNO	20,2
Aminosides	
AKN	0
TMN	3,6
GEN	1,2
Polymyxines	
CST	33,3
Phénicols	
CHL	0
Sulfamides	
SXT	6

AMP= Ampicilline ; AMC=Amoxicilline + acide clavulanique ; CEF= céfalotine ; CXM=céfuroxime ; FOX= céfoxitine ; CRO= ceftriaxone ; CAZ= ceftazidime ; FEP= Céfépime ; ATM= aztréonam ; IMP= imipenème ; NAL= acide nalidixique ; CIP= ciprofloxacine ; NOR= norfloxacine ; TET=tétracycline ; MNO=minocycline ; AKN=amikacine ; TMN=tobramycine ; GEN=gentamycine ; CST=colistine ; CHL=chloramphénicol ; SXT=Triméthoprim/sulfaméthoxazole.

R= résistant

3.1.2. Profil de résistance des souches de *Escherichia coli* résistantes à la ceftazidime

Les résultats ont montré un niveau de résistance très élevé aux bêta-lactamines. Ils ont été de 92,9% à l'ampicilline, 96,5% à la céfalotine, 95,3% à l'aztréonam, 85,9% à la céfuroxime, 89,4% à la ceftriaxone, 84,7% à la ceftazidime, 87,1% à la céfépime et 61,2% à l'amoxicilline+acide clavulanique. Cependant, un taux de résistance relativement bas a été observé à la céfoxitine (31,8%).

Aussi, un bas niveau de résistance a-t-il été observé aux quinolones avec des taux compris entre 16,5% et 17,6%.

Concernant le niveau de résistance aux cyclines, aux polypeptides, des sulfamides et aux phénicolés, une résistance très élevée a été observée à la tétracycline (97,6%), à la minocycline (69,4%), à la colistine (58,8%) et au triméthoprim/sulfaméthoxazole (69,4%). Toutefois, des taux de résistance moins élevés ont été observés aux aminosides et aux phénicolés notamment à la gentamicine (34,1%), à la tobramycine (22,4%), l'amikacine (10,6%) et au chloramphénicol (7,1%). Cependant, aucune résistance n'a été observée avec l'imipénème (**Tableau XX**).

Tableau XX : Résistance des souches d'*E. coli* aux antibiotiques

	Taux de résistances (%)
Famille d'Antibiotique	R (n=85)
Bêtalactamines	
AMP	92,9
AMC	61,2
CEF	96,5
CXM	85,9
FOX	31,8
CRO	89,4
CAZ	84,7
FEP	87,1
ATM	95,3
IMP	0
Quinolones	
NAL	17,6
CIP	17,6
NOR	16,5
Cyclines	
TET	97,6
MNO	69,4
Aminosides	
AKN	10,6
TMN	22,4
GEN	34,1
Polymyxines	
CST	58,8
Phénicols	
CHL	7,1
Sulfamides	
SXT	69,4

AMP= Ampicilline ; AMC=Amoxicilline + acide clavulanique ; CEF= céfalotine ; CXM=céfuroxime ; FOX= céfoxitine ; CRO= ceftriaxone ; CAZ= ceftazidime ; FEP= Céfépime ; ATM= aztréonam ; IMP= imipénème ; NAL= acide nalidixique ; CIP= ciprofloxacine ; NOR= norfloxacine ; TET=tétracycline ; MNO=minocycline ; AKN=amikacine ; TMN=tobramycine ; GEN=gentamycine ; CST=colistine ; CHL=chloramphénicol ; SXT=Triméthoprim/sulfaméthoxazole.

R= résistant

3.2. Détection des souches de *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE)

Sur les 85 souches de *E. coli* isolées des selles de bovin, 45 ont été catégorisées BLSE sur la base de la détection de la production de bêta-lactamase à spectre élargi. Ces résultats ont été confirmés par des tests de double synergie avec la présence du bouchon de champagne » entre le disque contenant l'amoxicilline + l'acide clavulanique (AMC) et au moins une céphalosporine de troisième génération (C3G) (**Figure 16**).

La fréquence des souches de *E. coli* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) dans cette étude a été de 52,9%.

Les souches de *E. coli* BLSE détectées ont été réparties selon les différentes communes du district d'Abidjan. Ainsi, les taux de détection les plus élevés ont été observés dans les communes d'Abobo (46, 7%) et d'Adjamé (20%) (**Figure 17**).

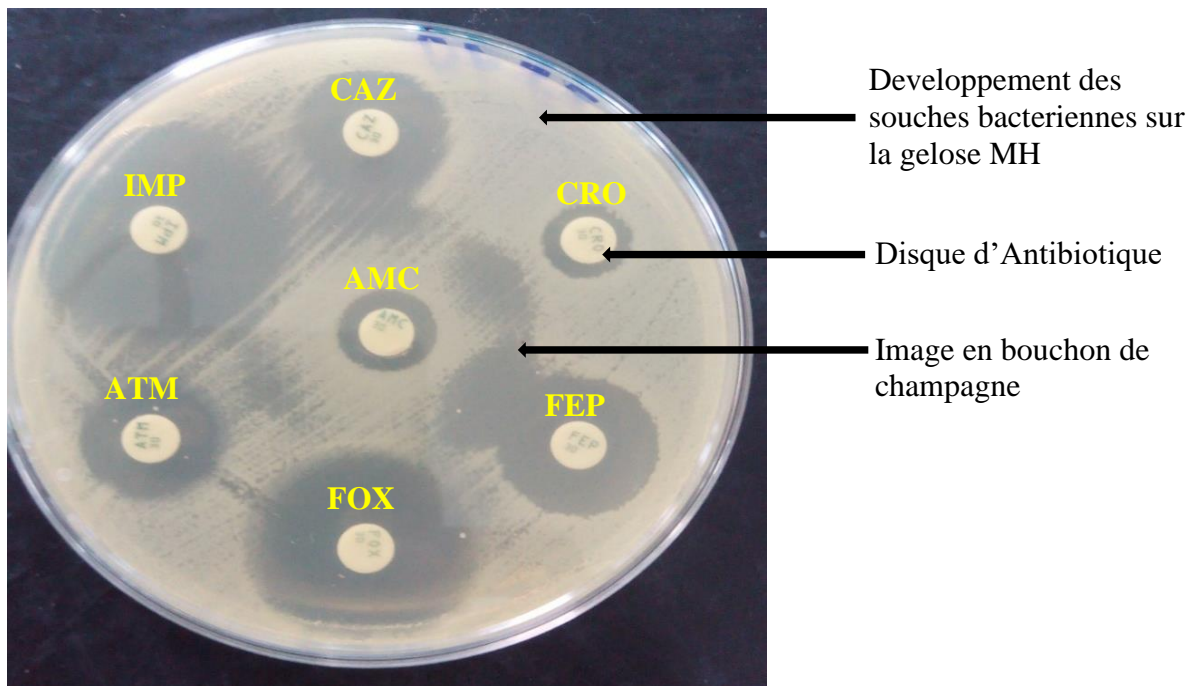


Figure 16 : Test de double synergie (Yao, 2017)

AMC=amoxicilline + acide clavulanique ; FOX= céfoxitine ; CRO= ceftriaxone ; CAZ= ceftazidime ; FEP= céfépime ; ATM= aztréonam ; IMP= Imipènème.
 MH= Müller-Hinton

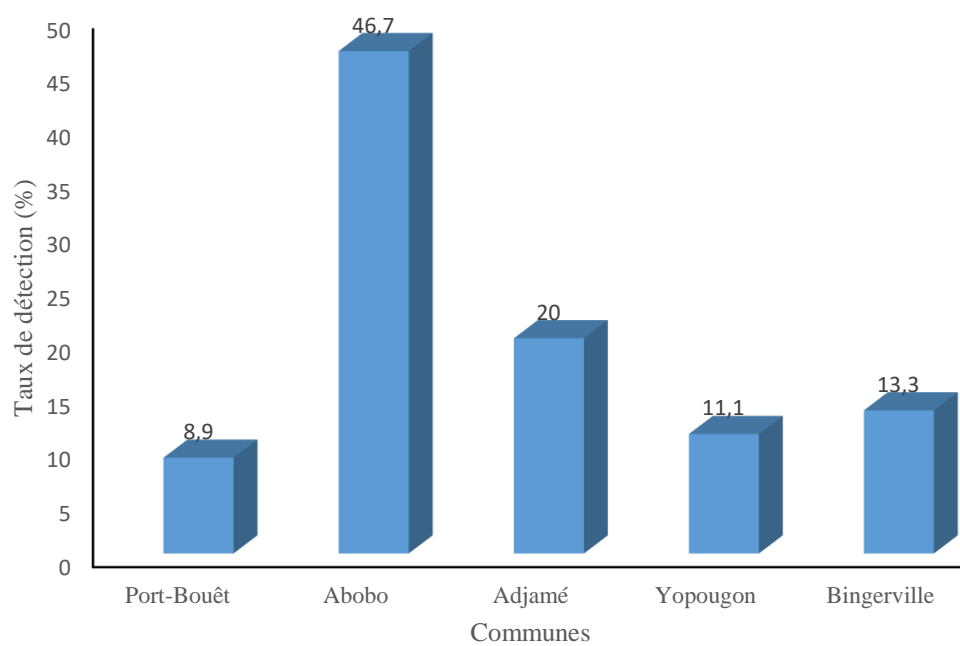


Figure 17 : Répartition des souches de *E. coli* BLSE selon les communes

4. Caractérisation moléculaire des souches *Salmonella* et *Escherichia coli* isolées

4.1. Caractérisation moléculaire de la résistance aux antibiotiques

Toutes les souches de *Salmonella* résistantes à au moins un antibiotique (26 souches) et toutes les souches de *E. coli* BLSE résistants aux quinolones (15 souches) ont été sélectionnées pour la recherche des gènes de résistance aux antibiotiques.

4.1.1. Gènes de résistance aux bêta-lactamines détectés

L'analyse des gels après l'électrophorèse a montré la présence de bandes de fragments d'ADN avec des tailles de 544 pb, de 1051 pb et de 964 pb correspondant respectivement aux gènes *bla*_{CTX}, *bla*_{SHV} et *bla*_{TEM} détectés (**Figure 18**).

Sur les 26 souches de *Salmonella* testées, aucun gène *bla*_{CTX} n'a été détecté, tandis que sur 15 souches de *E. coli* BLSE testées 11 souches ont montré la présence du gène *bla*_{CTX-M} soit une fréquence de 73,3%.

Le gène *bla*_{SHV} a été détecté chez 10 souches de *E. coli* BLSE, soit 66,7%, tandis que chez les souches de *Salmonella* seulement 2 souches ont montré la présence du gène *bla*_{SHV} soit 7,7%.

Quant au gène *bla*_{TEM}, il a été détecté dans l'ensemble des 15 souches de *E. coli* BLSE testées, soit 100% alors que chez les souches de *Salmonella* 15 souches ont montré la présence du gène *bla*_{TEM} avec une fréquence de 57,7%. Les taux des différents gènes de résistance aux bêtalactamines sont consignés dans le (**Tableau XXI**).

En ce qui concerne la co-expression des trois gènes *bla*_{CTX}, *bla*_{SHV} et *bla*_{TEM}, l'analyse des profils électrophorétiques a montré la présence de plusieurs types de gènes *bla* exprimés chez les souches de *Salmonella* et *E. coli* BLSE. Ces gènes ont été retrouvés de façon isolée ou en association. De façon isolée, les proportions de ces gènes ont été de 50% et 20% respectivement chez les souches de *Salmonella* et de *E. coli* BLSE. L'associations *bla*_{SHV}/*bla*_{TEM} a été retrouvée à la fois chez les souches de *Salmonella* et *E. coli* BLSE avec des proportions respectives de 7,7% et 6,7%. Les associations de gènes *bla*_{CTX-M}/*bla*_{SHV}/*bla*_{TEM} et *bla*_{CTX-M}/*bla*_{TEM} ont été détectées uniquement chez les souches de *E. coli* BLSE (**Tableau XXII**).

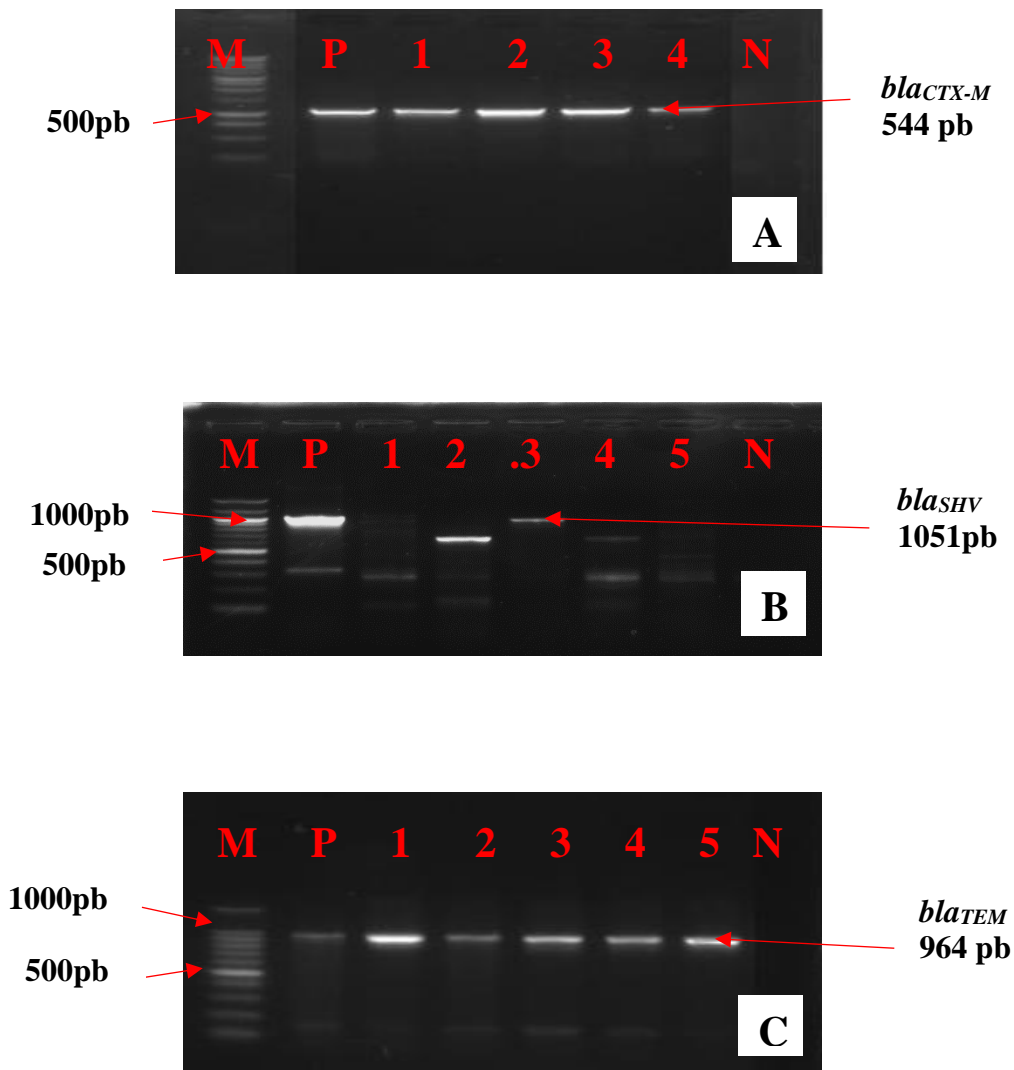


Figure 18 : Profil électrophorétique des gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} et *bla*_{TEM}

A : detection des *bla*_{CTX-M} (544 pb); B : detection des *bla*_{SHV} (1051pb) ; detection des *bla*_{TEM} (964 pb) ; M : marqueur de poids moléculaire (100 à 2000 pb) ; P : témoin positif ; Numéro 1 à 5 : souches bactériennes ; N : témoin négatif

Tableau XXI : Taux de détection des gènes de résistance aux bêtalactamines

	Nombre / fréquence (%)		
	Gènes <i>bla</i>		
Souches	<i>CTX-M</i>	<i>SHV</i>	<i>TEM</i>
<i>Salmonella</i> (N =26)	0 (0%)	2 (7,7%)	15 (57,7%)
<i>E. coli</i> (N =15)	11 (73,3%)	10 (66,7%)	15 (100%)

CTX-M : céfotaximase-Munich ; *SHV* : sulfhydryl variable ; *TEM* : temoneira ; N : nombre de souches.

Tableau XXII : Profils génotypiques des gènes de résistance aux bêta-lactamines

Profils de souches	Génotypes	Nombre/ Fréquence (%)
<i>Salmonella</i>	<i>bla_{TEM}</i>	13 (50)
<i>E. coli</i>	<i>bla_{TEM}</i>	3 (20)
<i>Salmonella</i>	<i>bla_{SHV}/ bla_{TEM}</i>	2 (7,7)
<i>E. coli</i>	<i>bla_{SHV}/ bla_{TEM}</i>	1 (6,7)
<i>E. coli</i>	<i>bla_{CTX-M}/ bla_{TEM}</i>	2 (13,3)
<i>E. coli</i>	<i>bla_{CTX-M}/ bla_{SHV}/ bla_{TEM}</i>	9 (60)

4.1.2. Gènes de résistance aux quinolones détectés

L'analyse des profils électrophorétiques a montré des bandes avec des tailles de 492 pb, 264 pb et 466 pb correspondant respectivement aux gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS* (**Figure 19**).

Le gène *qnrA* a été détecté uniquement chez les souches de *E. coli* BLSE avec une fréquence de 100%. Concernant le gène *qnrB*, des fréquences de 30,8% et 93,3% ont été détectées respectivement chez les souches de *Salmonella* et de *E. coli* BLSE. La présence du gène *qnrS* a été révélée chez les souches de *Salmonella* et de *E. coli* avec des proportions respectives de 7,7% et 60% (**Tableau XXIII**).

L'analyse des profils génotypiques a montré la présence de trois types de gènes *qnr* exprimés. Ces gènes ont été retrouvés de façon isolée ou en association. De façon individuelle, les fréquences de ces gènes ont été de 6,7% (*qnrA*) et 23,1% (*qnrB*) respectivement chez les souches de *E. coli* BLSE et de *Salmonella*. L'association *qnrB* / *qnrS* a été retrouvée uniquement chez les souches de *Salmonella*. Les associations *qnrA* / *qnrB* / *qnrS* et *qnrA* / *qnrB* ont été retrouvés uniquement chez les souches de *E. coli* BLSE avec des fréquences de 66,7% et 26,7% (**Tableau XXIV**).

4.1.3. Gènes de résistance aux cyclines détectés

L'analyse du profil a révélé la présence de bande avec une taille de 956 pb (**Figure 20**). Le gène *tetA* a été retrouvé chez certaines souches de *Salmonella* et de *E. coli* BLSE. Cependant, le gène *tetA* a été prédominant chez les souches de *E. coli* BLSE. En effet, ce gène a été isolé avec des fréquences de 7,7% et 66,7% respectivement chez les souches de *Salmonella* et de *E. coli* BLSE.

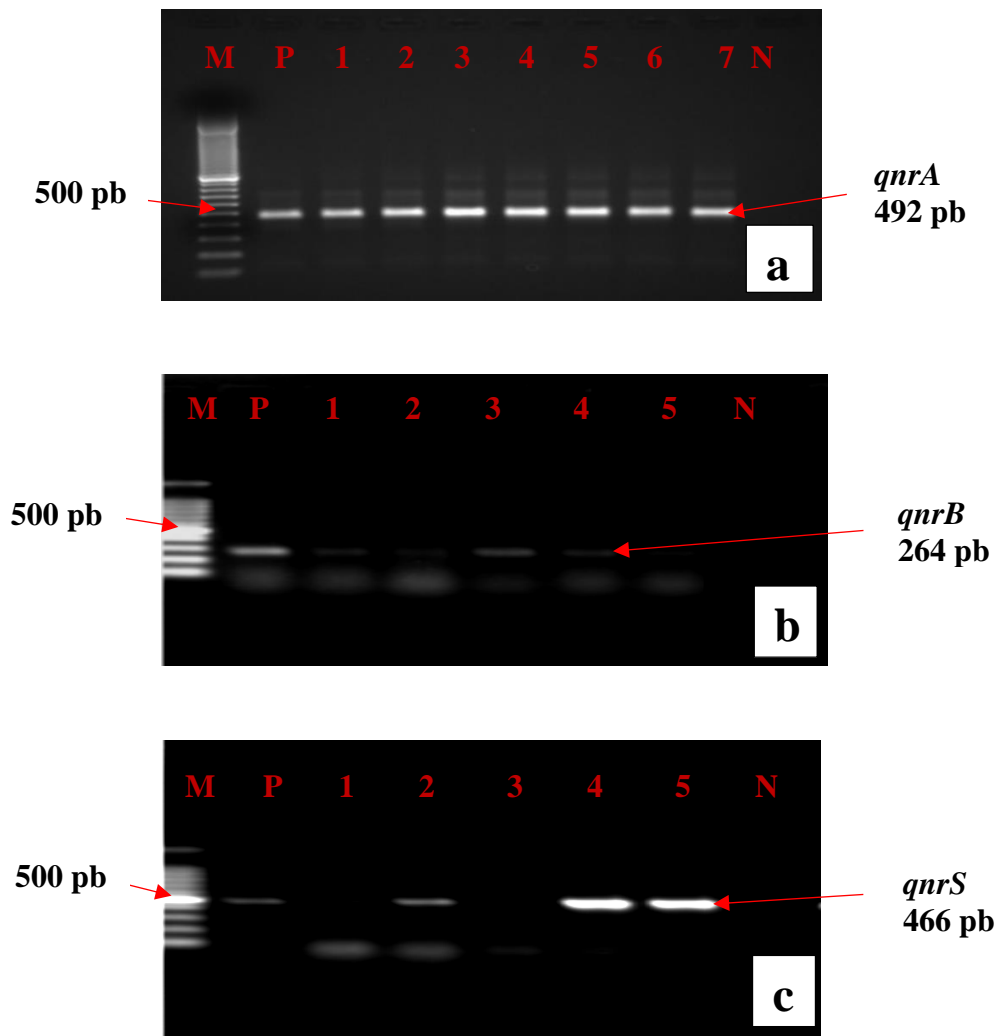


Figure 19 : Profil électrophorétique des gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS*

a : detection des *qnrA* (492 pb); b : detection des *qnrB* (264 pb) ; detection des *qnrS* (466 pb) ; M : marqueur de poids moléculaire (100 à 2000 pb) ; P : témoin positif ; Numéro 1 à 7 : souches bactériennes ; N : contrôle négatif

Tableau XXIII: Taux de détection des gènes de résistance aux quinolones

		Nombre /Fréquence (%)		
		<i>qnrA</i>	<i>qnrB</i>	<i>qnrS</i>
Gène <i>qnr</i>	Souches			
	<i>Salmonella</i> (N=26)	0 (0%)	8 (30,8%)	2 (7,7%)
	<i>E. coli</i> (N=15)	15 (100%)	14 (93,3%)	9 (60%)

Tableau XXIV: Profils génotypiques de la résistance aux quinolones

Profils des souches	Génotypiques	Nombre/ Fréquence (%)
<i>Salmonella</i>	<i>qnrB</i>	6 (23,1)
<i>Salmonella</i>	<i>qnrB/ qnrS</i>	2 (7,7)
<i>E. coli</i>	<i>qnrA/ qnrB/ qnrS</i>	10 (66,7)
<i>E. coli</i>	<i>qnrA/ qnrB</i>	4 (26,7)
<i>E. coli</i>	<i>qnrA</i>	1 (6,7)

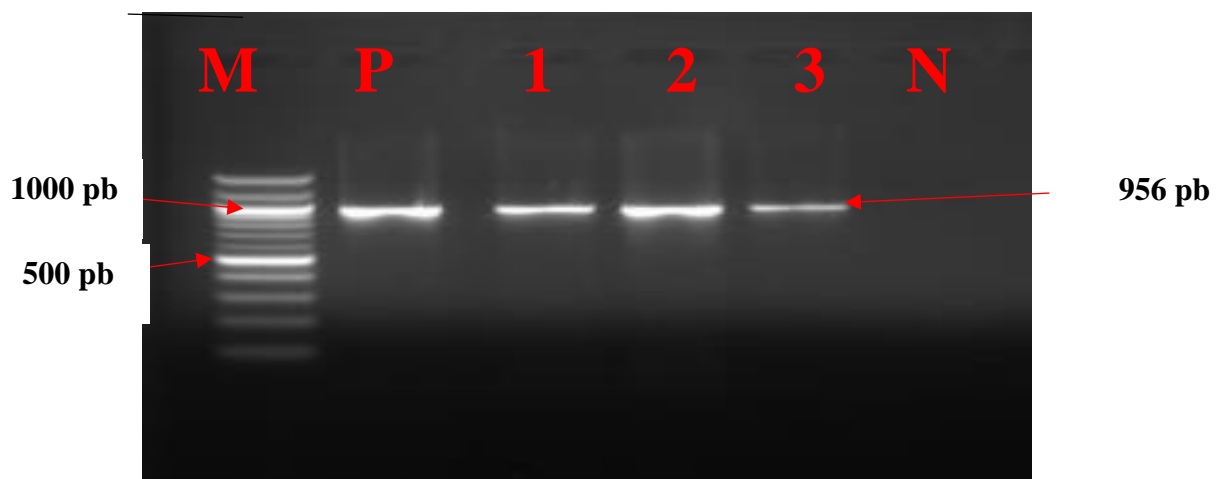


Figure 20: Profil électrophorétique du gène *tetA* de la résistance aux cyclines détectée

M : marqueur de poids moléculaire (100 à 2000 pb)

P : témoin positif

Numéro 1 à 3 : souches bactériennes

N : contrôle négatif

4.2. Caractérisation moléculaire de la pathogénicité

La recherche des gènes de virulences a été réalisée sur les 26 souches de *Salmonella* résistantes et 15 souches *E. coli* BLSE sélectionnées au préalable pour le typage moléculaire des marqueurs de résistance.

4.2.1. Gènes de virulence détectés chez les souches de *Salmonella*

Les souches de *Salmonella* ont été criblées pour 4 gènes de virulence (*invA*, *spvC*, *pefA* et *iroN*) en utilisant des PCR monoplexes (*iroN* et *pefA*) et multiplexes (*invA* et *spvC*). Le témoin positif possède simultanément les gènes *invA*, *spvC*, *pefA* et *iroN*. Ainsi, toutes les souches donnant des amplicons de taille 157pb, 244pb, 571pb et 1205pb correspondent respectivement à *pefA*, *invA*, *spvC* et *iroN* (**Figure 21**).

Les résultats indiquent qu'aucun gène *pefA* n'a été détecté. Cependant, toutes les souches de *Salmonella* (26 souches) ont été positives à au moins un des gènes de virulence. L'ensemble des 26 souches possédaient le gène *InvA* (100%). Seulement une souche possédait le gène *spvC* (3,8%). Environ, 14 souches analysées, soit 53,8% ont été positives pour le gène *iroN*.

La plus forte fréquence d'apparition de souches virulentes a été observée chez les souches isolées dans la commune de Port-Bouët avec une fréquence de 65,4%. Dans la commune d'Adjamé la fréquence de 26,9% a été observée. Les souches portant des gènes de virulence ont également été détectées dans les communes d'Abobo (3,8%) et de Bingerville (3,8%). Par contre la détection simultanée des gènes « *invA* » et « *iroN* » a été le plus observée dans la commune d'Adjamé avec une fréquence de 26,9% suivie de celle de la commune de Port-Bouët (19,2%). La commune d'Abobo a montré une faible fréquence (3,8%). Quant à la détection simultanée des gènes « *invA* », « *spvC* » et « *iroN* », elle a été observée uniquement chez les souches de *Salmonella* isolées dans la commune de Port-Bouët à une fréquence de 3,8% (**XXV**).

Dans l'ensemble, tous les sérotypes de *Salmonella* sont porteurs d'au moins un gène de virulence. Certains sérotypes portent uniquement le gène *invA* (12 sérotypes), d'autres par contre portent simultanément le gène *invA* + *spvC* (13 sérotypes). Le sérotype **schwarzengrund** quant à lui présente simultanément trois (3) gènes de virulence, il s'agit de *invA* + *spvC* + *iroN* (**Tableau XXVI**).

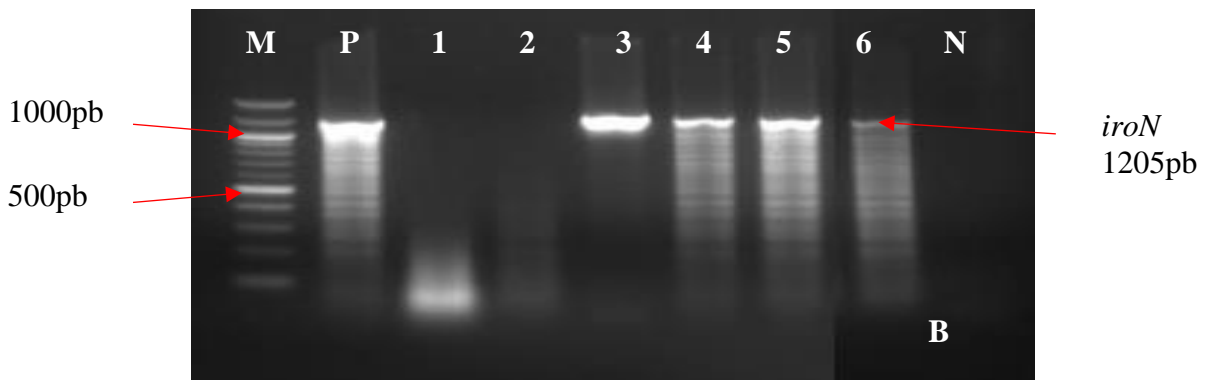
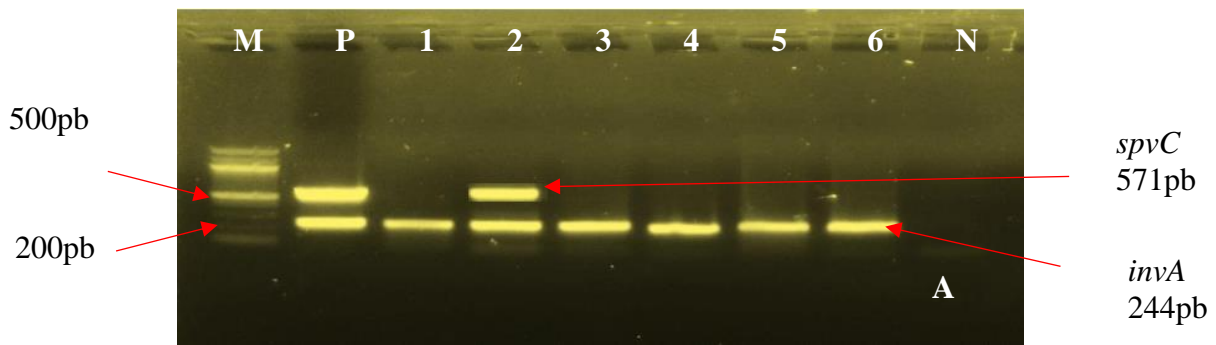


Figure 21: Profils électrophoretiques des gènes de virulence détectés chez *Salmonella*

A : détection des gènes *invA* et *spvC* par PCR multiplexe

B : détection du gène *iroN* par PCR simplexe

M : marqueur de poids moléculaire (100 à 2000 pb)

P : témoin positif (souche de *Salmonella* DT104)

N : témoin négatif (contient de l'eau ppi à la place de l'ADN bactérien).

Numéro 1 à 6 : souches bactériens

Tableau XXV: Prévalence des gènes de virulence en fonction des communes

		Nombre/Fréquence (N%)	
Origine	Gènes	Nombre/ fréquence de virulence par souches	Nombre/Fréquence de virulence par commune
Port-Bouët	<i>invA</i>	11 (42,3)	17 (65,4)
	<i>invA,iroN</i>	5 (19,2)	
	<i>InvA,spvC,iroN</i>	1 (3,8)	
Abobo	<i>invA,iroN</i>	1 (3,8)	1 (3,8)
Adjamé	<i>invA,iroN</i>	7 (26,9)	7 (26,9)
Bingerville	<i>invA</i>	1(3,8)	1(3,8)

Tableau XXVI: Gènes de virulence et sérotypes des différentes souches de salmonelles

Souches	Gènes	Sérotypes	Souches	Gènes	Sérotypes
E32S	<i>invA</i>	Virchow	E93S	<i>invA</i>	Muenster
E38S	<i>invA</i>	IIIa	E108S	<i>invA,iroN</i>	Fufu
E44S	<i>invA,iroN</i>	Enteritidis	E28ADS	<i>invA,iroN</i>	Africana
E46S	<i>invA,iroN</i>	Neumenster	E31ADS/A	<i>invA,iroN</i>	Dublin
E60S	<i>invA,iroN</i>	Brikama	E31ADS/C	<i>invA,iroN</i>	Alfort
E61S	<i>invA</i>	Agbeni	E32ADS/C	<i>invA,iroN</i>	hohentwiel
E64S	<i>invA</i>	II	E35ADS/A	<i>invA,iroN</i>	Kisangani
E67S/B	<i>invA</i>	Senftenberg	E35ADS/C	<i>invA,iroN</i>	Shubra
E68S	<i>invA,spvC,iroN</i>	schwarzengrund	E45ADS/A	<i>invA,iroN</i>	hohentwiel
E73S	<i>invA</i>	Umbadah	DCE28AB/C	<i>invA,iroN</i>	Agbeni
E74S	<i>invA</i>	Dessau	DCE29PB/B	<i>invA,iroN</i>	Agbeni
E88S	<i>invA</i>	II	E32BIS	<i>invA</i>	chomedey
E89S	<i>invA</i>	Gustavia	E66S	<i>invA</i>	II

4.2.2. Gènes de pathogénités détecté chez les souches de *Escherichia coli* isolées

La recherche des gènes de virulence sur les souches de *E. coli* résistantes aux antibiotiques isolées des bouses de bovin a été réalisée par PCR multiplexe (*stx1/stx2* et *eae/sta*) et PCR monoplexe (*lt* et *ehxA*). Les résultats ont montré que toutes les 15 souches de *E. coli* soit 100% portaient au moins un gène de virulence. L'analyse des profils électrophorétiques des différents gènes détectés montre la présence des gènes *stx1*(555pb), *stx2* (118pb), *eae* (425pb), *sta* (190pb) et *lt* (450pb) (**Figure 22**).

La plus forte fréquence a été observée avec le gène *eae* à une fréquence de 86,7% suivie du gène *stx2* (60%). Les gènes *stx1*, *sta* et *lt* ont été détectés avec des fréquences respectives de 40%, 2% et 13,3%. Cependant, aucune souche possédant le gène *ehxA* n'a été observé. Quatre (4) groupes de pathovars ont été identifiés à savoir les *E. coli* producteurs de Shigatoxines (STEC, 46,7%), les *E. coli* entérotoxigènes (ETEC, 13,3%), *E. coli* enteropathogènes (EPEC, 13,3%) et les hybrides (STEC+/ETEC, 26,7%) (**Tableau XXVIII**).

Les souches de *E. coli* productrices de Shigatoxines (STEC) ont été uniquement celles détectées à Port-Bouët avec une fréquence de 6,7%. Dans la commune d'Abobo les STEC, ETEC et STEC+ETEC ont été détectées avec une fréquence moyenne de 13,3%. Quant aux souches EPEC, elles ont été détectées avec un taux de 6,7%. Les souches STEC+ETEC ont été les plus détectées dans la commune d'Adjamé. Dans la commune de Yopougon les *E. coli* STEC ont été les plus détectés avec une fréquence de 13,3%. Seules les souches STEC ont été détectées dans la commune de Bingerville avec une fréquence de 6,7% (**Tableau XXIX**).

L'association des sérogroupes aux différents gènes de virulentes observée dans cette étude a montré que chaque séro groupe n'est pas spécifique à un gène ou un groupe de gènes particulier (**Tableau XXX**).

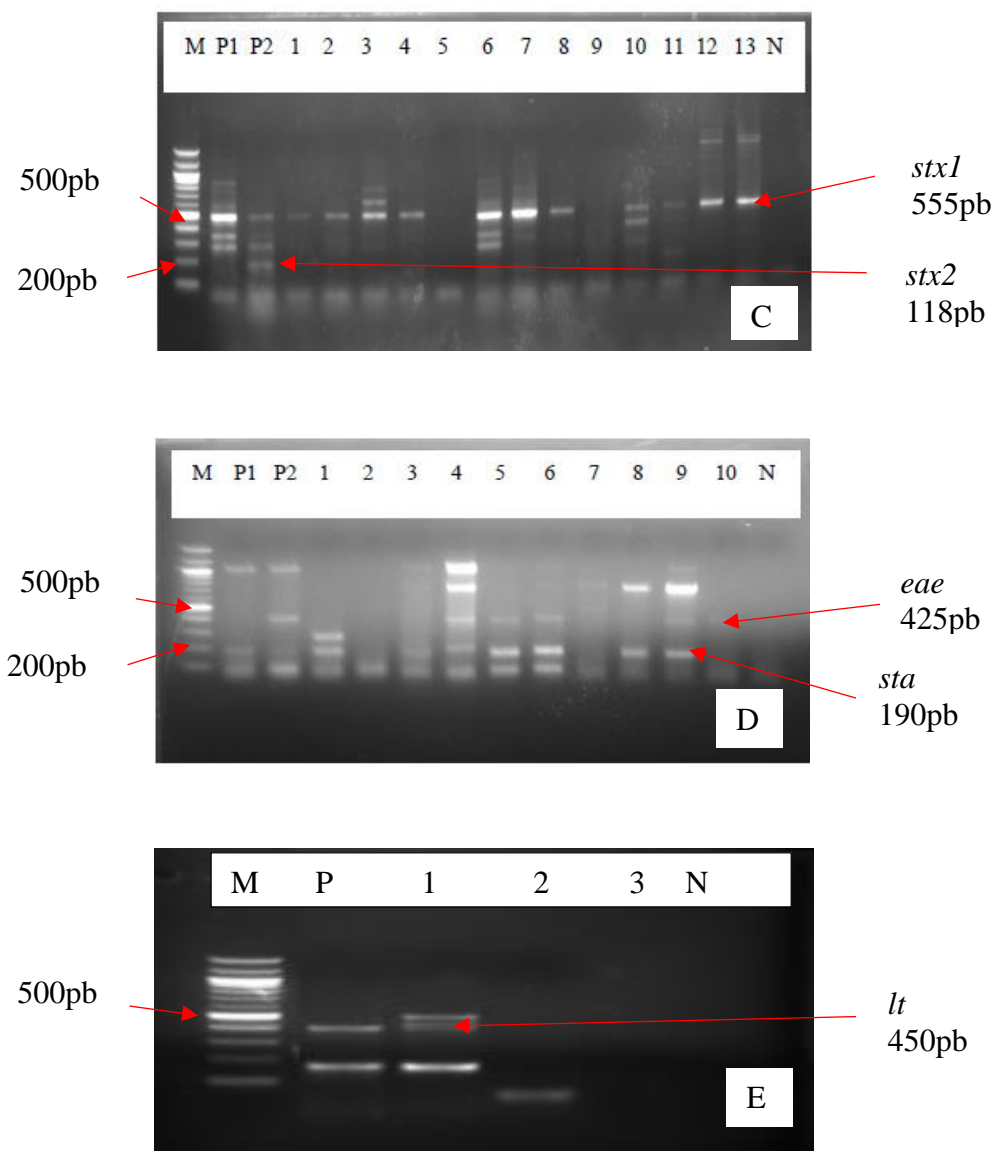


Figure 22: Profils électrophorétiques des gènes de virulence détectés chez *E. coli*

C : détection des gènes *stx1* et *stx2* par PCR multiplexe

D : détection des gènes *eae* et *sta* par PCR multiplexe

E : détection du gène *lt* par PCR simplexe

M : marqueur de poids moléculaire (100 à 2000 pb)

P1 : témoin positif (Souche de *Shigella sonnei*)

P2 : témoin positif (souche de *Shigella flexeni*)

N : témoin négatif (contient de l'eau ppi à la place de l'ADN bactérien).

Numéro 1 à 6 : souches bactériennes

Tableau XXVII: Pathovars et distribution des gènes de virulence des souches de *E. coli*

Gènes de virulence	Nombre/Fréquence (%)						Nombre de souches
	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>sta</i>	<i>ehxA</i>	<i>lt</i>	
Souches							
STEC+ETEC	+	+	+	-	-	+	4 (26,7)
STEC+ETEC	+	-	+	-	-	+	
STEC+ETEC	-	+	+	+	-	-	
STEC	+	+	+	-	-	-	7 (46,7)
STEC	-	+	+	-	-	-	
STEC	+	+	-	-	-	-	
ETEC	-	-	+	+	-	-	2 (13,3)
ETEC	-	-	-	+	-	-	
EPEC	-	-	+	-	-	-	2 (13,3)
Total (%)	6 (40)	9 (60)	13 (86,7)	3 (20)	0 (0)	2 (13,3)	15 (100)

+: positif, - : négatif, **ETEC** : *E. coli* entérotoxigène, **STEC** : *E. coli* productrice de Shigatoxine, **EPEC** : *E. coli* entérotoxigène

Tableau XXVIII: Répartition des pathovars obtenus par commune

		Nombre / Fréquence (N%)			
Pathovars	STEC	ETEC	EPEC	STEC+ETEC	Total (N%)
Origine					
Port-Bouët	1 (6,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (6,7)
Abobo	2 (13,3)	2 (13,3)	1 (6,7)	2 (13,3)	7 (46,7)
Adjamé	1 (6,7)	0 (0)	0	2 (13,3)	3 (20)
Yopougon	2 (13,3)	0 (0)	1 (6,67)	0 (0)	3 (20)
Bingerville	1 (6,7)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (6,7)
Total (n=15)	7 (46,7)	2 (13,3)	2 (13,3)	4 (26,7)	15 (100)

ETEC : *E. coli* entérotoxigène, **STEC** : *E. coli* productrice de Shigatoxine, **EPEC** : *E. coli* entéro-pathogène

Tableau XXIX: Gènes de virulence et sérotypes des différentes souches de *E. coli*

Souches	Gènes de virulence	Sérogroupes
RCE34AB2	<i>eae,sta</i>	O55
RCE47AB1	<i>eae</i>	O111
RCE10AD	<i>stx2,eae</i>	O55
DCE32BI	<i>stx2,eae</i>	O127
RCE25AB1	<i>stx1,eae,lt</i>	O128
RCE46AB1	<i>stx1,stx2,eae</i>	O55
DCE111/A	<i>stx2,eae</i>	O114
RCE35AB	<i>sta</i>	O86
RCE19AD2	<i>stx2,eae,sta</i>	O119
DCE15AD2	<i>stx1,eae,lt</i>	O55
RCE23AB2	<i>stx1,stx2,eae,lt</i>	O114
DCE6YOP	<i>stx1,stx2</i>	O127
DCE35YOP1	<i>eae</i>	O142
DCE35YOP2	<i>stx2,eae</i>	O142
RCE24AB1	<i>stx1,stx2,eae</i>	O119

DISCUSSION

L'enquête socio-démographique réalisée dans le district d'Abidjan a rapporté un pourcentage élevé de gestionnaire de bétail dans la commune de Port-Bouët (38,4%) par rapport aux autres communes. Ce résultat pourrait s'expliquer par la présence d'un abattoir au sein de la commune. En effet, cette présence favorise le mouvement des producteurs de bétail vers ladite commune. De plus l'abattoir de Port-Bouët est le plus grand abattoir du pays. Il reçoit environ 70% de bétails destiné à la vente (**Yao et Kallo, 2015**).

La filière bovine au niveau du district d'Abidjan est détenue en grande partie par les éleveurs de nationalité Burkinabé. Le Burkina Faso, pays frontalier à la Côte d'Ivoire, a une forte tradition en élevage. D'ailleurs, l'élevage constitue le troisième secteur pourvoyeur de devise et représente 15% des recettes d'exportations du pays (Burkina Faso) (**MRA, 2011**). Cependant, en Côte d'Ivoire (district d'Abidjan) la majorité (83,1%) des éleveurs enquêtés est illettrée et n'a aucune qualification dans le domaine de l'élevage. La plupart se base sur leur expérience qui, selon notre étude, est comprise entre 10 à 15 années. Ces résultats sont différents de ceux de **Adebowale et al. (2016)** qui ont rapporté que le niveau d'instruction des éleveurs au Nigeria est nettement meilleur car 70,9% d'entre eux ont un niveau universitaire ou équivalent.

Les résultats de l'enquête ont également montré que le Mali et le Burkina Faso constituent les deux grands fournisseurs de bétails à la Côte d'Ivoire (**Yao et Kallo, 2015**). La majorité du bétail (34,9%) est vendue à leur jeune âge (âge inférieur à 5 ans). Cette vente massive du jeune bovin pourrait s'expliquer par le fait que la viande des jeunes bovins est la viande la plus prisée par la population. En effet, cette viande est particulièrement tendre et diététique car très pauvre en lipides (**Cabaraux et al., 2005**).

De plus, les éleveurs ont pour la plupart recours aux antibiotiques (98,9%) pour la lutte contre certaines infections. Cette forte utilisation pourrait s'expliquer par la persistance de certaines infections bactériennes au cours de l'élevage. En effet, le manque d'hygiène et les différentes contaminations croisées peuvent être à l'origine de la recrudescence des infections bactériennes dans les élevages (**El-Seedy et al., 2016**). Selon certains auteurs, les conditions d'élevage et la mobilité animale contribuent à la diffusion de certaines maladies infectieuses chez les bovins (**Lancelot et al., 2011**). D'ailleurs ils ont affirmé qu'ils utilisent les antibiotiques à titre préventif, curatif et comme facteur de croissance. Ce résultat est d'une importance capitale car l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance ou additifs a été interdite dans plusieurs pays. Cependant, certains éleveurs aussi bien en Côte d'Ivoire que dans d'autres pays africains continuent cette pratique (**Goutard et al., 2017**). Ainsi, des études réalisées au Burkina Faso (**Samandoulougou et al., 2016**) et au Nigeria (**Adebowale et al., 2016**) ont également signalé une forte utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance avec des taux respectifs de 93,6 % et 60%. Cette pratique est généralement associée au non-respect des conditions d'utilisation des antibiotiques (fréquence, posologie et délai d'attente) et entraîne de graves

conséquences sur la santé des consommateurs (**Hsieh et al., 2011**). Pour ce qui concerne les doses d'antibiotiques administrées au bétail, les résultats ont montré que 100% d'éleveurs administrent les doses selon les prescriptions du médicament en tenant généralement compte du poids de l'animal. Une étude réalisée en Afrique du Sud a montré que 68,5% des antibiotiques est administrés sous forme d'additifs alimentaire, 17,5% est utilisés forme d'injection, 12% est ajoutés à l'eau de boisson et les autres formes posologiques (dosage topique et oral) constituent 1,5% (**Eagar et al., 2012**). Cette utilisation anarchique et mal contrôlée de ces antibiotiques peut être à l'origine de la sélection des bactéries résistantes (**Bagré et al., 2015**) et également de la présence des résidus d'antibiotiques dans les aliments d'origine animale (**Mensah et al. 2014**).

Près de 62,8% d'éleveurs ne bénéficient pas d'assistance vétérinaire. Ce résultat pourrait s'expliquer par le coût élevé des prestations. Les résultats de cette étude corroborent ceux de **Samandoulougou et al. (2016)** qui ont rapporté que 74,6% d'éleveurs font référence à eux même et c'est lorsque des complications surviennent qu'ils font appel à un vétérinaire. De plus, la tenue d'un registre d'élevage lors des visites du vétérinaire est importante pour le bon suivi des animaux et surtout dans la gestion des traitements. Cependant, les résultats obtenus ont montré que la majorité des éleveurs ne possède pas de registre d'élevage. Le taux des non détenteurs de registres observé dans cette étude (92,2%) est largement différents de celui rapporté par **Chatellet (2007)** en Anjou (France) qui a été de 11%. Cependant en Afrique, les données sur la détection d'un registre en élevage est presque inexistant.

Concernant le mode d'approvisionnement en antibiotique, les résultats ont rapporté cependant que 81,4% d'éleveurs s'approvisionnent dans les pharmacies vétérinaires. Néanmoins, certains continuent les pratiques illicites en s'approvisionnant auprès des vendeurs ambulants, dans les marchés à bétail et parfois, sans les conseils d'un médecin vétérinaire. Ce mode d'approvisionnement pourrait s'expliquer par le manque de structures adéquates à proximité des éleveurs et par le coût des médicaments relativement élevés (**Mopaté, 2010**). Cette pratique, interdite de nos jours dans certains pays, pourrait également être à l'origine du développement de l'antibiorésistance chez les animaux.

Peu d'éleveurs sont formés aux pratiques vétérinaires. Néanmoins, Ils sont eux-mêmes responsables de la plupart des activités vétérinaires telles que la vaccination, la prophylaxie animale et le traitement. Pour 60,5% d'éleveurs, les antibiotiques sont principalement choisis sans assistance vétérinaire et sur la base de leur expérience personnelle, ou des conseils des représentants de sociétés pharmaceutiques ou des vendeurs de médicaments. Cette pratique pourrait induire un mauvais choix des antibiotiques utilisés dans les traitements (**Samandoulougou et al., 2016**). Des études réalisées au Burkina Faso (**Samandoulougou et al., 2016**) et au Sénégal (**Biagui, 2002**) ont rapporté une forte pratique d'automédication. Au Vietnam, **Kim et al. (2013)** ont rapporté un taux de 95% d'éleveurs pratiquant l'automédication. Ce taux est plus élevé que celui obtenu dans notre étude. Alors que **Pavydé et al. (2015)**, en Lituanie, ont rapporté un taux moindre de 31%.

En outre, cette étude a montré que la tétracycline (80,8%) est l'antibiotique le plus utilisé par les éleveurs. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de **Ouattara et al. (2013)** en Côte d'Ivoire qui ont rapporté dans leurs études cette forte utilisation de la tétracycline. Aussi, les travaux de **Yeo et al. (2017)** dans région du Poro (Côte d'Ivoire) ont-ils fait état d'une grande utilisation de la tétracycline en l'occurrence l'oxytétracycline. Cette forte utilisation de la tétracycline pourrait s'expliquer par son action curative efficace. Plusieurs pays d'Afrique (Kenya) (**Mitema et al., 2001**), d'Europe (**Schwarz et al., 2001**), d'Amérique (Etats Unis) (**Sarmah et al., 2006**) et d'Asie (Vietnam) (**Kim et al., 2013**) ont de même rapporté cette forte utilisation de la tétracycline en élevage de bovin. Par ailleurs, cette étude a relevé que le principal facteur significativement associé à la forte utilisation de la tétracycline dans les élevages est l'expérience professionnelle. De tels résultats sont comparables avec ceux de nombreux autres auteurs. En effet, les éleveurs qui ont plusieurs années d'expérience déclarent plus de prescription d'antibiotiques que les moins expérimentés (**Chamany et al., 2005**). Ceci pourrait s'expliquer par le fait que la tétracycline contribue depuis plus de 50 ans à la lutte contre de nombreuses infections dues aux bactéries à Gram négatif et à Gram positif. De plus, la tétracycline constitue l'une des classes d'antibiotiques les plus accessibles, ce qui les rend attrayantes pour les pays en voie de développement avec des budgets de soins de santé limités (**Roberts, 2003**). Cependant, les attitudes de certains éleveurs ayant plus années d'expériences pourraient favoriser une prescription inappropriée qui pourrait conduire à un échec thérapeutique.

L'approche méthodologique utilisée dans le contexte de cette étude pour l'isolement des souches de *Salmonella* a été la norme **NF EN ISO 6579 (ISO-6579, 2002E)**. Elle est basée sur un pré-enrichissement, un enrichissement sélectif, un isolement sélectif et une identification. Concernant les souches d'*E. coli*, le milieu Rapi de *E. coli* 2 additionné de ceftazidime (2 mg/L) a permis l'isolement des souches de *E. coli* résistantes. Il est important de noter que le milieu Rapi de *E. coli* 2 contient deux substrats chromogéniques, l'un spécifique au β -D-glucuronidase (Gluc) et l'autre au β -D-Galactosidase (Gal) qui permettent une détection rapide des souches de *E. coli* (Gluc+/Gal+) qui donnent des colonies violettes sur ledit milieu. De plus, l'antibiotique ajouté (ceftazidime) au milieu Rapi de *E. coli* 2 pourrait jouer un rôle dans l'inhibition de la croissance des microorganismes (bactéries) non désirés. En effet, la ceftazidime est une céphalosporine de troisième génération à large spectre d'activité pouvant atteindre également les bactéries à Gram positif. Cette étude a montré que l'utilisation du milieu Rapi de *E. coli* 2 additionné de ceftazidime permet d'isoler directement les souches de *E. coli* résistantes excrétées par les bovins.

Dans cette étude, la prévalence moyenne des souches de *Salmonella* sp. obtenues est de 20%. De plus, des prévalences variables ont été également obtenues en fonction des communes. Cette prévalence moyenne de 20% de souches de *Salmonella* déterminée dans cette étude est plus élevée que

celle déterminée par **Alemayehu et al. (2003)** qui ont rapporté une prévalence de 7,1%. Des études en Ethiopie (2,3%) et Nairobi (2,6%) ont rapporté des prévalences moindres (**Egualé et al., 2016; Nyabundi et al., 2017**). Des portages de *Salmonella* beaucoup plus faibles ont été rapportés chez les bovins au Japon et en Grande-Bretagne avec des prévalences respectives de 0,5% et 1,4% (**Ishihara et al., 2009 ; Milnes et al., 2009**). En revanche, cette prévalence est comparable à celle de **Akoachere et al. (2009)** au Cameroun qui est de 28,7%. Cependant, le rapport d'une étude réalisée par **Kagambèga et al. (2013)** au Burkina Faso a indiqué une très forte prévalence de *Salmonella* (52%) dans les bouses de bovin. Cette prévalence observée dans cette étude pourrait être liée à la situation géographique et aux conditions d'hygiène au cours de l'élevage. En effet, les fermes et parcs à bétails sont situés à proximité de la population humaine. En outre, au cours de la pratique de l'élevage les excréments et les déchets dus à l'alimentation du bétail ne sont pas enlevés régulièrement. Dans ces conditions, il peut y avoir suffisamment de nutriments dans les sols humides pour garder *Salmonella* viable (**Turpin et al., 1993**).

Concernant les *E. coli*, l'isolement des souches résistantes sur le milieu Rapide *E. coli* 2 additionné de ceftazidime a révélé une prévalence moyenne de 20,2% dans les fèces de bovin. Aussi, des prévalences variables ont-elles également été déterminées en fonction des communes. Plusieurs études ont été menées pour évaluer la prévalence de *E. coli* résistants chez les bovins. La plupart de ces études ont été conduites sur les fèces des veaux et tentent de montrer des pourcentages de *E. coli* résistants supérieurs à 50%. En Suisse, **Di Labio et al. (2007)** ont rapporté que 68,7% de *E. coli* isolés des fèces de veaux étaient résistantes. D'autres études ont également rapporté des pourcentages élevés de 72% de *E. coli* résistants isolés des fèces de bovin (**DeFrancesco et al., 2004**). Cependant, la prévalence générale des souches de *E. coli* résistantes observées dans notre étude est comparable à celle déterminée par **Haenni et al. (2014)** qui ont révélé une prévalence de 29,4% des souches de *E. coli* productrices de BLSE au cours d'une étude conduite sur les fèces de bovin. D'autres études européennes sur la matière fécale, utilisant des géloses contenant un antibiotique C3G (Céphalosporine de troisième génération) pour l'isolement des souches d'*E. coli* résistantes ont révélé des prévalences individuelles chez les bovins comprises entre 13,7% et 56,5% (**Dolejska et al., 2011 ; Geser et al., 2012 ; Watson et al., 2012**).

La présence de *E. coli* résistant dans les fèces traduit un mauvais usage des antibiotiques (**Sanders et al., 2017**). Au cours de la pratique de l'élevage, il a été établi qu'il existe une corrélation entre la quantité d'antibiotique utilisée et la prévalence de la résistance dans la flore fécale des animaux (**Van Den Bogaard et Stobberingh, 1999**). Par conséquent la prévalence de *E. coli* résistants observée dans cette étude pourrait être liée à une utilisation abusive des antibiotiques lors des traitements subis par les animaux. Il convient également de mentionner que la présence de *E. coli* résistants détectée dans les fèces pourrait être due à une dissémination de gènes de résistances au sein de la population. En effet, l'émergence des souches de *E. coli* résistantes peut également survenir indépendamment de

la présence d'antibiotique. En revanche l'augmentation et la dissémination de *E. coli* résistants survient à la suite d'une pression de sélection due à l'exposition des animaux aux antibiotiques. Par ailleurs une étude menée par **Hummel et al. (1986)** a montré que les souches de *E. coli* résistantes peuvent servir de réservoir de gènes de résistance aux antibiotiques dans le tube digestif et qu'ils échangent facilement du matériel génétique avec d'autres souches de *E. coli*.

Les résultats relatifs à la prévalence des souches de *Salmonella* et de *E. coli* résistantes à la ceftazidime selon le type de fèces (fèces diarrhéiques et fèces non-diarrhéiques) font apparaître une variation dans les données. Ainsi, un tel résultat met en exergue les caractères du portage symptomatique et asymptomatique de ces deux genres bactériens. Certaines espèces de *Salmonella* et de *E. coli* pathogènes sont responsables des infections qui se manifestent le plus souvent par des diarrhées chez l'animal, par contre chez d'autres aucun signe clinique envisageable n'est observé. Ils sont de ce fait des porteurs sains. Dans les deux cas de figures, les bovins excrètent une charge élevée de *Salmonella* et *E. coli* pathogènes à travers leurs fèces. Cela peut contaminer l'environnement et engendrer une possibilité de transmission de ces pathogènes à des bovins en bonne santé et même à l'homme. L'identification de l'agent causal possible des diarrhées est importante pour permettre des mesures préventives ciblées, telles que la vaccination, et l'identification des facteurs de risque ou des sources possibles d'infection (**Izzo et al., 2011**). *E. coli* et *Salmonella* sont les agents pathogènes les plus identifiés chez les bovins en l'occurrence chez les veaux de moins de 2 mois (**Achá et al., 2004**).

Par conséquent, cette étude a montré une différence de charge en bactéries dans ces deux types d'échantillons de fèces. La prévalence des salmonelles et de *E. coli* était plus élevée dans le cas des fèces non diarrhéiques que les fèces diarrhéiques. Les souches de *Salmonella* et *E. coli* sont des entérobactéries qui ont pour réservoir principal le tube digestif des vertébrés (**Diez-Gonzalez et al., 1998 ; Weill, 2008**). Ainsi, une présence de diarrhée expliquerait une possibilité d'infection par un agent microbien. Cependant, la faible présence de *Salmonella* et *E. coli* dans les fèces diarrhéiques pourrait s'expliquer par la mise sous traitement antibiotique les animaux présentant certains signes cliniques.

Dans le cas des fèces diarrhéiques positives à *Salmonella* et à *E. coli*, les résultats ont montré une différence de prévalence. Cependant, la prévalence de *Salmonella* (44,1%) observée dans la présente étude est similaire à celle rapportée par **Moussa et al. (2010)** qui était de 43,53%. Cette prévalence est plus élevée que celles des études réalisées en Egypte qui ont rapporté des prévalence de 18,2% (**Riad et al., 1998**) et de 17,5% (**Seleim et al., 2004**). Des prévalences variables de *Salmonella* chez des veaux diarrhéiques ont été enregistrées dans plusieurs études en Afrique tels que le Mozambique 5% (**Achá et al., 2004**) et l'Algérie 66,6% (**Akam et al., 2004**) et d'autres pays comme l'Inde 5% (**Joon et Kaura, 1993**) et l'Australie 23,8% (**Izzo et al., 2011**). Pour ce qui concerne la prévalence de *E. coli* dans les fèces diarrhéiques, nos résultats ont montré une prévalence de 36,5%. Ces résultats sont plus élevés

que ceux rapportés par **Bradford et al., (1999)** qui ont signalé un taux de prévalence de seulement 13% de *E. coli* résistants. Cependant bien qu'élevé, **White et al. (2000)** ont rapporté un taux de prévalence de 69% d'isolats de *E. coli* résistants dans les échantillons de fèces diarrhéiques des veaux. Ces résultats pourraient être attribués à une mauvaise gestion de l'élevage ainsi qu'à des défaillances dans les mesures d'hygiène. Aussi, les différentes fluctuations de la prévalence observées dans les différentes communes pourraient être attribuées à l'emplacement géographique des parcs à bétails, ainsi qu'aux pratiques de gestion agricole et la taille des troupeaux (**Cho et Yoon, 2014**).

En ce qui concerne le sérotypage effectué sur l'ensemble des souches de *Salmonella* isolées, 50 sérotypes différents ont été obtenus. Plusieurs études ont rapporté que les sérotypes les plus fréquemment observés chez les bovins sont *S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Agona*, *S. Orion*, *S. Aintpul*, *S. Braenderup*, *S. Muenchen*, *S. Croft*, *S. Kentucky*, *S. Telaviv*, *S. Montevideo*, *S. Kpeme*, *S. Infantis*, *S. Abadina*, *S. Cerro*, *S. Mismarhaenek*, *S. Enteritidis*, *S. Guildford*, *S. Anatum*, *S. Gozo*, *S. Mbandaka*, *S. Senftenberg*, *S. Newport*, *S. Give*, et *S. Muenster* (**Vella et al., 1995 ; Sato et al., 2001 ; Molla et al., 2003 ; Alam et al., 2009 ; Nielsen et al., 2013 ; Wiczorek et al., 2013**). Des études réalisées par **Eguale et al. (2016)** dans les bouses de bovins en Ethiopie avaient rapportés plusieurs sérotypes parmi lesquels les *S. Typhimurium*, *S. Saint-paul*, *S. Kentucky*, *S. Virchow* ont été les plus fréquents. Cependant, les résultats montrent que sur l'ensemble des sérotypes obtenus, le sérotype II a été le plus dominant. La présence du sérotype *Typhi* n'est qu'à une fréquence de 1,19%. Bien qu'en faible proportion, la présence de *S. Typhi* explique la défaillance des mesures d'hygiène, mais également la présence du bétail en pleine agglomération. En effet, *S. Typhi* est un agent pathogène strictement humain qui provoque une fièvre invasive (fièvre typhoïde), alors que la plupart des autres sérotypes de *Salmonella* provoquent principalement des symptômes gastro-intestinaux sans invasion systémique (**Braden 2006**).

De plus, le sérogroupe des souches de *E. coli* résistantes à la ceftazidime a révélé 13 sérogroupe (O26, O55, O86, O111, O114, O119, O124, O125, O126, O127, O128, O142 et O157). **Blanco et al. (2003)** ont rapporté que les sérotypes O20 : H19, O26 : H11, O113 : H4 et O171 : H2 sont les plus communément isolés chez les bovins. Le sérogroupe prédominant dans notre étude a été le O127. Nos résultats ne corroborent pas ceux de **Zweifel et al. (2005)** qui ont rapporté que le sérogroupe O113 est le sérogroupe prédominant dans la majorité des enquêtes européennes sur les bovins. Cependant, des sérogroupe O111 et O26 ont été détectés chez des bovins laitiers de l'Ontario (**Wilson et al. 1996**) et il existe des estimations de la prévalence globale des STEC chez les bovins (**Wilson et al., 1996 ; Van Donkersgoed et al, 1999 ; Renter et Sargeant, 2002**). Une étude portant sur 1000 bovins de boucherie abattus de l'Île-du-Prince-Édouard a révélé la présence d'une souche O26 et d'une souche O111 provenant de 40 échantillons positifs (**Schurman et al., 2000**). Aussi, nos résultats ont également révélé la présence de 2 sérotypes de *E. coli* O157 : H7 (**Johnson et al., 1996 ;**

Nataro et Kaper, 1998). La fréquence de détection des sérogroupes dans notre étude a été de 91,8%. Cette fréquence a été largement supérieure à celle de **Bouhaddioui et al. (1998)** qui était de 15%, mais reste inférieure à celle de **Boukef et al. (2007)** qui était de 100%. Les taux de détection des sérogroupes pourraient varier d'un pays à un autre (**Bouzari et al., 2010 ; Al Hilali et Almohana, 2011**).

Dans les élevages, les antibiotiques sont administrés aux animaux pour diverses raisons thérapeutiques. Ces raisons concernent entre autres le traitement et la prévention des maladies, ainsi que leur utilisation comme promoteur de croissance. La prévalence des bactéries résistantes d'origine bovine n'est pas surprenante, au regard de l'usage abusif des antibiotiques dans les élevages. En effet, l'emploi exclusif et intensif d'un antibiotique pourrait sélectionner des souches résistantes (**Chauvin, 2009**). La résistance aux antibiotiques constitue donc, la réponse évolutive des bactéries à la forte pression sélective résultant de l'exposition aux antibiotiques (**Wright 2010**). Par ailleurs, dans l'environnement naturel, les bactéries peuvent héberger des gènes de résistance dérivés de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux. Il est important de souligner que les entérobactéries ont une capacité évidente d'acquérir et d'échanger des gènes porteurs de facteurs de résistance et la flore intestinale fournit une extraordinaire opportunité pour la circulation des informations génétiques entre bactéries (**Van Immerseel et al., 2004**).

D'ailleurs, la résistance de *Salmonella* et *E. coli* aux antibiotiques couramment utilisés augmente à la fois dans les secteurs de la médecine vétérinaire et de la médecine humaine et est devenu un problème de santé publique. Ce phénomène est généralement attribué à la mauvaise gestion des pratiques de l'élevage. Ce qui conduit à une forte émergence des bactéries résistantes comme constaté dans notre étude. Les résultats ont montré que les selles de bovins isolées contenaient dans l'ensemble un taux élevé de souches de *Salmonella* et de *E. coli* résistantes aux antibiotiques. Les résultats corroborent ceux de **Fluckey et al. (2007)** qui ont montré des résistances similaires chez les bovins. Ces résultats confirment donc l'hypothèse selon laquelle les selles de bovin pourraient constituer des réservoirs de bactéries résistantes et les chances que ces bactéries résistantes soient transmises aux humains sont plus probables (**Umeh et Enwuru, 2014**).

Les souches de *Salmonella* ont montré un faible niveau de résistance aux bêta-lactamines. Les bêta-lactamines constituent avec les fluoroquinolones les familles des antibiotiques qui ont une importance critique en médecine vétérinaire (**Sanders et al., 2017**). Cependant, une résistance observée à cette molécule pourrait être attribuée à un mauvais usage en élevage. Chez les souches de *Salmonella*, la résistance aux bêtalactamines principalement aux céphalosporines de troisième et quatrième génération (C3G/C4G) chez l'animal apparaît plus occasionnellement que chez les souches d'*E. coli*. En effet, cette bactérie ne semble pas constituer un réservoir majeur des gènes de résistances (**Madec et al. 2012**). D'ailleurs, les données cumulées des réseaux de surveillance des souches de *Salmonella*

en France confirment cette très faible proportion de souches de *Salmonella* d'origine animale résistantes aux C3G/C4G. Plusieurs auteurs ont également rapporté des taux de résistance similaires (**Dutta et al., 2016**). Des taux de résistance variables aux céphalosporines de troisième génération ont été signalés en Chine (1,6%), en Roumanie (11,4%) et aux Etats Unis (16%) (**White et al., 2001 ; Mihaiu et al., 2014 ; Yu et al., 2014**). Quant aux souches de *E. coli*, un niveau de résistance très élevé aux bêta-lactamines a été observé. Parmi les bêta-lactamines, les céphalosporines sont couramment utilisées en médecine vétérinaire parce qu'ils sont efficaces dans le traitement de la mammites environnementale causée en grande partie par des souches de *E. coli* (**Shpigel et al., 1997**). Aussi, sur la base de sa grande prédominance au niveau de la flore intestinale des animaux à sang chaud (**Tenaillon et al., 2010**), *E. coli* constitue l'espèce qui est en majorité exposée aux différents traitements d'antibiotique. Cette forte prévalence de la résistance aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines serait due à l'utilisation souvent abusive et non contrôlée des bêta-lactamines en élevage. De plus, la flexibilité génétique et l'adaptabilité de *E. coli* à des environnements en constante évolution permettent d'acquérir un grand nombre de mécanismes de résistance (**Szmolka et Nagy, 2013**). De nombreuses études antérieures ont rapporté cette résistance élevée aux bêta-lactamines chez les souches de *E. coli* (**Ajayi et al., 2011 ; Olowe et al., 2015**).

Notre étude a montré une grande différence entre les taux de résistance des souches de *Salmonella* et *E. coli* provenant des mêmes échantillons. Cet écart de résistance pourrait être dû à l'inexistence ou à la perte d'un support de la résistance qui est généralement l'intégron SGI1 chez *Salmonella* (**Feye et al., 2016**).

Toutes les souches de salmonelles et de *E. coli* dans cette étude étaient sensibles à l'imipénème. Cela pourrait s'expliquer par son efficacité, sa bonne stabilité aux bêta-lactamases et par sa grande activité bactéricide. De ce fait, l'imipénème constitue un antibiotique de choix pour le traitement des infections dues aux bactéries résistantes (**Paterson et al., 2004 ; Rodloff et al., 2006**). A l'heure actuelle, la résistance de *Salmonella* au carbapénème est extrêmement rare, bien que des isolats exprimant différentes carbapénémases acquises aient été rapportés.

Au niveau de la résistance aux quinolones et fluoroquinolones, nos résultats ont montré que les souches de salmonelles restent encore largement sensibles aux quinolones. Des taux moyens de 3,6% de résistance ont été observés respectivement à l'Acide nalidixique, à la ciprofloxacine et à la norfloxacine. Des résultats similaires ont été rapportés par **Gorman et Adley. (2003)** sur l'acide nalidixique (2,6%) en République d'Irlande et sur la ciprofloxacine (5,7%) en Inde (**Dutta et al., 2016**). Des taux moindres par rapport à ceux obtenus dans notre étude (moins de 1%) ont été rapportés par **Smith et al. (2016)**. De plus des taux de résistance élevés à l'acide nalidixique ont été rapportés au Kenya (12%) (**Nyabundi et al., 2017**), en Inde (17,9% et 24,5%) (**Murugkar et al., 2005**), et en Roumanie (65,1%) (**Mihaiu et al., 2014**). Des taux de résistance plus élevés de 25,8% et de 42,95%

pour la ciprofloxacine ont été signalés en Chine (**Mihaiu et al., 2014 ; Yu et al., 2014**). Des taux de résistances très élevés pour l'acide nalidixique (75%) et pour la ciprofloxacine (75%) ont été rapportés au Nigeria (**Umeh et Enwuru, 2014**). Cette émergence de la résistance aux fluoroquinolones est alarmante car, ce sont des antibiotiques de choix utilisés en médecine vétérinaire pour le traitement de la salmonellose invasive. La constance de taux de résistance au niveau des différentes molécules pourrait s'expliquer par l'utilisation des fluoroquinolones qui sont des molécules plus récentes en élevage. Cependant le faible taux observé dans le cadre de notre étude pourrait s'expliquer par le fait que les fluoroquinolones ne sont pas largement utilisées en élevage de bovin en Côte d'Ivoire.

Les souches de *E. coli* ont montré des taux moyens de résistance de 17,6% pour l'acide nalidixique, 16,5% pour la norfloxacine et 17,6% pour la ciprofloxacine. Des taux de résistance proche à ceux observés dans notre étude ont été rapportés par **Yassin et al. (2017)** en Chine où les taux de résistance à l'acide nalidixique et la ciprofloxacine étaient respectivement de 13,1% et 21,3%. Cependant des taux de résistance plus faibles par rapport à ceux obtenus dans notre travail ont été rapporté en Tunisie par **Abbassi et al. (2017)** avec des taux de 6,7% pour l'acide nalidixique et 3,3% pour la ciprofloxacine. Des taux très élevés ont par contre été observés au Nigeria avec 61,7% pour l'acide nalidixique, 51,3% pour la ciprofloxacine (**Ogunleye et al., 2013**).

Les quinolones et les fluoroquinolones constituent actuellement des groupes d'antibiotiques ayant une importance accrue en élevage. Leur intérêt est lié à leur faible toxicité (**Puyt, 2004**). Les résistances peuvent être parfois d'origine chromosomique et cela par le biais d'une mutation au niveau du gène, occasionnant une modification du site de fixation de l'antibiotique, ou par efflux actif, mais le plus souvent, elles sont d'origine plasmidique, donc transférables horizontalement entre bactéries de même espèce, voire des bactéries d'espèces lointaines (**Gassama et al., 2006**). Bien que des souches de salmonelles hautement résistantes aux quinolones soient encore rarement isolées (**Schwarz et Chalus-Dancla, 2001**), la diminution de la sensibilité doit être considérée comme une alerte, puisque les quinolones sont des antibiotiques de dernier recours.

Il est important de souligner la recrudescence de la résistance des souches de *E. coli* et de *Salmonella* à la famille des cyclines en l'occurrence les tétracyclines qui sont des anciennes molécules largement utilisées en première intention. Il faut noter que le taux de résistance aux cyclines a été élevé chez les souches de *Salmonella* (20,2% tétracycline, 20,2% minocycline) et très élevé chez les souches de *E. coli* (97,6% tétracycline, 69,4% minocycline). Cette augmentation de la résistance des *Salmonella* aux cyclines a également été observée par **Edrington et al. (2004)** aux Etats Unis qui ont rapporté un taux de résistance de 20,9%. Des taux de résistances élevés comparés aux taux obtenus dans notre étude ont été observés au Nigeria (**Umeh et Enwuru, 2014**), en Ethiopie (**Egualé et al. 2016**), au Etats Unis (**Dargatz et al., 2003**). De plus, des taux de résistance élevés à la tétracycline (62,2%) et à la minocycline (46,3%) ont été observés en Afrique du Sud (**Igbinos, 2014**). Cependant, de faibles taux

de résistance à la tétracycline comparés aux taux obtenus dans notre étude ont été rapportés dans plusieurs études (**Beach et al., 2002 ; Sibhat et al., 2011**).

Concernant les très forts taux de résistance de *E. coli* aux cyclines, des résultats proches de ceux observés dans notre étude ont été rapportés par **Awosile et al. (2018)** où le taux de résistance à la tétracycline était de 94% au Canada. Cette résistance a été également rapportée par plusieurs auteurs (**Ogunleye et al., 2013; Shin et al., 2015**). Les tétracyclines sont l'une des classes d'agents antimicrobiens les plus largement utilisées en médecine humaine et vétérinaire car elles présentent plusieurs avantages, dont un large spectre d'activité, un faible coût, une administration orale et peu d'effets secondaires (**Chopra et Roberts, 2001**). Cette forte utilisation dans les élevages a été également rapporté en Côte d'Ivoire par les travaux de **Ouattara et al. (2013)**.

La résistance à la tétracycline est généralement causée par l'acquisition des gènes de résistance à la tétracycline. Ces gènes sont associés à des mécanismes de résistance primaire impliquant des pompes à efflux actives, une protection ribosomique et une inactivation enzymatique. En conséquence, nous proposons que la forte résistance à la tétracycline chez *E. coli* observée dans cette étude serait probablement due au transfert horizontal de gènes de résistance à la tétracycline entre les populations de *E. coli* qui ont survécu à la pression sélective causée par l'utilisation non contrôlée de cet agent antimicrobien.

La résistance aux aminosides est plus élevée chez les souches de *E. coli* par rapport aux souches de *Salmonella*. L'amikacine a montré une forte activité sur les souches de *Salmonella* que sur les souches d'*E. coli*. L'on assiste dans l'ensemble à une diminution de la résistance aux aminosides chez les *E. coli* et *Salmonella*. Les aminosides renferment des molécules généralement à usage hospitalier telle que l'amikacine et la gentamicine. Selon **Ouattara et al. (2013)** leur utilisation en médecine vétérinaire reste limitée. Cependant, la résistance observée chez les souches de *E. coli* pourrait s'expliquer par une acquisition des gènes de résistance (**Erb et al., 2007**).

La résistance à la colistine a été assez élevée dans ce travail et a concerné 33,3% des souches de *Salmonella* et 58,8% des souches d'*E. coli*. Les taux obtenus dans ce travail sont inquiétants car, ils sont largement supérieurs aux taux rapportés dans plusieurs études (**de Jong et al., 2009; Kempf et al., 2013; Kempf et al., 2016; Huang et al., 2017**). Cette forte prévalence de la résistance à la colistine peut être due à l'utilisation croissante de la colistine dans les élevages.

Durant ces dernières années, la recherche de médicaments efficaces contre les souches pathogènes de *E. coli* et *Salmonella* multirésistantes a contribué à l'augmentation de la consommation de la colistine en médecine vétérinaire. Elle constitue d'ailleurs un antibiotique de dernier recours pour les infections en élevage (**Terveer et al., 2017**). En dépit de cela, le mécanisme de résistance à la colistine connu, implique des mutations chromosomiques, et donc sa propagation devait être limitée à

la transmission verticale (**Lim et al., 2010**). Ces dernières années la résistance médiée par un plasmide impliquant le gène *mrc-1* a été découverte (**Liu et al., 2016**).

Certains antibiotiques de la famille des sulfamides et des phénicolés sont utilisés dans les fermes pour le traitement du bétail pendant l'élevage. Ce contexte pourrait être favorable au développement d'une résistance à ces antibiotiques tel qu'observé dans notre étude. De plus certaines souches de *E. coli* résistantes aux céphalosporines de troisième génération portent habituellement des gènes supplémentaires conférant une résistance à d'autres antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire.

Toutefois, les souches de *E. coli* productrices de BLSE isolées des selles de bovins ont été signalées par plusieurs auteurs (**Hartmann et al., 2012; Nguyen et al., 2016**). Dans cette étude, la fréquence a été de 52,9%. Cette fréquence est plus élevée que celle observée en Allemagne par (**Schmid et al., 2013**) qui est de 32%. Des fréquences plus faibles ont été détectées par **Faruk et al. (2016)**. La fréquence obtenue dans cette étude est proche de celle rapportée par **Dahms et al. (2015)** qui est de 54,4%. Cependant, **Stefani et al. (2014)** ont détecté des fréquences plus élevées par rapport à celle détectée dans notre étude. Cette forte présence des souches de *E. coli* productrices de bêta-lactamases à spectre élargi pourrait être due à une utilisation abusive des céphalosporines de troisièmes et quatrièmes générations dans les élevages.

Les fluctuations dans la fréquence des souches de *E. coli* BLSE ont été également observées au niveau des communes. Les fréquences les plus élevées ont été observées dans les communes d'Abobo (46,67%) et d'Adjamé (20%). Il faut souligner que les parcs à bétails qu'abritent ces communes sont situés à proximité des riverains, ce qui pourrait favoriser la dissémination des souches productrices de BLSE dans ces communes.

De même, trois différents gènes de bêta-lactamase appartenant aux classes moléculaires A d'Ambler (*bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}* et *bla_{SHV}*) ont été recherchés dans cette étude. Ces gènes de résistance au bêta-lactamine ont été récemment rapportés chez les bovins, mais dans des proportions variables.

Chez les bactéries pathogènes Gram négatives, la production de bêta-lactamase est le facteur le plus important à la résistance aux bêta-lactamines (**Medeiros, 1997**). L'exposition persistante de souches bactériennes à plusieurs bêta-lactamines conduit à une surproduction et à une mutation de gènes de bêta-lactamase conduisant à leur capacité à hydrolyser les pénicillines et les céphalosporines à large spectre (**Bush, 2001**). Dans la présente étude les souches de *Salmonella* ont montré une fréquence élevée des gènes *bla_{TEM}* (57,7%). Cependant les tests phénotypiques ont révélé un faible taux de résistance aux bêta-lactamines. Ce résultat pourrait s'expliquer par la détection de la bêta-lactamase TEM-1 qui a la capacité d'hydrolyser uniquement les pénicillines et/ou céphalosporines précoces mais pas les céphalosporines de troisième ou quatrième génération.

Quant au bêta-lactamase SHV, nos résultats ont révélé une faible prévalence de 7,7%. Ce taux observé est supérieur à ceux de **Lertworapreecha et al. (2016)** qui ont rapporté un résultat négatif au bêta-lactamase SHV. Ceci pourrait s'expliquer par une acquisition du gène *bla_{SHV}*.

Les bêta-lactamase de type TEM se trouvent principalement chez *E. coli*, *K. pneumoniae* et *P. mirabilis*. Le premier variant avec une activité accrue contre les céphalosporines à spectre étendu était TEM-3. Le SHV-2 de *K. pneumoniae* présentait une résistance transférable au céfotaxime ainsi qu'à d'autres céphalosporines (**Gupta, 2007**). Les bêta-lactamases de type CTX-M sont différents des BLSE de type TEM et SHV qui sont étroitement apparentées aux bêta-lactamases de *Kluyvera* spp. (**Bonnet, 2004**).

Les souches de *Salmonella* peuvent acquérir les gènes de bêta-lactamases provenant d'autres souches dans la communauté et ensuite les répandre parmi les différents sérotypes de *Salmonella* (**Rotimi et al., 2008**).

Concernant les souches de *E. coli* BLSE, les gènes *bla_{CTX-M}*, *bla_{SHV}* et *bla_{TEM}* ont été détectés respectivement avec des taux de 73,3%, 66,7% et 100%. Ces taux sont supérieurs à ceux observés par **Awosile et al. (2018)** au Canada qui ont rapporté des taux de 30,7% pour CTX, 1,1% pour SHV et 84,1% pour TEM. Les proportions obtenues sont également élevées par rapport à ceux de **Olowe et al. (2015)** qui ont rapporté des proportions de gènes *bla_{CTX-M}* (44,7%), et *bla_{TEM}* (42,1%) et aucun gène *bla_{SHV}* détecté.

Des gènes de bêta-lactamase ont également été signalés chez des souches d'entérobactérie BLSE en Côte d'Ivoire mais dans des proportions variables (**Guessennd et al., 2008**). Dans cette étude, les résultats ont révélé une grande prédominance du gène *bla_{TEM}* parmi les souches de *E. coli* BLSE isolées. Ce résultat est conforme avec les rapports d'autres études (**Cormier et al., 2016; Awosile et al., 2018**). Cependant, d'autres résultats ont montré que le gène *bla_{CTX-M}* était le plus détecté dans les souches de *E. coli* BLSE (**Jarlier et al., 1988 ; Olowe et al., 2015**).

En effet, selon les études menées par **Sudarwanto et al. (2016)** en Indonésie, les bêta-lactamases CTX-M sont le type le plus répandu des BLSE dans la plupart des régions du monde, où l'augmentation significative de l'incidence de BLSE chez les entérobactéries a été attribuée à la dissémination des membres de la famille des CTX-M. La prolifération rapide et la propagation mondiale de BLSE de type CTX-M chez *E. coli* constituent un sujet de préoccupation à la fois en médecine humaine et en médecine vétérinaire (**Tamang et al., 2014**). De plus, **Njage et Buys, (2015)** ont rapporté que des plasmides portant des CTX-M peuvent transférer ces déterminants à d'autres *Enterobacteriaceae* commensales, telles que *Klebsiella pneumoniae*, ou à des pathogènes tels que *Shigella* ou *Salmonella*.

Dans cette étude le gène *bla_{TEM}* a montré un taux de détection de 100 % dans les souches de *E. coli* BLSE, tandis que le gène *bla_{SHV}* a montré un taux de 66,67%. Les BLSE de type TEM et SHV sont capables d'hydrolyser les céphalosporines, mais sont incapables d'hydrolyser les

carbapénèmes. Cependant, il existe certains variants qui ne sont pas considérés comme des BLSE, car ne présentant pas d'activité sur les céphalosporines (**Woods et al., 2008**). Bien que les sous-classes de ces enzymes puissent être différenciées, le test de double synergie a montré la production de BLSE. On peut supposer que ces classes d'enzymes sont responsables du profil phénotypique observé, ou que d'autres classes d'enzymes sont produites par les bactéries. L'importance des gènes *bla_{TEM}* et *bla_{SHV}* a été considérablement réduite en raison de l'augmentation rapide des gènes *bla_{CTX-M}* (**Woods et al., 2008**).

Plusieurs études ont mis en évidence l'émergence alarmante de ces gènes de bêta-lactamases dans la matière fécale de bovin. La détection des gènes *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* et *bla_{SHV}* chez les souches de *E. coli* productrices de BLSE a également été signalé dans les travaux de **Geser et al. (2012)** en Suisse.

La bouse de bovin pourrait constituer un moyen de dissémination des gènes de bêta-lactamase dans l'environnement. En effet, la présence de *E. coli* producteur de BLSE dans la microflore fécale des bovins représente un risque de contamination des produits alimentaires favorisant ainsi la dissémination des souches productrices de bêta-lactamases (BLSE) dans l'environnement (**Borah et al., 2014**).

Le génotype de la résistance aux bêta-lactamines a été observé chez *E. coli* BLSE avec dans des proportions variables. Les associations de gènes étaient *bla_{CTX-M}/bla_{SHV}/bla_{TEM}* (60%), *bla_{CTX-M}/bla_{TEM}* (13,33%), *bla_{SHV}/bla_{TEM}* (7,69%). Aussi, le gène *bla_{TEM}* seul a été détecté à une proportion de 20%. Nos résultats ne corroborent pas ceux de **Borah et al. (2014)** qui ont rapporté au cours de leurs travaux les associations de gènes *bla_{SHV}/bla_{TEM}* 21,42%, *bla_{CTX-M}/bla_{SHV}* 10,71%, *bla_{CTX-M}/bla_{TEM}* 28,57%, *bla_{TEM} + Amp^C* 85,71%, *bla_{CTX-M}/bla_{SHV}/bla_{TEM}* 10,71%. Ces résultats expliquent l'émergence des gènes de résistance aux bêta-lactamines dans les élevages ce qui pourrait contribuer aux échecs thérapeutiques. Il est important de détecter le comportement génétique des souches productrices de BLSE confirmées phénotypiquement pour comprendre le scénario actuel de dissémination des gènes CTX-M, TEM, SHV chez les animaux destinés à la consommation.

Dans cette étude des gènes de résistance aux quinolones ont été détectés. Deux mécanismes de résistance à ces molécules ont été établis à ce jour. Il s'agit des altérations de leurs cibles et la diminution de l'accumulation due à l'imperméabilité de la membrane et / ou à la surexpression des systèmes de pompage d'efflux. Récemment, des éléments mobiles ont également été décrits, portant le gène *qnr*, qui confère une résistance aux quinolones (**Ruiz, 2003**).

Chez les entérobactéries, la résistance aux quinolones résulte d'une mutation en général chromosomique, entraînant une altération des enzymes cibles bactériennes (ADN gyrase et topoisomérase IV) ou une accumulation de l'antimicrobien. Cependant, plusieurs auteurs ont rapporté également une résistance aux quinolones d'origine plasmidique, ou « plasmid mediated quinolone

résistances » (PMQR). Cette résistances pourrait s'expliquer par une acquisition des gènes *qnr*, *qepA*, et *aac(6')-Ib-cr* (Carattoli, 2009).

La résistance aux quinolones à médiation plasmidique a d'importantes implications pour la santé publique. En effet, l'acquisition des gènes PMQR conduit à une diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones, accélérant la sélection des mutants résistants aux fluoroquinolones. Les gènes *qnr* ont été détectés dans plusieurs études. L'incidence de ces gènes a été rapportée dans le monde entier. En Côte d'Ivoire, la détection des gènes *qnr* a déjà été rapportée par Guessennd *et al.* (2008) sur des souches d'entérobactéries productrices de bêta-lactamase dans les produits biologiques humains. Cette étude avait montré la présence des gènes *qnrA* et *qnrB* avec des proportions respectives de 9% et 14,6%. Seul le gène *qnrS* n'a pas été détecté. Aussi, une étude réalisée par Baguy *et al.* (2014) sur les entérobactéries multi-résistantes isolées de différents écosystèmes a révélé la présence du gène *qnrS* avec une prévalence de 95%. Cependant, les gènes *qnrA* et *qnrB* n'ont pas été détectés.

Dans la présente étude seul le gène *qnrA* n'a pas été identifié chez les souches de *Salmonella*. Les gènes *qnrB* et *qnrS* ont été détectés dans des proportions variables avec une prédominance du gène *qnrB*. Nos résultats corroborent ceux de Sanjukta *et al.* (2016) qui ont détecté au cours de leurs études les gènes *qnrB* et *qnrS*. Ces résultats indiquent que le gène *qnrB* est impliqué en majeure partie dans la résistance aux quinolones observée chez les souches de *Salmonella*. Nos résultats ont également montré que 2 souches de *Salmonella* possédaient à la fois les gènes *qnrB* et *S*. Les analyses génotypiques ont également révélé des taux considérables des gènes *qnr* tandis que les tests phénotypiques ont révélé un faible niveau de résistance aux quinolones. Ce résultat pourrait être dû à une mutation du gène qui aurait entraîné la non expression du gène *qnr* présent.

Les gènes *qnr* ont été détectés dans les 15 souches de *E. coli* BLSE. Ces résultats indiquent également que les gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS* ont été détectés dans des proportions très élevées. Dix souches de *E. coli* BLSE (66,7%) ont présenté à la fois les gènes *qnrA*, *B* et *S*. Quatre (4) souches de *E. coli* BLSE ont présenté les gènes *qnrA* et *B* à la fois, tandis que le gène *qnrA* a été détecté seul dans une souche de *E. coli* BLSE (6,7%). La présence de ces gènes portés par les souches de *E. coli* BLSE étudiés est certainement responsable de la résistance aux fluoroquinolones (Strahilevitz *et al.*, 2009). Les résultats obtenus ont également révélé que l'association de ces gènes de résistance est apparue plus fréquemment et qu'une étude moléculaire supplémentaire est nécessaire pour déterminer lequel des gènes est responsable de la résistance aux fluoroquinolones observée. Au meilleur de notre connaissance, cette étude rapporte pour la première fois la présence des gènes *qnrA* et *qnrB* de la résistance aux quinolones parmi les souches de *E. coli* productrices de BLSE isolées chez les bovins en Côte d'Ivoire. Il convient de noter que l'excrétion fécale par les bovins des souches de *E. coli* BLSE dans l'environnement pourrait augmenter le risque de dissémination de la résistance aux fluoroquinolones (Wegener, 1999). Ceci pourrait constituer un risque pour la santé publique.

En ce qui concerne la résistance à la tétracycline, nos résultats ont révélé la détection du gène *tetA* avec une faible fréquence (7,6 %) chez les souches de *Salmonella*. Tandis que chez les souches de *E. coli* BLSE une fréquence élevée a été observée (66,7%).

La résistance à la tétracycline est généralement entraînée par l'acquisition d'un gène de résistance à la tétracycline (*tet*). Ces gènes sont associés à des mécanismes de résistance primaire, qui impliquent des pompes à efflux actives, une protection ribosomique et une inactivation enzymatique (**Koo et Woo, 2011**).

La différence entre la résistance de *Salmonella* à la tétracycline évaluée par la méthode phénotypique et le profil de résistance obtenu par PCR pourraient être dues à d'autres gènes de résistance à la tétracycline qui n'ont pas été évalués dans cette étude en raison de certaines contraintes. Quant aux souches de *E. coli* BLSE, les résultats indiquent que le gène *tetA* demeure le principal gène impliqué dans la résistance à la tétracycline observé chez les bovins.

En plus des différents gènes de résistances observés, toutes les souches de *Salmonella* résistantes étudiées possédaient au moins un gène de virulence. Les gènes *invA*, *spvC* et *iroN* ont été détectés avec des fréquences respectifs de 100%, 3,8% et 53,8%. Seul le gène *pefA* n'a pas été détecté. La forte détection du gène *invA* obtenue dans la présente étude a été également signalée par **Abouzeed et al. (2000)** en Islande. Les résultats obtenus sont du même ordre que ceux de **Chuanchuen et al. (2010)**, soit 98,8% de *Salmonella* porteuse du gène *invA* provenant des bovins. En effet, le gène de virulence *invA* est commun à toutes les *Salmonella* et est utilisé comme gène cible de la PCR pour la détection de *Salmonella* (**Dong et al., 2014**). Le gène *invA* est essentiel pour la virulence complète de *Salmonella* et est important dans l'invasion des cellules épithéliales phagocytaires et l'entrée dans la muqueuse intestinale.

Quant au gène *spvC* sa fréquence de détection dans cette étude est similaire à celle rapportée par **Chuanchuen et al. (2010)** qui est de 1,3%. Le gène *spvC* est l'un des gènes de virulence qui jouent un rôle dans le contrôle de la réponse immunitaire et régulent l'interaction de la cellule hôte. Le gène *spvC* contrôle également le taux de croissance de *Salmonella* dans la cellule hôte (**Swamy et al., 1996**). Ainsi, la très faible prévalence des gènes *spvC* observée dans le cadre de notre étude pourrait s'expliquer par l'intégration du plasmide de virulence dans le chromosome (**Abouzeed et al., 2000**).

Le gène *pefA* codant pour l'adhésine fimbriale nécessaire pour l'adaptation de *Salmonella* à l'hôte n'a été mis en évidence dans cette étude. Cependant, **Chuanchuen et al. (2010)** ont montré dans leurs travaux une fréquence de détection de 0,6%. D'autres études sur des souches de *Salmonella* provenant des oiseaux malades (**Hudson et al., 2000**) et de porcs (**Namimatsu et al., 2006**) ont montré des fortes fréquences de détection respectivement de 68,2% (15/22) et 92% (23/25). Les gènes de virulence *pefA* sont associés au plasmide.

En ce qui concerne le gène *iroN*, détecté à 53,9%, il joue un rôle important dans la survie de la bactérie dans des environnements hostiles (**Kaneshige et al., 2009**). En effet, il permet à *Salmonella* d'acquieser du fer et de distinguer *Salmonella* des autres bactéries. Le fer est un élément essentiel pour de nombreuses espèces bactériennes. Ainsi, le taux élevé de gène *iroN* observé dans la présente étude serait lié à la biodisponibilité du fer (**Umler et al., 1998 ; Kaneshige et al., 2009**) dans la matière fécale des bovins.

Concernant les *E. coli*, la fréquence de détection des souches possédant au moins un gène de virulence corrobore celle de **Shahrani et al. (2014)** en Iran qui ont également détecté une fréquence de 100%. Ce résultat est largement élevé que celui de **Rigobelo et al. (2006)** qui ont détecté une fréquence de 49,1%. La fréquence de détection élevée observée dans notre étude pourrait être liée à une acquisition de la virulence. En effet, lors de la colonisation des bactéries commensales BLSE peuvent diffuser et transférer des gènes codant pour BLSE pathogènes intestinaux par des transferts horizontaux. Même si *E. coli* est généralement considéré comme un habitant relativement inoffensif de l'intestin des animaux à sang chaud, des risques majeurs pour la santé publique peuvent être associés à la propagation des souches pathogènes et productrices de BLSE (**Hunter et al., 2008**).

Les souches de *E. coli* productrices de Shigatoxines (STEC) ont été les plus détectées dans cette étude. Ce résultat corrobore celui de **Leomil et al. (2003)** sur l'étude de la fréquence des isolats d'*E. coli* (STEC) producteurs de Shigatoxines chez les veaux diarrhéiques et non diarrhéiques au Brésil. Des études réalisées par plusieurs auteurs ont indiqué que les ruminants constituaient le principal réservoir naturel d'infection à STEC (**Cookson et al., 2010 ; Martikainen et al., 2012**). Le taux de STEC (46,7%) détecté dans notre étude est supérieur à celui détecté par plusieurs auteurs (**Salvadori et al., 2003 ; Rigobelo et al., 2006**). De plus, des études menées dans différents pays ont montré que 10 à 80% des bovins peuvent être porteurs de STEC (**Blanco et al., 1996 ; Cobbold et Desmarchelier, 2000**). Les différents taux de prévalence des STEC pourraient être dus à des schémas d'excrétion des STEC, influencés par plusieurs facteurs, tels que les différences géographiques, les méthodes d'échantillonnage et de détection, l'âge du bovin et les variations saisonnières (**Menrath et al., 2010**). L'analyse des gènes de virulence STEC a révélé une forte détection des gènes *stx2* (60%) par rapport aux gènes *stx1* (40%). Des résultats similaires ont été obtenus par d'autres auteurs (**Shin et al., 2014**). Sur la base des données épidémiologiques indiquant l'importance de la toxine *stx2* dans le développement du syndrome hémolytique et urémique (SHU), la prédominance des souches STEC portant le gène *stx2* chez les bovins pourrait entraîner un risque sérieux pour la santé publique (**Shin et al., 2014**). Par ailleurs, la détection des STEC portant le gène chromosomique *eae* pourrait être nécessaire dans le développement de la virulence chez les STEC en leur procurant une activité de fixation et d'effacement. La détection de STEC portant des gènes *eae* chez les bovins a été également rapportée par plusieurs études (**Blanco et al., 1997 ; Nguyen et al., 2011**).

Les souches d'ETEC peuvent produire des entérotoxines thermostables (*sta*) et / ou thermolabiles (*lt*) (**Sjoling et al. 2007**). Dans cette étude ces gènes codant pour les ETEC ont été détectés avec des fréquences de 20% et 13,3% respectivement pour les gènes *sta* et *lt*. Ces fréquences de détection sont inférieures à celles de **Mahanti et al. (2014)** qui ont détecté dans leurs travaux des fréquences de 72,2% (*sta*) et 66,7% (*lt*). Elles sont supérieures à celles obtenues par **Shin et al. (2014)** qui sont de 4,1% (*sta*) et 0% (*lt*). Ces souches sont les agents responsables de la diarrhée chez les bovins (**Nagy et Fekete, 1999**). Par conséquent, la propagation de ces souches dans l'environnement par les matières fécales de bovins pourrait constituer un risque pour la santé humaine.

Le gène codant l'intimine chromosomique *eae* peut être nécessaire au développement de la virulence de certaines souches de *E. coli* (*E. coli* entéropathogène EPEC) en leur fournissant une activité de fixation et d'effacement. Cependant, d'importantes associations entre la présence du gène *eae* et le pouvoir pathogène des souches de *E. coli* ont été décrites par plusieurs auteurs (**Mainil et al., 1993 ; Shin et al., 2014**). La présence du gène *eae* a été détectée dans 86,7% des souches. Dans cette étude, le pourcentage de souches EPEC positives a été inférieur à celui observé chez les bovins en bonne santé qui est de 79% (**Wang et al., 2013**).

Dans cette étude, l'association STEC/ ETEC a été détectée avec une fréquence de 26,7%. La combinaison de gènes de virulence multiples hébergés par les associations STEC/ ETEC a montré que les souches étaient un mélange de plusieurs *E. coli* différents possédant des propriétés associées au groupe pathogène. La présence de gènes de virulence *sta* et *lt* associés aux souches de *E. coli* STEC confirme leur caractère hybride.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au terme de cette étude visant à évaluer l'impact de l'antibiothérapie dans les élevages de bovins, il ressort que les acteurs de la filière jouent un rôle prépondérant dans l'émergence des bactéries pathogènes multirésistantes. Une enquête transversale réalisée auprès des éleveurs de bovins a montré que la majorité des élevages enquêtés utilisaient des antibiotiques pour les différents traitements des animaux. Cependant très peu parmi eux consultaient des vétérinaires avant de s'en approvisionner. Les résultats de l'enquête ont montré que la tétracycline constitue la classe d'antibiotique la plus utilisée en élevage bovin dans le District d'Abidjan. Cette utilisation est basée sur l'expérience professionnelle de l'éleveur. Ce qui conduisait le plus souvent à une utilisation mal contrôlée des doses d'antibiotique administrées aux bétails.

L'étude de l'antibiorésistance a permis d'isoler, d'identifier et de déterminer la prévalence des souches de *Salmonella* et de *E. coli* BLSE dans la matière fécale des bovins. Les résultats de cette étude ont permis de montrer une diversité de sérotypes parmi lesquels *Salmonella* II et *E. coli* O127 ont été les plus fréquents. Le profil de résistance aux antibiotiques a montré chez *Salmonella* un haut niveau de résistance à la colistine et à la tétracycline. Les souches de *E. coli* BLSE ont montré dans l'ensemble un haut niveau de résistance aux antibiotiques testés. Toutefois, aucune résistance à l'Imipénème (carbapénème) n'a été observée. Ce qui confirme le caractère d'antibiotique de dernier choix dans le traitement contre les bactéries multirésistantes.

Les profils génotypiques réalisés sur les souches de *Salmonella* résistantes et *E. coli* BLSE ont montré la présence des gènes de résistance au bêta-lactamines. Chez les souches de *Salmonella*, les gènes *bla_{TEM}* et *bla_{SHV}* ont été détectés avec une proportion élevée des gènes *bla_{TEM}*. Chez les souches de *E. coli* BLSE, en plus des gènes *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, le gène *bla_{CTX-M}* a été également détecté avec une fréquence élevée de gène *bla_{TEM}*. Cette étude a révélé la présence des gènes *qnrB* et *qnrS* chez les souches de *Salmonella* et des gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS* chez les *E. coli* BLSE. Les gènes de résistance à la tétracycline, en l'occurrence les gènes *tetA*, ont été aussi bien détectés chez les souches de *Salmonella* que chez *E. coli* BLSE. Ces bactéries constituent des réservoirs de gènes de résistance aux antibiotiques.

La caractérisation moléculaire des souches de *Salmonella* résistantes et de *E. coli* BLSE a montré que ces souches possédaient au moins un gène de virulence. Chez les souches de *Salmonella* résistantes sur 4 gènes recherchés, les gènes de virulence identifiés ont été les gènes *invA*, *spvC* et *iroN*. Cette étude a révélé un taux élevé des gènes *invA*. Cependant, aucun gène *pefA* n'a été identifié. Quant aux souches de *E. coli* BLSE, les différents gènes de virulence identifiés appartenaient principalement à trois groupes de pathovar à savoir les *E. coli* producteurs de shigatoxines (STEC)

qui ont été le plus représentés, *E. coli* enterotoxinogènes (ETEC) et *E. coli* enteropathogènes (EPEC).

Cette étude a également montré que la matière fécale de bovin constitue un véritable moyen de dissémination des bactéries potentiellement pathogènes et résistantes aux antibiotiques. La dissémination de ces bactéries entre les différents écosystèmes dont l'homme, constitue un problème de santé publique.

Perspectives :

Ainsi, dans les travaux ultérieurs, pour mieux appréhender la résistance de ces bactéries pathogènes et leur dissémination, il serait intéressant de réaliser des études sur :

- La séquence des gènes qui confèrent la résistance aux bêta-lactamines et aux fluoroquinolones observés chez *Salmonella* et *E. coli* afin de déterminer les différents variants et pour affiner la cartographie des clones qui circulent en Côte d'Ivoire.
- La caractérisation moléculaire des différents pathovars hybrides de *E. coli* producteurs de Shigatoxines/Entérotoxinogènes (STEC/ETEC) afin de déterminer leurs pathotypes et comprendre leur mécanisme de résistance.
- La recherche de stratégie pour limiter l'émergence des souches résistantes à partir des extraits de plantes ayant une activité inhibitrice sur ces souches.
- L'impact de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de rentes dans les grandes zones de production en Côte d'Ivoire.

Recommandations :

L'étude menée a montré qu'il existait de potentiels risques liés à une mauvaise utilisation des antibiotiques en élevage des bovins en Côte d'Ivoire. Au regard du risque que pourrait constituer la matière fécale des bovins, il nous paraît judicieux de faire quelques recommandations à l'endroit des acteurs de la filière, du pouvoir public et de la population :

- **Au niveau des acteurs de la filière bovine**
 - Inculquer la médication ordonnée, le respect des doses et des temps d'application des antibiotiques aux éleveurs
 - Se rassurer de la qualité des produits mis à la disposition des éleveurs
 - Orienter les éleveurs vers les produits biologiques tels que les probiotiques, les prébiotiques ou les huiles essentielles

- Baser l'antibiothérapie sur des techniques expérimentales visant à élaborer un antibiogramme.
- Elaborer un guide de bon usage des antibiotiques en élevage
- Consulter toujours un vétérinaire avant de pratiquer l'antibiothérapie
- Respecter les mesures d'hygiène et de biosécurité dans les élevages

➤ **Au niveau du pouvoir public**

- Promouvoir les bonnes pratiques et sensibiliser les acteurs aux risques liés à l'antibiorésistance et à la nécessité de préserver l'efficacité des antibiotiques.
- Développer l'alternative permettant d'éviter le recours à l'antibiothérapie probabiliste
- Renforcer l'encadrement de la prescription vétérinaire et réduire les pratiques à risque
- Conforter les dispositifs de surveillance de l'usage des antibiotiques et de l'antibiorésistance
- Promouvoir les campagnes de formation des acteurs de la filière
- Baisser le coût des prestations vétérinaires afin de faciliter la bonne pratique dans la filière

➤ **Au niveau de la population**

- Eviter l'utilisation de la matière de bovin dans la pratique de l'agriculture
- Eviter les contacts directs avec la matière fécale des bovins
- Faire cuire suffisamment les aliments d'origine bovine avant de les consommer

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbassi M. S., Kilani H., Zouari M., Mansouri R., El Fekih O., Hammami S. & Chehida N. B., 2017.-** Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology Antimicrobial Resistance in *Escherichia Coli* Isolates from Healthy Poultry, Bovine and Ovine in Tunisia: A Real Animal and Human Health Threat. *Journal of Clinical Microbiology and Biochemical Technology*, **3**: 19-23.
- Abouzeed Y. M., Hariharan H., Poppe C. & Kibenge F. S.B., 2000.-** Characterization of *Salmonella* Isolates from Beef Cattle, Broiler Chickens and Human Sources on Prince Edward Island. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **23**: 253-66.
- Acha P. N. & Szyfres B., 2001.-** Salmonellosis. In Zoonoses and Communicable Diseases Common to Man and Animals, 3rd edition, Washington D.C, Etats Unis, **246 P**.
- Achá S. J., Kuhn I., Jonsson P., Mbazima G., Katouli M. & Mollby R. S., 2004.-** Studies on calf diarrhoea in Mozambique : prevalence of bacterial pathogens. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **45** :27-36.
- Adams D. E., Shekhtman E. M., Zechiedrich E. L., Schmid M. B. & Cozzarelli N. R., 1992.-** The role of topoisomerase IV in partitioning bacterial replicons and the structure of catenated intermediates in DNA replication. *Cell*, **71**: 277-88.
- Ajayi A. O., Oluyeye A. O., Olowe O. A. & Famurewa O., 2011.-** Antibiotic Resistance among Commensal *Escherichia Coli* isolated from Faeces of Cattle in Ado-Ekiti, Nigeria. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **10**: 174-79.
- Akam A, Khelef D, Kaidi R, Othmani A, Lafri M. & Tali-Maamar H, Rahal Kh., Tahrat N., Chirila F., Cozma V. & ABdul-Hussain M. S., 2004.-** Frequency of *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli* K99 and *Salmonella* spp. isolated from healthy and unhealthy calves in six breeding farms from Mitidja, Algeria (preliminary results). *Scientia Parasitologica*, **5** :13-21.
- Akoachere J-F.T. K., Tanih N. F., Lucy M Ndip. & Ndip R. N., 2009.-** Phenotypic Characterization of *Salmonella* Typhimurium Isolates from Food-Animals and Abattoir Drains in Buea, Cameroon. *Journal of Health, Population and Nutrition*, **27** : 612-618.
- Aktas Z., Day M., Kayacan C. B., Diren S. & Threlfall E. J., 2007.-** Molecular characterization of *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Enteritidis by plasmid analysis and pulsed-field gel electrophoresis. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **30**: 541-545.
- Al Hilali S. A. & Almohana A. M., 2011.-** Occurrence and molecular characterization of enteropathogenic *Escherichia coli* serotypes isolated from children with diarrhoea in Najaf, Iraq. *Indian Journal of Medical Microbiology*, **29**: 383-388.

- Alam M. J., Ranter D. G., Ives S. E., Thomson D. U., Sanderson M. W., Hollis L. C. & Nagaraja T. G., 2009.-** Potential associations between fecal shedding of *Salmonella* in feedlot cattle treated for apparent respiratory disease and subsequent adverse health outcomes. *Veterinary Research*, **40**: 1-13.
- Alam M. J., Ranter D. G., Ives S. E., Thomson D. U., Sanderson M. W., Hollis L. C. & Nagaraja T. G., 2009.-** Potential associations between fecal shedding of *Salmonella* in feedlot cattle treated for apparent respiratory disease and subsequent adverse health outcomes. *Veterinary Research*, **40**: 1-13.
- Alborn W., Allen N. & Preston D., 1991.-** Deptomycin disrupts membrane potential in growing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **31** :1093-1099.
- Alemayehu D., Molla B. & Muckle A., 2003.-** Prevalence and Antimicrobial Resistance Pattern of *Salmonella* Isolates from Apparently Healthy Slaughtered Cattle in Ethiopia.” *Tropical Animal Health and Production*, **35**: 309-319.
- Ambler R. P., 1980.-** The structure of b-lactamases. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, **289**: 321-331.
- Angulo F. J., Nargund V. N. & Chiller T. C., 2004.-** Evidence of an association between use of anti-microbial agents in food animals and anti-microbial resistance among bacteria isolated from humans and the human health consequences of such resistance. *Journal of veterinary medicine. B, Infectious diseases and veterinary public health*, **51**:374-379.
- Anonyme 1, 2014.-** Plan stratégique de développement de l'élevage, de la pêche et de l'aquaculture en Côte d'Ivoire (PSDEPA 2014-2020). Rapport du Ministère des Ressources Animales et Halieutiques (MIRAH), Abidjan, Côte d'Ivoire, **102 P**.
- Anonyme 2., 2003.-** Rapport national sur l'état des ressources zoogénétiques, Mars 2003. Rapport du Ministère de la Production Animale et des Ressources Halieutiques (MIPARH), Abidjan, Côte d'Ivoire, **80 P**.
- Arlet G. & Philippon A., 2003.-** Les nouvelles bêtalactamases à l'aube du troisième millénaire. *Revue Française des Laboratoires*, **352**: 41-55.
- Armstrong G. L., Hollingsworth J. & Morris J. G. J., 1996.-** Emerging foodborne pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiologic Reviews*, **18**: 29-51.
- Arsenault J. , Letellier A., Quessy S & Boulianne M., 2007.-** Prevalence and risk factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. carcass contamination in broiler chickens slaughtered in Quebec, Canada. *Journal of food protection*, **70**: 1820-1828.

- Ashkenazi S., Cleary T. G., Murray B. E., Wanger A. & Pickering L. K., 1988.-** Quantitative analysis and partial characterization of cytotoxin production by *Salmonella* strains. *Infection and Immunity*, **56**: 3089-3094.
- Assoumy A, M., 2009.-** Contribution à la codification, à l'analyse des statistiques d'importation et à l'étude de qualité des médicaments vétérinaires en Côte d'Ivoire : cas d'Abidjan, d'Anyama et de Bingerville. Thèse de médecine Vétérinaire, Ecole inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar, Sénégal, **232 P.**
- Awosile B., McClure J., Sanchez J., Rodriguez-Lecompte J. C., Keefe G. & Heider L C., 2018.-** *Salmonella Enterica* and Extended-Spectrum Cephalosporin-Resistant *Escherichia coli* Recovered from Holstein Dairy Calves from 8 Farms in New Brunswick, Canada. *Journal of Dairy Science*. **101**: 3271-3284.
- Bagré T. S., Samandoulougou M., Traoré S., Illy D., Bsadjo-Tchamba G., Bawa-ibrahim H., Bouda S .C., Traoré A. S. & Barro N., 2015.-** Détection Biologique Des Résidus d ' Antibiotiques Dans Le Lait et Produits Laitiers de Vache Consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*. **87** : 8105-8112.
- Baguy O. M., Guessennd K. N., Coulibaly N. D., Saraka N. D., Coulibaly K J., Koffi-N. R., Ouattara G. D., Gbonon V., Tiekoura K. B. & Dosso M., 2014.-** First Report of Qnr Genes in Multidrug Resistant (ESBL) Enterobacteria Isolated from Different Ecosystems in Abidjan , Ivory Coast. *International Journal of Biological Sciences and Applications*, **1**: 170-175.
- Bakr W. M.; El Attar L. A.; Ashour M. S. & El Toukhy A. M., 2011.-** The dilemma of widal test - which brand to use? a study of four different widal brands: a cross sectional comparative study. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **10**: 7.
- Ball P., 2000.-** Quinolone generations: natural history or natural selection? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **46**: 17-24.
- Baquero F., 2011.-** The 2010 Garrod Lecture: the dimensions of evolution in antibiotic resistance: ex unibus plurum et ex pluribus unum. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **66**: 1659-1672.
- Barton M. D., 1998.-** Does the use of antibiotics in animals affect human health? *Australian Veterinary Journal*, **76**: 177-180.
- Baudry C & Brézellec H., 2006.-** Microbiologie, immunologie, 2^{ème} éditions, Porphyre, France, **126 P.**
- Bauer A. J., Kirby W. M. M., Sherris J. C. & Turck M., 1966.-** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, **45** : 493-496.

- Bäumler A. J., Tsolis R. M., Bowe F. A., Kusters J. G., Hoffmann S. & Heffron F., 1996.-** The pef fimbrial operon of *Salmonella typhimurium* mediates adhesion to murine small intestine and is necessary for fluid accumulation in the infant mouse. *Infection and Immunity*, **64**: 61-68.
- Bäumler A., Tsolis R., Ficht T. & Adams L., 1998.-** Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infection and Immunity*, **66**: 4579-4587.
- Beach J. C., Murano E. A., Acuf G. R., 2002.-** Serotyping and Antibiotic Resistance Profiling of *Salmonella* in Feedlot and Nonfeedlot Beef Cattle. *Journal of Food Protection*, **65**: 1694-1699.
- Bebrone C., Lassaux P., Vercheval L., Sohier J-S., Jehaes A., Sauvage E. & Galleni M., 2010.-** Current challenges in antimicrobial chemotherapy. *Drugs*, **70**: 651-679.
- Berends B., Urlings H., Snijders J. & Van Knapen F., 1996.-** Identification and quantification of risk factors in animal management and transport regarding *Salmonella spp.* In pigs. *International Journal of Food Microbiology*, **30**: 37-53.
- Berge A., Atwill E. & Sischo W., 2003.-** Assessing antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli* in young calves using cluster analysis techniques. *Preventive veterinary medicine*, **61**: 91-102.
- Berthier D., Quere R., Thevenon S., Belensaga D., Piquemal D., Marti J. & Maillard J. C., 2003.-** Serial analysis of gene expression (SAGE) in bovine trypanotolerance: preliminary results. *Genetic Selection Evolution*, **35**: 35-47.
- Bettelheim K. A., 2007.-** The non-O157 Shiga-toxigenic (verocytotoxigenic) *Escherichia coli*; under-rated pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*, **33**: 67-87.
- Beutin L., Bulte M., Weber A., Zimmerman S., & Gleier K., 2000.-** Investigation of human infections with verocytotoxin-producing strains of *Escherichia coli* (VTEC) belonging to serogroup O118 with evidence for zoonotic transmission. *Epidemiology and Infection*, **125**:47.
- Bhan M. K, Bahl R, Bhatnagar S., 2005.-** Typhoid and paratyphoid fever. *Lancet*, **366** :749-762
- Biagui C., 2002.-** Utilisation des médicaments vétérinaires dans la région de Dakar : Qualité de la viande travers la recherche de residus de substances à activité antimicrobienne (Antibiotiques). *Thèse Médecine Vétérinaire*, Ecole inter-etats des Sciences et Medecine vétérinaires, Dakar, Sénégal, **153 P.**
- Bidet P., Bonarcorsi S. & Bingen E., 2012.-** Facteurs de pathogénicité et physiopathologie des *Escherichia coli* extra-intestinaux. *Archives de Pédiatrie*, **19** : S80–S92.
- Blanco J., Blanco M., Blanco J. E., Mora A., Gonzalez E. A., Bernardez M. I, Alonso M. P., Coira A., Rodriguez A., Rey J., Alonso J. M. & Usera M. A., 2003.-** Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain prevalence, serotypes, and genes of O157: H7 and non-O157

- VTEC in ruminants, raw beef products and humans. *Society for Experimental Biology and Medicine*, **228**: 345-351.
- Blanco M., Blanco J., Blanco J. E. & Ramos J., 1993.-** Enterotoxigenic, verotoxigenic, and necrotoxicogenic *Escherichia coli* isolated from cattle in Spain. *American Journal of Veterinary Research*, **54**: 1446-1451.
- Boerlin P. & Reid-Smith R. J., 2008.-** Antimicrobial resistance: its emergence and transmission. *Animal health research reviews*, **9**: 115-126.
- Bonardi S., Maggi E., Bottarelli A., Pacciarini M. L., Ansuini A., Vellini G., Morabito, S. & Caprioli A., 1999.-** Isolation of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Veterinary Microbiology*, **67**: 203-211.
- Bonnet R., 2004.-** Growing Group of Extended-Spectrum Beta-Lactamases: The CTX-M Enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48** : 1-14.
- Borah V.V., Bora P., Roy M. & Saikia K. k., 2014.-** High Prevalence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli* isolated from fecal sample of Cows and assessment of antibacterial efficacy of indigenous medicinal plants. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering*, **1** : 1-.
- Borrego J. J., Castro D., Jimenez Notario M., Luque A., Martinez-Manzanares E., Rodriguez A. C. & Picazo J. J., 1992.-** Comparaison of epidemiological markers of *Salmonella* strains isolated from different sources in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, **30**: 3058-3064.
- Bouhaddioui B., Ben A. R. & Boudabous A., 1998.-** Caractérisation de souches de *Escherichia coli* isolées chez l'homme et dans le milieu marin. *Bactériologie*, **1922** :4.
- Boukef I., Elbour M., Mraouna R., Elmejri S., Chahad O., Bjeoui B. C., Sammeri C. R., Ben Aissa R. & Boudabous A., 2007.-** Etude de la distribution des *Escherichia coli* enteropathogènes dans la lagune de Bizerte (nord-Tunisie). *Rapport. Communication. Intérieure, Mer Méditerranéenne*, **351 P**.
- Bouzari S., Asadi Karam M. R., Oloomi M., Aslani M. M. & Jafari A., 2010.-** Phenotypic and Genotypic Characterization of Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) strains in Tehran. *Iranian. Journal of Microbiology*, **2**: 3-7.
- Braden C. R. 2006.-** *Salmonella* Enterica Serotype Enteritidis and Eggs: A National Epidemic in the United States." *Clinical Infectious Diseases*, **43**: 512-517.
- Bradford P. A., 2001.-** *Extended-spectrum* bêtalactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, **14**: 933-951.

- Bradford P. A., Petersen P. J., Fingerman I. M. & David G. White., 1999.-** Characterization of Expanded-Spectrum Cephalosporin Resistance in *E. coli* Isolates Associated with Bovine Calf Diarrhoeal Disease. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **44** : 607-610.
- Brandl M. T., 2006.-** Fitness of human enteric pathogens on plants and implications for food safety. *Annual Review of Phytopathology*, **44**: 367-392.
- Braun V., 2003.-** Iron uptake by *Escherichia coli*. *Front in Bioscience*, **8**: S1409- S1421.
- Brenner F. W., Villar R. G., Angulo F. J., Tauxe R. & Swaminathan B., 2000.-** *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, **38**: 2465-2467.
- Brophy P.O., Caffrey P.J. & Collins J. D., 1977.-** Sensitivity patterns of *Escherichia coli* isolated from calves during and following prophylactic chlortetracycline therapy. *British Veterinary Journal*, **133**: 340- 345.
- Bryskier A., 2005.-** Fluoroquinolones, Brysker A, ed. *Antimicrobial Agents: Antibacterials and Antifungals*. Ed ASM Press, Washington, DC, **1458 P**.
- Buonomo A, Nucera E, De Pasquale T, Pecora V, Lombardo C. & Sabato V., 2011.-** Tolerability of aztreonam in patients with cell-mediated allergy to β -lactams. *International Archives of Allergy and Immunology*, **155**: 9-155.
- Bush K, Jacoby G. A. & Meideros A. A., 1995.-** A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structures. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **39**: 1211-1233.
- Bush, K., 2001.-** New β -lactamases in Gram-Negative Bacteria: Diversity and Impact on the Selection of Antimicrobial Therapy.” *Clinical Infectious Diseases*, **32**: 1085-1089.
- Butt A. A., Aldridge K. E. & Sanders C. V., 2004.-** Infections related to the ingestion of seafood Part I: Viral and bacterial infections. *Lancet Infectious Diseases*, **4**: 201-212.
- Cabaraux J. F., Istasse L., Hornick J. L., Dufrasne I. & M. Roux., 2005.-** La Production de Viande Bovine à Partir de Femelles de Réforme. *INRA Productions Animales*, **18** : 37-48.
- Cabaraux J.-F., Istasse L., Hornick J.-L, Dufrasne I & Roux M., 2005.-** La Production de Viande Bovine à Partir de Femelles de Réforme. *INRA Productions Animales*, **18** : 37-48.
- Cambau E, Matrat S. & Pan X. -S., 2009.-** Target specificity of the new fluoroquinolone besifloxacin in *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **63**: 443-450.
- Carattoli A., 2009.-** Minireview resistance plasmid families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **53** : 2227-2238.

- Cassels F. J. & Wolf M. K., 1995.-** Colonization factors of diarrheagenic *E. coli* and their intestinal receptors. *Journal of Industrial Microbiology*, **15**: 214-26.
- Cattoir V, Lesprit P. & Lascols C., 2006.-** In vivo selection during ofloxacin therapy of *Escherichia coli* with combined topoisomerase mutations that confer high resistance to ofloxacin but susceptibility to nalidixic acid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **58**: 1054-1057.
- Cattoir V. & Nordmann P., 2009.-** Plasmid-mediated quinolone resistance in gram negative bacterial species: an update. *Current Medicinal Chemistry*, **16**: 1028-1046.
- Cattoir V., 2012.-** Quinolones: de l'antibiogramme aux phénotypes de résistance. *Revue Francophone des Laboratoire*, **445**: 79-87.
- Cavaco L. M., Hasman H., Xia S. & Aarestrup F. M., 2009.-** *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* sérovar *Kentucky* and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **53**: 603-608.
- Cavallo J-D., Fabre R., Jehl F., Rapp C. & Garrabé E., 2004.-** Bêtalactamines. *EMC-Maladies Infectieuses*, **1**: 129-202.
- Cerniglia C. E. & Kotarski S., 2005.-** Approaches in the safety evaluations of veterinary antimicrobial agents in food to determine the effects on the human intestinal microflora. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **28**: 3-20.
- Chamany S., Schulkin J., Rose C. E., Riley L. E. & Besser R. E., 2005.-** Knowledge, Attitudes, and Reported Practices among Obstetrician- Gynecologists in the USA Regarding Antibiotic Prescribing for Upper Respiratory Tract Infections.” *Infectious Disease in Obstetrics and Gynecology*, **13**: 17-24.
- Chapman P. A., Siddons C. A. & Gerdan M. A. T., 1997.-** A 1-year study of *E. coli* o157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiology and Infection*, **119**: 245-250.
- Chatellet M-C. 2007.-** Modalites d'utilisation des antibiotiques en élevage Bovin : Enquete en Anjou, France, Thèse de Doctorat de l'école nationale vétérinaire d'Alfort, France, **231 P**.
- Chauvin C., 2009.-** Usage des antibiotiques et résistance bactérienne en élevage de volailles. Thèse de doctorat, Université Rennes1, France, **25 P**.
- Chen C. R., Malik M., Snyder M. & Drlica K., 1996.-** DNA gyrase and topoisomerase IV on the bacterial chromosome : quinolone -induced DNA cleavage. *Journal of Molecular Biology*, **258** :627-637.
- Chiu C. H. & Ou J. T., 1996.-** Rapid identification of *Salmonella* serovars in feces by specific detection of virulence genes, *invA* and *spvC*, by an enrichment broth culture-multiplex PCR combination assay. *Journal of Clinical Microbiology*, **34**: 2619-2622.

- Cho Y. & Yoon K. J., 2014.-** An overview of calf diarrhea-infectious etiology, diagnosis, and intervention. *Journal of Veterinary Science*, **15** :1-17.
- Chopra I. & Roberts M., 2001.-** Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **65**: 232-260.
- Chuanchuen R., Ajariyakhajorn K., Koowatananukul C., Wannaprasat W., Khemtong S. & Samngammim S., 2010.-** Antimicrobial Resistance and Virulence Genes in *Salmonella Enterica* Isolates from Dairy Cows. *Foodborne Pathogens and Disease*. **7**: 63-69.
- Connor B. A. & Schwartz E., 2005.-** Typhoid and paratyphoid fever in travellers. *The Lancet Infectious Diseases*, **5**: 623-628.
- Conrad C., Stanford K., McAllister T., Thomas J. & Reuter T., 2016.-** Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and current trends in diagnostics. *Animal Frontiers*, **6**: 37-43.
- Cookson S. T. & Nataro J. P., 1996.-** Characterization of HEp-2 cell projection formation induced by diffusely adherent *Escherichia coli*, *Microbial Pathogenesis*, **21**: 421-434.
- Cornelis G., 2000.-** Type III secretion: a bacterial device for close combat with cells of their eukaryotic host. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **355**: 681-693.
- Corpet D.E., 1987.-** Antibiotic residues and drug resistance in human intestinal flora. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **31**: 587-593.
- Cossart P. & Sansonetti P. J., 2004: -** Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science*, **304**: 242-248.
- Coulibaly S., 1980.-** La difficile mais nécessaire intégration de l'élevage zébu dans le monde rural sénoufo. Mémoire de Master, Institut de Géographie tropicale, Université nationale, Abidjan, Côte-d'Ivoire, **92** P.
- Coura F. M., Lage A. P. & M. B. Heinemann., 2014.-** *Escherichia coli* pathotypes associated with diarrhea in calves: an update. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, **34** :811.
- Couturier M., Bex F., Bergquist P. L & Maas W.K., 1988.-** Identification and classification of bacterial plasmids. *Microbiology Reviews*, **52**: 375-395
- Croxen M. A. & Finlay B. B., 2010.-** Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. *Nature Reviews Microbiology*, **8**: 26-38.
- Dahms C., Hübner N. O., Kossow A., Mellmann A., Dittmann K., Kramer A. & Lierz M., 2015.-** Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. *Plos one*, **10**: e0143326.

- Dargatz D. A., Fedorka-Cray P. J., Ladely S. R., Kopral C. A., Ferris K. E. & Headrick M. L., 2003.-** Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella Spp.* isolates from US cattle in feedlots in 1999 and 2000. *Journal of Applied Microbiology*, **95**: 753-61.
- Datta N. & Kontomichalou P., 1965.-** Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. *Nature*, **208**: 239-41.
- Dauga C., Zabrovskaja A & Grimont P. A. D., 1998.-** Restriction fragment length polymorphism analysis of some flagellin genes of *Salmonella enterica*. *Journal of Clinical Microbiology*, **36**: 2835-2843.
- De Jong A., Bywater R., Butty P., Deroover E., Godinho K., Klein U., Marion H., Simjee S., Smets K., Thomas V., Valle M. & Wheadon A., 2009.-** A Pan-European Survey of Antimicrobial Susceptibility towards Human-Use Antimicrobial Drugs among Zoonotic and Commensal Enteric Bacteria Isolated from Healthy Food-Producing Animals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **63**: 733-744.
- De Jong B., Andersson Y. & Ekdahl K., 2005.-** Effect of regulation and education on reptile associated salmonellosis. *Emerging Infectious Diseases*, **11**: 398-403.
- De Lastours V. & Fantin B., 2014.-** Résistance aux fluoroquinolones en 2013 : quel impact pour l'interniste ? *Revue de Médecine Interne*, **4781**: 1-8.
- De Masi L. G., Sturey C. D., Lieberman J. A. & Donnenberg M. S., 2013.-** The type 2 secretion and type 4 pilus systems of *Escherichia coli*. In *Escherichia coli* Pathotypes and Principles of Pathogenesis. 2nd Edition. **Donnenberg M. S** editor. Baltimore: *Academic Press*, **P**: 387-416.
- Dechet A. M., Scallan E., Gensheimer K., Hoekstra R., Gunderman-King J., Lockett J., Wrigley D., Chege W. & Sobel J., 2006.-** Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium definitive type 104 infection linked to commercial ground beef, northeastern United States, 2003-2004. *Clinical Infectious Diseases*, **42**: 747-752
- DeFrancesco K. A., Cobbold, R. N., Rice D. H., Besser T. E. & Hancock D. D., 2004. -** Antimicrobial resistance of commensal *Escherichia coli* from dairy cattle associated with recent multi-resistant salmonellosis outbreaks. *Veterinary Microbiology*, **98**: 55-61.
- Demers B. & Sansonetti P., 1998.-** Mécanisme moléculaires des diarrhées bactériennes. *Medecine Therapeutique Pediatrie*, **1**: 15-24.
- Di Labio E., Regula G., Steiner A., Miserez R., Thomann A. & Ledergerber U., 2007.-** Antimicrobial resistance in bacteria from Swiss veal calves at slaughter. *Zoonoses Public Health*, **54**: 344-352.

- Di Labio E., Regula G., Steiner A., Miserez R., Thomann A. & Ledergerber U., 2007.-** Antimicrobial resistance in bacteria from Swiss veal calves at slaughter. *Zoonoses Public Health*, **54**: 344-352.
- Diallo Y., 2007.-** Les Peuls, les Sénoufo et l'État au nord de la Côte d'Ivoire. Problèmes fonciers et gestion du pastoralisme. *Bulletin de l'APAD*. URL : <http://journals.openedition.org/apad/1131> . Consulté le 30 Septembre 2016.
- Dibner J. J. & Richards J. D., 2005.-** Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poultry Science.*, **84**: 634-643.
- Diez-Gonzalez F., Todd R. C., Menas G. K. & James B. R., 1998.-** Grain Feeding and the Dissemination of Acid-Resistant *Escherichia coli* from cattle. *Science*. **281**: 1666-1668.
- Djakaridja B., Yao K. P., Gragnon B. G., Acapovi-Yao G., Mavoungou., N'goran K. E., 2014.-** Situation épidémiologique des hémoparasites des bovins dans deux zones d'élevage de la Cote d'Ivoire: cas des anciennes régions des Savanes et de la vallée du Bandama. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **165**: 297-303.
- Dolejska M., Jurcickova Z., Literak I., Pokludova L., Bures J., Hera A., Kohoutova L., Smola J. & Cizek A., 2011.-** IncN Plasmids Carrying BlaCTX-M-1 in *Escherichia coli* isolates on a Dairy Farm. *Veterinary Microbiology*, **149** : 513-16.
- Domínguez C., Gómez I. & Zumalacárregui J., 2002.-** Prevalence of *Salmonella* and *Campylobacter* in retail chicken meat in Spain. *International Journal of Food Microbiology*, **72**: 165-168.
- Dong P., Zhu L., Mao Y., Liang R., Niu L., Zhang Y., Li K. & Luo X., 2014.-** Prevalence and Profile of *Salmonella* from Samples along the Production Line in Chinese Beef Processing Plants. *Food Control*, **38** : 54-60.
- Donnenberg M. S., 2005.-** Enterobacteriaceae. In Principales and Practice of Infectious Diseases. Mandell G. L, Bennett J. E, Dolin R: Mandell, Douglas, and bennett's, editors. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone, **P**: 2567-2586.
- Doublet B., Boyd D., Mulvay M. & Cloeckaerta., 2005.-** The *Salmonella* genomic island is an integrative mobilizable element. *Molecular Microbiology*, **55**: 1911-1924.
- Drieux L., Brossier F., Sougakoff W. & Jarlier V., 2008.-** Phenotypic detection of extended-spectrum b-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*, **14**: 90-103.
- Drlica K. & Zhao X., 1997.-** DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**: 377-392.

- Ducluzeau R & Raibaud P., 1985.-** Microbial ecology of the digestive system. *Agressologie: revue internationale de physio-biologie et de pharmacologie appliquées aux effets de l'agression*, **26** :161- 163.
- Dutta S., Scientist G., Sudhanthirakodi S., Jain P. & Chattopadhyay U K., 2016.-** Non-Typhoidal *Salmonella* Isolates from Livestock and Food Samples, Kolkata, India Conclusion: High Prevalence of NTS in Poultry and Meat Samples in Kolkata Poses a Potential Risk of Foodborne Disease in Humans. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*. **66**: 113-120.
- Eagar H., Swan G. & Vuuren M. V., 2012.-** A Survey of Antimicrobial Usage in Animals in South Africa with Specific Reference to Food Animals. *Journal of the South African Veterinary Association*, **83**: 1-8.
- Economou A., Christie P. J., Fernandez R. C., Palmer T., Plano G. V. & Pugsley A. P., 2006.-** Secretion by numbers : protein traffic in prokaryotes. *Molecular Microbiology*, **62**: 308-319.
- Edrington T. S., Hume M. E., Looper M. L., Schultz C. L., Fitzgerald A.C., [Callaway T. R.](#), [Genovese K. J.](#), [Bischoff K. M.](#), [McReynolds J. L.](#), [Anderson R. C.](#) & [Nisbet D. J.](#), 2004.-** Variation in the Faecal Shedding of *Salmonella* and *E. Coli* O157:H7 in Lactating Dairy Cattle and Examination of *Salmonella* Genotypes Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *Letters in Applied Microbiology*, **38** : 366-372.
- Egualé T., Engidawork E., Gebreyes W.A., Asrat D., Alemayehu H., Medhin G., Johnson R. P. & Gunn J. S., 2016.-** Fecal Prevalence, Serotype Distribution and Antimicrobial Resistance of *Salmonellae* in Dairy Cattle in Central Ethiopia. *BMC Microbiology*, **16**: 20.
- Elhani D., 2012.-** Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. *Annales de biologie clinique*, **70**: 117-140
- Elhani D., 2012.-** The widening challenge of extended spectrum beta-lactamases. *Annales de biologie clinique*, **70**:117-140.
- El-Seedy, F.R., A.H. Abed, H.A. Yanni, and S.A.A. Abd El-Rahman. 2016.-** Prevalence of *Salmonella* and *E. coli* in Neonatal Diarrheic Calves. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, **5** : 45-51.
- Eng S. K., Pusparajah P., Ab Mutalib N. S., Ser H. L., Chan K. G. & Lee L. H., 2015.-** *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, **8**: 284-293.
- Epe B. & Woolley P., 1984.-** The binding of 6-demethylchlortetracycline to 70S, 50S and 30S ribosomal particles: A quantitative study by fluorescence anisotropy. *EMBO Journal*, **3**:121-126.

- Erb A., Stürmer T., Marre R. & Brenner H., 2007.-** Prevalence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*: Overview of Geographical, Temporal, and Methodological Variations. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **26**: 83-90.
- Escherich T., 1885.-** the bacteria of neonate and breastfed infant. *Reviews of infectious diseases*, **11**: 352-356.
- Fairbrother J. M. & Nadeau E., 2010.-** Colibacillosis. In Infectious and Parasitic Diseases of Livestock, 2nd Edition. Lefèvre P. C, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G. editor. Lavoisier, P : 917-945.
- Falagas M. E., Rafailidis P. I. & Matthaiou D. K., 2010.-** Resistance to polymyxins: Mechanisms, frequency and treatment options. *Drug Resistance Updates*. **13** :132-138.
- Faruk P., Hulya T., Dilek O. & Hakan Y., 2016.-** Molecular characterization of *ESBL*-producing *Escherichia coli* isolated from healthy cattle and sheep. *Acta Veterinaria-Beograd*, **66**: 520-533.
- Faye K., 2005.-** Le point sur l'usage vétérinaire des antibiotiques impact sur l'antibiorésistance des bactéries en santé animale et humaine. *Antibiotiques*, **7**: 45-52.
- Feye K M., Anderson K. L., Scott M. F., McIntyre D. R. & Carlson S. A., 2016.-** Inhibition of the Virulence, Antibiotic Resistance, and Fecal Shedding of Multiple Antibiotic-Resistant *Salmonella* Typhimurium in Broilers Fed Original XPC TM. *Poultry Science*, **95**: 2902-2910.
- Fluit A. D., Visser M. R. & Schmitz F. J., 2001.-** Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Revue*, **14** : 836-871.
- Fresh G. et Schwarz S. J., 2000.-** Molecular analysis of tetracycline resistance in *Salmonella* enterica subsp. enterica serovars Typhimurium, Enteritidis, Dublin, Cholerasius, Hadar and Saint paul: construction and application of specific gene probes. *Applied Microbiology*, **89**: 633-641.
- Gale E., Cundliffe E., Reynolds P. E., Richmond M. H. & Waring M. J., 1981.-** The molecular basis of antibiotic action. New York, USA, **670 P**.
- Gassama S. A., Wane A. A., Canu N. A., Uzzau S., Aaidara-Kane A. & Rubino S., 2006.-** Characterization of virulence factors in the newly described *Salmonella* enterica serotype *Keurmassar* emerging in Senegal (sub-Saharan Africa). *Epidemiology and Infection*, **134** : 741-743.
- Gbodjo Z. L., Sokouri D. P., Sery G. B., N'Goran K. E., Fofana I. J., Soro B. & N'Guetta A. S. P., 2014.-** Analysis of pathological constraints and productivity of cattle in traditional environment in northern Côte d'Ivoire. *International Journal of Agricultural and Soil Science*, **2**: 59-68.

- Geser N., Stephan R. & Hächler H., 2012.-** Occurrence and Characteristics of Extended- Spectrum β -Lactamase (ESBL) Producing Enterobacteriaceae in Food Producing Animals, Minced Meat and Raw Milk. *BMC Veterinary Research*, **8** : 21.
- Glynn A. A, Howard C. J., 1970.-** The Sensitivity to Complement of Strains of *Escherichia coli* related to their K Antigens. *Immunology*, **18**: 331-346.
- Goldstein F. W., Emirian M. F., Coutrot A. & Acar J. F., 1990.-** Bacteriostatic and bactericidal activity of azithromycin against *Haemophilus influenzae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **25** :25-28.
- Gordon D. M. & Cowling A., 2003.-** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology*, **149** : 3575-3586.
- Gorman R. & Adley C C., 2003.-** Nalidixic Acid-Resistant Strains of *Salmonella* Showing Decreased Susceptibility to Fluoroquinolones in the Mid-West Region of the Republic of Ireland. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **51** : 1047-1049.
- Goutard F. L., Bordier M., Calba C., Erlacher-Vindel E., Góchez D., Balogh K. D., Benigno C., Kalpravidh W., Roger F. & Vong S., 2017.-** Antimicrobial Policy Interventions in Food Animal Production in South East Asia. *British Medical Journal Publishing*, **358** : 36-41.
- Gray J. T. & Fedorka-Cray P. J., 2001.-** Survival and infectivity of *Salmonella choleraesuis* in swine feces. *Journal of Food Protection*, **64**: 945-949.
- Griffith R. W., Schwartz K. J. & Meyerholz D. K., 2006.-** *Salmonella*. In Diseases of swine, 9 th Edition. Straw B.E, Zimmerman J. J, D'Allaire S, Taylor D. J (eds.). Ames, Iowa: Blackwell Publishing, **P** : 739-754.
- Grimont P. A. D., Grimont F. & Bouvet P. J. M., 1994.-** *Salmonella*. In Manuel de bactériologie clinique, volume 2. 2e édition. Freyney J, Renaud F, Hansen W, Bollet C. (eds). Paris: Elsevier, **P**: 1017-1042.
- Grimont P., Grimont F. & Bouvet P., 2000.-** Taxonomy of the genus *Salmonella*. In *Salmonella* in Domestic Animals: Wray C., Wray A. (Eds.). Oxon : CABI Publishing. **P**: 1-17.
- Guardabassi L. & Courvalin P., 2006.-** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. Aarestrup F.M. (ed.). Washington: ASM Press, **P**:1-18.
- Guessennd N., Bremont S., Gbonon V., Kacou- N'Douba A., Ekaza E., Lambert T., Dosso M. & Courvalin P., 2008.-** Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire. *Pathologie Biologie*, **56**: 439-446.

- Guibourdenche M., Roggentin P., Mikoleit M., Fields P.I., Bockemuhl J., Grimont P. A. & Weill F. X., 2010.-** Supplement 2003- 2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, **161**: 26-29.
- Guiney DG & Fierer J., 2011.-** The role of the *spv* genes in *Salmonella* pathogenesis. *Frontiers in Microbiology*, **2**: 129.
- Gupta V., 2007.-** An Update on Newer Beta-Lactamases. *The Indian Journal of Medical Research*, **126**: 417-427.
- Gyles C. L., 2007.-** Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. *Journal of Animal Science*, **85**: E45-62.
- Haeggman S., Löfdahl S., Paauw A., Verhoef J. & Brisse S., 2004.-** Diversity and evolution of the class A chromosomal betalactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **48**: 2400-2408.
- Haenni M., Chatre P., Metayer V., Bour M., Signol E., Madec J. Y. & Gay E., 2014.-** Comparative prevalence and characterization of *ESBL*-producing *Enterobacteriaceae* in dominant versus subdominant enteric flora in veal calves at slaughterhouse, France. *Veterinary Microbiology*, **171**: 321- 327.
- Haneda T., Okada N., Nakazawa N., Kawakami, T. & Danbara H., 2001.-** Complete DNA sequence of comparative analysis of the 50-kilobase virulence plasmid of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis. *Infection and Immunity*, **69**: 2612-2620.
- Hanes D., 2003.-** Nontyphoid *Salmonella*. In International Handbook of Foodborne Pathogens. Miliotis N, Bier J. (Eds.). New York: Marcel Dekker, **P**: 137-149.
- Hansen-Wester I., Stecher B. & Hensel M., 2002.-** Type III secretion of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium translocated effectors and SseFG. *Infection and Immunity*, **70**: 1403-1409.
- Harbottle H., Thakur S., Zhao S. & White D. G., 2006.-**Genetics of antimicrobial resistance. *Animal Biotechnology*, **17** : 111-124
- Hartmann A., Locatelli A., Amoureux L., Depret G., Jolivet C., Gueneau E. & Neuwirth C., 2012.-** Occurrence of CTX-M Producing *Escherichia coli* in Soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy Region). *Frontiers in Microbiology*, **3**: 1-7.
- Hennessy T. W., Cheng L. H., Kassenborg H., Ahuja S. D., Mohle-Boetani J., Marcus R., Shiferaw B. & Angulo F. J., 2004.-** Egg consumption is the principal risk factor for sporadic *Salmonella* serotype Heidelberg infections: A case-control study in foodnet sites. *Clinical Infectious Diseases*, **38**: S237-S243.

- Henry D. P., Frost A. J., Samuel J. L., O'Boyle D. A. & Thomson R. H., 1983.-** Factors affecting the survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* in anaerobically fermented pig waste. *Journal of Applied Microbiology*, **55**: 89-95.
- Heyderman R. S, Soriani M. & Hirst T. R., 2001.-** Is immune cell activation the missing link in the pathogenesis of post-diarrhoeal HUS?. *Trends in Microbiology* **9**: 262- 266.
- Hitchcock P. J., Leive L., Makela P. H., Rietschel E. T., Strittmatter W. & Morrison D. C., 1986.-** Minireview: Lipopolysaccharide nomenclature past, present and future. *Journal of Bacteriology*, **166**: 699-705.
- Hohmann E. L., 2001.-** Nontyphoidal salmonellosis. *Clinical Infectious Disease*, **15**: 263-269.
- Hong W., Zeng J. & Xie J., 2014.-** Antibiotic drugs targeting bacterial RNAs. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **4** :258-265.
- Hooper D. C., 2000.-** Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. *Clinical Infectious Diseases*, **31**: S24-S28.
- House D.; Wain J.; Ho V. A.; Diep T. S.; Chinh N. T., Bay P. V.; Vinh H.; Duc M.; Parry C. M.; Dougan G.; White N. J., Hien T. T. & Farrar J. J., 2001.-** Serology of typhoid fever in an area of endemicity and its relevance to diagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*, **39**: 1002-1007.
- Hu L. & Kopecko D. J., 2003.-** Typhoid *Salmonella*. In International handbook of foodborne pathogens. Millotis M.D and Bier J.W, editor. New York: Marcel Dekker, **P**: 151-165.
- Huang X., Yu L., Chen X., Zhi C., Yao X. & Liu Y., 2017.-** High Prevalence of Colistin Resistance and Mcr-1 Gene in *Escherichia coli* isolated from Food Animals in China. *Frontiers in Microbiology*, **8**: 1-5.
- Hudson C. R., Quist C., Lee M. D., Keyes K., Dodson S. V., Morales C., Sanchez S., White D G. & Maurer J. J., 2000.-** Genetic Relatedness of *Salmonella* Isolates from Nondomestic Birds in Southeastern United States. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 1860-1865.
- Hueck C., 1998.-** Type III protein secretion systems in bacterial pathogens of animals and plants. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **62**: 379-433.
- Huletsky A., Knox J. R. & Levesque R. C., 1993.-** Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of third-generation cephalosporins by SHV-type betalactamases probed by site-directed mutagenesis and three-dimensional modeling. *Journal of Biological Chemistry*, **268**: 3690-3697.
- Hummel R., Tschape H. & Witte W., 1986.-** Spread of plasmid-mediated nourseothricin resistance due to antibiotic use in animal husbandry. *Journal of Basic Microbiology*, **8**: 461- 466.

- Hunter P. R., Wilkinson D. C., Catling L. A. & Barker G. C., 2008.-** Meta-Analysis of experimental Data concerning antimicrobial resistance gene transfer rates during conjugation. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**: 6085-6090.
- Igen B., Gürakan G. C. & Özcengiz G., 2002.-** Characterization of *Salmonella* enteritidis isolates of chicken, egg and human origin from Turkey. *Food Microbiology*, **19**: 375-382.
- Igbinsosa I H., 2014.-** Prevalence and Detection of Antibiotic-Resistant Determinant in *Salmonella* Isolated from Food-Producing Animals. *Tropical Animal Health and Production*, **47**: 37-43.
- Ishihara K., Takahashi T., Morioka A., Kojima A., Kijima M., Asai T. & Tamura Y., 2009.-** National Surveillance of *Salmonella* Enterica in Food-Producing Animals in Japan. *Acta Veterinaria Scandinavica*, **51**: 35.
- Izzo M. M., Kirkland P. D., Mohler V. L., Perkins N. R., Gunna A. A. & House J. K., 2011.-** Prevalence of major enteric pathogens in Australian dairy calves with diarrhea. *Australian Veterinary Journal*, **89** :167-73.
- Jacoby G. A., 1994.-** Extrachromosomal resistance in Gram-negative organisms: the evolution of β -lactamase. *Trends Microbiology*, **2**: 357-360.
- Jarlier V., Nicolas M. H., Fournier G. & Philippon A., 1988.-** ESBLs conferring transferable resistance to newer-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of Infectious Diseases*, **10**: 867-878.
- Jerse A., Tall B. D. & Kaper. J.B., 1990.-** A Genetic Locus of Enteropathogenic *Escherichia coli* Necessary for the Production of Attaching and Effacing Lesions on Tissue Culture Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **87**:7839-7843
- Johnson J. R., 1991.-**Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clinical Microbiology Reviews*, **4** : 80-128.
- Johnson R. P., Clarke R. C., Wilson J. B., Read S. C., Rahn K., Renwick S. A., Sandhu K. A., Alves D., Karmali M. A., Lior H., Mcewen S. A., Spika J . S. & Gyles C. L., 1996.-** Growing concerns and recent outbreaks involving Non-0157:H7 serotypes of Verotoxigenic *Escherichia Coli*. *Journal of Food Protection*, **59**: 1112-1122.
- Johnson T. J., Wannemuehler Y. M., Johnson S. J., Logue C. M. & White D. G., 2007.-** Plasmid replicon typing of commensal and pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**: 1976-1983.
- Jones T. F., Ingram L. A., Cieslak, P. R., Vugia, D. J., Tobin-D'Angelo M., Hurd S., Medus C., Cronquist A. & Angulo F. J., 2008.-** Salmonellosis Outcomes Differ Substantially by Serotype. *Journal of Infectious Diseases*. **198**: 109-114.
- Joon D. S. & Kaura Y. K., 1993.-** Isolation and characterization of some of the enterobacteria from diarrhoeic and non-diarrhoeic calves. *Indian Journal of Animal Sciences*, **63** : 373-83.

- Jorgensen W. K., Weilgama D. J., Navaratne M. & Dalglish R. J., 1992.-** Prevalence of *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* at selected localities in Sri Lanka. *Tropical Animal Health and Production*, **24**: 9-14.
- Josephine H. R., Kumar I. & Pratt R. F., 2004.-The Perfect Penicillin? Inhibition of a bacterial DD-peptidase by peptidoglycan-mimetic betalactams. *J. Am. Chem. Soc.* 126:81222-81223
- Juhas M., Van Der Meer J. R., Gaillard M., Harding R. M., Hood D. W & Crook D. W., 2009.-** Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, **33**: 376-393.
- Kagambèga A., Lienemann T., Aulu L., Traoré A. S., Barro N., Siitonen A. & Haukka K., 2013.-** Prevalence and characterization of *Salmonella enterica* from the feces of cattle, poultry, swine and hedgehogs in Burkina Faso and their comparison to human *Salmonella* isolates. *BMC Microbiology*, **13**: 253.
- Kahne D., Leimkuhler C., Lu W. & Walsh C., 2005.-** Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chemical Reviews*. **105** :425-448.
- Kalas V, Volkan E. & Hultgren S. J., 2013.-** Adhesive pili of the chaperone-usher family. In *Escherichia coli* Pathotypes and Principles of Pathogenesis, 2nd Edition. **Donnenberg M. S. editor.** Baltimore: *Academic Press* , **P**: 363-386.
- Kané M., 2008.-** Enregistrement, contrôle et harmonisation des législations sur les médicaments à usage vétérinaire en Afrique de l'Ouest. *Conférence de l'OIE sur les médicaments vétérinaires en Afrique*, 25-27 mars 2008, Dakar, Sénégal, **11 P**.
- Kaneshige T., Yaguchi K. & Ohgitani T., 2009.-** Siderophore Receptor IroN Is an Important Protective Antigen Against *Salmonella* Infection in Chickens. *Avian Diseases*. **53**: 563-67.
- Kaper J. B., Nataro J. P. & Mobley H. L. T., 2004.-** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, **2**:123-140.
- Katz L. & Ashley G. W., 2005.-** Translation and protein synthesis: macrolides. *Chemical Reviews*, **105** :499-528.
- Kauffman F., 1944.-** Zur Serologie der Coli-Gruppe. *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica*, **21**: 20- 45.
- Kauffmann F., 1947.-** The serology of the *E. coli* group. *Journal of Immunology*, **57**: 71-100.
- Kempf I, Fleury M. A., Drider D., Bruneau M., Sanders P., Chauvin C., Madec J. Y. & Jouy E., 2013.-** What Do We Know about Resistance to Colistin in Enterobacteriaceae in Avian and Pig Production in Europe? *International Journal of Antimicrobial Agents*, **42** : 379-383.
- Kempf I, Jouy E. & Chauvin C., 2016.-**“Colistin Use and Colistin Resistance in Bacteria from Animals.” *International Journal of Antimicrobial Agents*, **48**: 598-606.

- Kesteman A. S., 2009.-** Influence des facteurs associés à une antibiothérapie de type métaphylactique sur les relations pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (PK/PD) des antibiotiques. Conséquences sur les schémas posologiques et sur l'émergence de résistance. Thèse de Doctorat de l'Université Toulouse III, Toulouse, France, **184 P.**
- Kim P. D., Saegerman C., Doun C., Dinh T. V., Xuan B. H., Dang V. B., Hong N P. & Scippo M. I., 2013. -**Antibiotics, Animal Production, Veterinary Drugs, Red River Delta, Vietnam; Antibiotics, Animal Production, Veterinary Drugs, Red River Delta, Vietnam. *Food and Public Health*, **3** : 247-56.
- Kimura A. C., Reddy V., Marcus R., Cieslak P. R., Mohle-Boetani J. C., Kassenborg, H. D., Segler S. D., Hardnett F. P., Barrett T. & Swerdlow D. L., 2004.-** Chicken consumption is a newly identified risk factor for sporadic *Salmonella* enterica serotype Enteritidis infections in the United States: a case control study in FoodNet sites. *Clinical Infectious Diseases*, **38**: 244-252.
- Kirk M. D., McKay I., Hall G. V., Dalton C. B., Stafford R., Unicomb L. & Gregory J., 2008.-** Food safety: Foodborne disease in Australia: The OzFoodNet experience. *Clinical Infectious Diseases*, **47**: 392-400.
- Kobayashi H., Shimada J., Nakazawa M., Morozumi T., Pohjanvirta T., Pelkonen S. & Yamamoto K., 2001.-** Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. **67**:484-489.
- Korsak N., Clinquart A. & Daube G., 2004.-** *Salmonella spp* dans les denrées alimentaires d'origine animale : un réel problème de santé publique ? *Annales de médecine vétérinaire*, **148**: 174-193.
- Kouablé B B N & Tré B T C O., 2014.-** Evolution des exportations du bétail malien suite aux récentes crises. Rapport USAID, Côte d'Ivoire, **49 P.**
- Kuvandik C., Karaoglan I., Namiduru M., Baydar I., 2009.-** Predictive value of clinical and laboratory findings in the diagnosis of the enteric fever. *The New Microbiologica*, **32**: 25-30.
- Labro M.T., 2012.-** Immunomodulatory effects of antimicrobial agents. Part I: antibacterial and antiviral agents. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, **10**: 319-340.
- Lancelot R., ZundeL E. & C Ducrot., 2011.-** Spécificités de La Santé Animale En Régions Chaudes : Le Cas Des Maladies Infectieuses Majeures En Afrique. *INRA Productions Animales*, **24** : 65–76.

- Le Guen T., 2002.-** Les barrages du Nord de la Côte d'Ivoire : développement socio-économique et état sanitaire des populations. Thèse de Doctorat de l'Université de Bretagne Occidentale, Brest, France, **467 P.**
- Le Minor C. & Richard C., 1993.-** Méthodes de laboratoire pour identification des entérobactéries. Institut Pasteur, France, **217 P.**
- Le Minor L., 1984.-** Genus III. *Salmonella*, In Systematic Bacteriology (volume 1). Krieg N., Holt, J. (Eds.). Baltimore: Bergey's Manual of Williams and Wilkins, **P: 427- 458.**
- Lertworapreecha M., Sirilak N., Suparat S., Bussakorn U. & Kumchai T., 2016.-** Multidrug resistant and extended spectrum b-lactamase producing *salmonella* enterica isolated from food animals in Phatthalung, thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*,**47** : 1257-1269.
- Levine M. M.; Black R. E. & Lanata C., 1982.-** Precise estimation of the numbers of chronic carriers of *Salmonella* Typhi in Santiago, Chile, an endemic area. *Journal of Infectious Diseases*; **146**: 724-726.
- Levine M., 1988.-** *Escherichia coli* that cause diarea: entérotoxigénic entéroinvasif enterohémorragic, and enterodherent. *Journal of infectious Diseases*, **155** : 377-389.
- Levine, C., Hiasa H. & Marians K. J., 1998.-** DNA gyrase and topoisomerase IV: biochemical activities, physiological roles during chromosome replication, and drug sensitivities. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1400**: 29-43.
- Levine, M. M., 1987.-** *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigénic, enteropathogénic, enteroinvasif, enterohémorragic, and enteroadherent. *Journal of Infectious Diseases*, **155**: 377-389.
- Levy S. B. & Marshall B., 2004.-** Antibacterial resistance worldwide: causes, challenges and responses. *Nature Medicine*, **10**: S122-S129.
- Li J., Smith N. H., Nelson K., Crichton P. B., Old D. C., Whittam T. S. & Selander R. K., 1993.-** Evolutionary origin and radiation of the avian-adapted non-motile *salmonellae*. *Journal of Medical Microbiology*, **38**: 129-139.
- Li X. Z., 2005.-** Quinolone resistance in bacteria: emphasis on plasmid-mediated mechanisms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **25**: 453-463.
- Lim L. M., Ly N., Anderson D., Yang J. C., Macander L., Jarkowski A., Forrest A., Bulitta J B. & Tsuji B. T., 2010.-** Resurgence of Colistin: A Review of Resistance, Toxicity, Pharmacodynamics, and Dosing. *Pharmacotherapy*. **30**: 1279-1291.
- Liu Y. Y., Wang Y., Walsh T. R., Yi L. X., Zhang R., Spencer J., Doi Y., Tian G., Dong B., Huang X., Yu L. F., Gu D., Ren H., Chen X., Lv L., He D., Zhou H., Liang Z., Liu J-H. & Shen J.-** Emergence of Plasmid-Mediated Colistin Resistance Mechanism MCR-1 in

Animals and Human Beings in China: A Microbiological and Molecular Biological Study.
The Lancet Infectious Diseases, **16**: 161-68.

Livermore D. & Williams J. D., 1996.- β -lactams: mode of action and mechanisms of bacterial resistance. In *Antibiotics in laboratory medicine*. Lorian V, editor. Baltimore: Williams and Wilkins, P: 502-578.

Livermore D. M., 1995.- bêtalactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, **8**: 557-584.

Lowrance T. C., Loneragan G. H., Kunze D. J., Platt T. M., Ives S. E., Scott H. M. & Norby B., 2007.- Changements de la sensibilité aux antimicrobiens dans une population de *Escherichia coli* isolée de bovins d'engraissement recevant de l'acide sans cristaux de ceftiofur. *American Journal of Veterinary Research*, **68**: 501-507.

Madec J. Y., Haenni M., Jouy E., Granier S, Weill F. X. & Hello S L., 2012.- Les Entérobactéries Résistantes Aux Céphalosporines de Dernières Générations Générations : De l'Animal à l'Homme. *Bulletin Epidémiologique, Santé Animale et Alimentation*, **53**: 37-39.

Mainda, G., Bessell P. B., Muma J. B., McAteer S. P., Chase-Topping M. E., Gibbons J., Mainda G., Bessell P B., Muma J. B., McAteer S. P., Margo E., ToppingC., Gibbons J., Stevens M. P., Gally D. L. & Bronsvort B M., 2015.- Prevalence and patterns of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolated from Zambian dairy cattle across different production systems. *Scientific Reports*, **5** : 12349.

Mainil J., 2003.- Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives de *Escherichia coli* : I) les adhésines et facteurs de colonisation. *Annales de médecine vétérinaire*, **147**: 105-126

Martinetti G. & Altwegg M., 1990.- rRNA gene restriction patterns and plasmid analysis as tool for typing *Salmonella* Enteritidis. *Research in Microbiology*, **141**: 1151-1162.

Martinez J. A., Soto S., Fabrega A., Almela M., Mensa J., Soriano A., Marco F., Jimenez de Anta M. T. & Vila J., 2006.- Relationship of phylogenetic background, biofilm production, and time to detection of growth in blood culture vials with clinical variables and prognosis associated with *Escherichia coli* bacteremia. *Journal of Clinical Microbiology*, **44** : 1468-1474.

Martínez-Martínez L., Cano E. M., Rodríguez-Martínez M. J., Calvo J. & Pascual A., 2008.- Plasmid-mediated quinolone resistance. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, **6**: 685-711.

Martínez-Martínez L., Pascual A. & Jacoby G. A., 1998.- Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet*, **351**: 797-799.

- Maslow J. N., Mulligan M. E., Adams K. S., Justis J. C. & Arbeit R. D., 1993.-** Bacterial adhesins and host factors: role in the development and outcome of *Escherichia coli* bacteremia. *Clinical Infectious Diseases*, **17** : 89-97.
- Matsumoto Y., Ikeda F., Kamimura T., Yokota Y. & Mine Y., 1988.-** Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **32**: 1243-1246.
- Mazzariol A., Cornaglia G. & Nikaido H., 2000.-** Contribution of the Amp-C bêtalactamase and the AcrAB multidrug efflux system in intrinsic resistance of *E. coli* K12 to b-lactams. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **44**: 1387-1390.
- MC Ewen S. A. & Fedorka-Cray P. L., 2002.-** Antimicrobial use and resistance in animals. *Clinical Infectious Diseases*, **34**: S93-S106.
- Mcdermott J. J. & Arimi S. M., 2002.-** Brucellosis in sub-Saharan Africa: epidemiology, control and impact. *Veterinary Microbiology*, **90**: 111-134.
- McQuiston J. R., Parrenas R., Ortiz-Rivera M., Gheesling L., Brenner F. & Fields P. I., 2004.-** Sequencing and Comparative Analysis of Flagellin Genes *fliC*, *fljB*, and *flpA* from *Salmonella*. *Journal of Clinical Microbiology*, **42**: 1923-1932.
- McQuiston JR, Fields PI, Tauxe RV, Logsdon JM Jr.** 2008. Do *Salmonella* carry spare tyres? *Trends in Microbiology*, **16**: 142-148.
- Medeiros A. A., 1997.-** Evolution and Dissemination of Beta-Lactamases Accelerated by Generations of Beta-Lactam Antibiotics. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* . **24**: S19-S45.
- Meng J & Doyle M. P., 1998.-** Emerging and evolving microbial foodborne pathogens. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, **96**: 151-164.
- Mensah S. E. P., Aboh A. B., Salifou S., Mensah G. A., Sanders P., Abiola F. A. & Koudandé O D., 2014.-** Risques dus aux résidus d'antibiotiques détectés dans le lait de Vache produit dans le centre Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, **80**:7102 - 7112.
- Mihaiu L., Lapusan A., Tanasuica R., Sobolu R., Mihaiu R., Oniga O. & Mihaiu M., 2014.-** First study of *Salmonella* in meat in Romania. *Journal of Infection in Developing Countries*, **8**: 50-58.
- Milnes A. S., Sayers A. R., Stewart I., Clifton-Hadley F. A., Davies R. H., Newell D. G., Cook A. J. C., Evans S. J., Smith R. P. & Paiba G. A., 2009.-** Factors Related to the Carriage of Verocytotoxigenic *E. Coli*, *Salmonella*, Thermophilic *Campylobacter* and *Yersinia Enterocolitica* in Cattle, Sheep and Pigs at Slaughter. *Epidemiology and Infection*, **137**: 1135.

- Miranda C. D., Kehrenberg C., Ulep C., Schwarz S. et Roberts M. C., 2003.-** Diversity of tetracycline resistance genes in bacteria from Chilean Salmon farms. *Antimicrobials Agents and Chemotherapy*, **47** : 883-888.
- Mitema E S., Kikivi G. M., Wegener H. C. & Stohr K., 2001.-** An Assessment of Antimicrobial Consumption in Food Producing Animals in Kenya. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **24**: 385-390.
- Montenegro-James S., 1992.-** Prevalence and control of babesiosis in the Americas. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, **87**: 27-36.
- Mopaté Y. L., 2010.-** Intervention d'urgence pour la prévention, la détection précoce et la lutte contre l'influenza aviaire hautement pathogène au Tchad. Revue du secteur avicole, N'Djaména, Tchad, **72 P.**
- Moretain J. P., 2005.-** Les résidus d'antibiotiques dans les aliments. Laboratoire d'études et de recherches sur les médicaments vétérinaires et les désinfectants, Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA). Fougères, France, **18 P.**
- Moussa I. M., Ashgan M. H., Mahmoud M. H., Mohamed K. F. H. & Al-Doss A. A., 2010.-** Rapid detection of *Salmonella* species in new-borne calves by polymerase chain reaction. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, **2** : 62-66.
- MRA :Ministère des ressources animales, 2011.-** Statistiques du secteur de l'élevage. Ouagadougou, Burkina Faso., 179 p.
- Muktar Y., Mamo G., Tesfaye B & Belina D., 2015.-** A review on major bacterial causes of calf diarrhea and its diagnostic method. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, **7**: 173-185.
- Murrayc., 2000.-** Environmental aspects of *Salmonella*. In *Salmonella* in Domestic Animals. Wray C., Wray A. (Eds.). Oxon: CABI Publishing, **P**: 265-283.
- Murugkar H V., Rahman H., Ashok K. & Bhattacharyya D., 2005.-** Isolation, Phage Typing and Antibiogram of *Salmonella* from Man and Animals in Northeastern India. *The Indian Journal of Medical Research*, **122**: 237-242.
- Muylaert A. & Mainil J. G., 2012.-** Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes et leur « contagiosité ». *Annales de médecine vétérinaire*, **156**: 109-123.
- N'Goran K. E., Yapi-Gnaoré C. V., Fantodji T. A. & N'goran A., 2008.-** Caractérisation phénotypique et performances des vaches laitières de trois régions de côte d'ivoire phenotypical characterisation and productive traits of dairy cows from three regions of côte d'ivoire. *Archivos de zootecnia*, **57**: 30-37.

- Namimatsu T., Asai T., Osumi T., Imai Y. & Sato S., 2006.-** Prevalence of the Virulence Plasmid in *Salmonella* Typhimurium Isolates from Pigs. *Journal of Veterinary Medical Science*, **68**: 187-188.
- Nataro J. P & Kaper J. B., 1998.-** Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews*, **11**: 142-201.
- Neu H. G., 1987.-** The biochemical basis of antimicrobial and bacterial resistance. *Bulletin of the New York Academy of Medicine.*, **63**: 295-317.
- Nguyen D. P., Nguyen T. A. D., Le T. H., Tran N. M. D., Ngo T P., Dang V. C., Kawai T., Kanki M., Kawahara R., Jinnai M., Yonogi S., Hirai Y. Yamamoto Y. & Kumeda Y., 2016.-** Dissemination of Extended-Spectrum β -Lactamase- and AmpC β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* within the Food Distribution System of Ho Chi Minh City, Vietnam. *BioMed Research International*, **2016**: 1-9.
- Nielsen L. R., 2013. -**Within-herd prevalence of *Salmonella Dublin* in endemically infected dairy herds. *Epidemiology and Infection*, **141**: 2074-2082
- Nikaido H., 1998.-** Antibiotic resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. *Clinical Infectious Diseases*, **27**: 32S-41S.
- Nikaido H., Basina M., Nguyen V. & Rosenberg E. Y., 1998.-** Multidrug efflux pumps AcrAB of *Salmonella typhimurium* excretes only those b-lactam antibiotics containing lipophilic side chains. *Journal of Bacteriology*, **180**: 4686-4692.
- Njage P.M K. & Buys E. M., 2015.-** Pathogenic and Commensal *Escherichia coli* from Irrigation Water Show Potential in Transmission of Extended Spectrum and AmpC bêtalactamases Determinants to Isolates from Lettuce. *Microbial Biotechnology*, **8**: 462-473.
- Nóbrega D. B., Guiduce M. V. S., Guimarães F. F., Riboli D. F., Cunha M. L. R .S., Langoni H., Pantoja J. C. F. & Lucheis S. B., 2013.-** Molecular Epidemiology and Extended-Spectrum bêtalactamases Production of *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Three Dairy Herds 1. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, **33**: 855-859.
- Nunes E. B., Saridakis H. O., Irino K. et Pelayo J. S., 2003.-** Genotypic and phenotypic characterization of attaching and effacing *Escherichia coli* (AEEC) isolated from children with and without diarrhea in Londrina, Brazil. *Journal of Medical Microbiology*, **52**: 499-504.
- Nyabundi D., Onkoba N., Kimathi R., Nyachio A., Juma G., Kinyanjui P. & Kamau Joseph., 2017.-** Molecular Characterization and Antibiotic Resistance Profiles of *Salmonella* Isolated from Fecal Matter of Domestic Animals and Animal Products in Nairobi. *Tropical Diseases, Travel Medicine and Vaccines*, **3**: 2.

- Ogunleye A O, Okunlade A. O, Jeminlehin F. O. & Ajuwape A .T. P., 2013.-** Antibiotic Resistance in *Escherichia Coli* Isolated from Healthy Cattle at a Major Cattle Market in Ibadan, Oyo State, South Western, Nigeria. *African Journal of Microbiology Research*, **7** : 4572-4575.
- Oliver S. P., Jayarao B. M., & Almeida R. A., 2005.-** Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: Food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens and Diseases*, **10**: 932-935.
- Olopoenia, L. A. & King, A. L., 2000.-** Widal agglutination test - 100 years later: still plagued by controversy. *Postgraduate Medical Journal*, **76**: 80-84.
- Olowe O A., Adewumi O., Odewale G., Ojuronbe O. & Adefioye O. J., 2015.-** Phenotypic and Molecular Characterisation of Extended-Spectrum Beta-Lactamase Producing *Escherichia Coli* Obtained from Animal Fecal Samples in Ado Ekiti , Nigeria. *Journal of Environmental and Public Health*, **2015** : 1-7.
- Oluwafemi R. A., Ilemobade A. A. & Laseinde E. A. O., 2007: -** The impact of African animal trypanomosis and tsetse on the well-being of cattle and their owners in the BICOT study area of Nigeria. *Scientific Research and Essays*, **2**: 380-383.
- OMS : Organisation mondiale de la santé, 2014.-** Antimicrobial Resistance : Global Report on Surveillance 2014. Genève, Suisse, **257 P**.
- OMS : Organisation mondiale de la santé, 2015.-** Maladies d'origine alimentaire : près d'un tiers des décès surviennent chez les enfants de moins de 5 ans. Genève, Suisse, URL : <https://www.who.int/fr/news-room/detail/03-12-2015-who-s-first-ever-global-estimates-of-foodborne-diseases-find-children-under-5-account-for-almost-one-third-of-deaths>. Consulté le 30 Septembre 2016.
- OMS., 1991.-** Manuel d'épidémiologie pour la gestion de la santé au niveau du district. Ed. Jouve, OMS, Genève, **187 P**.
- Omuse G., Kohli, R. & Revathi, G., 2010.-** Diagnostic utility of a single Widal test in the diagnosis of typhoid fever at Aga Khan University Hospital (AKUH), Nairobi, Kenya. *Tropical Doctor*, **40**:43-44.
- Orskov I., Orskov F., Jann B & Jann K., 1977.-** Serology, chemistry, and genetics of O and K antigens of *Escherichia coli*. *Bacteriology Reviews*, **41**: 667-710.
- Ouattara N. D., Guessennd N., Gbonon V., Toe E., Dadié T. & Tiécoura B., 2013.-** Consommation des antibiotiques dans la filière aviaire à Abidjan : Cas de quelques fermes semi-industrielles. *European Journal of Scientific Research*, **94** : 80-85.
- Ouattara N. D., Guessennd N., Gbonon V., Toe E., Dadié T. & Tiécoura B., 2013. -** Consommation des antibiotiques dans la filière aviaire à Abidjan : Cas de quelques fermes semi-industrielles. *European Journal of Scientific Research*, **94**: 80-85.

- Oueslati W., Rjeibi M. R., Mhadhbi M., Jbeli M., Zrelli S. & Ettriqui A., 2016.-** Prevalence, Virulence and Antibiotic Susceptibility of *Salmonella* Spp. Strains, Isolated from Beef in Greater Tunis (Tunisia). *Meat Science*, **119**: 154-159.
- Parish C. R., Wistar R. & Ada G. L., 1969.** Cleavage of Bacterial Flagellin with Cyanogen Bromide: Antigenic Properties of the Protein Fragments. *Biochemistry Journal*, **113**: 501-506.
- Patel U., Yan Y. P., Hobbs F. W. Jr., Kaczmarczyk J., Slee A. M., Pompliano D. L., Kurilla M. G. & Bobkova E. V., 2001.-** Oxazolidinones mechanism of action: Inhibition of the first peptide bond formation. *Journal of Biological Chemistry*, **276** :37199-37205.
- Paterson D. L. & Bonomo R. A., 2005.-** Extended spectrum β lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, **18**: 657-686.
- Paterson D. L., W.- C. Ko, A. Von Gottberg, S. Mohapatra, J. M. Casellas, H. Goossens, L. Mulazimoglu, Trenholme G., Klugman P., Bonomo R. A., Rice L. B., Wagener M. M., McCormack J. G. & Yu V. L., 2004.-** Antibiotic Therapy for Klebsiella Pneumoniae Bacteremia: Implications of Production of Extended-Spectrum β lactamases. *Clinical Infectious Diseases*, **39**: 31-37.
- Paton J. C & Paton A. W., 1998.-** Pathogenesis and diagnosis of Shigatoxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clinical Microbiology Reviews* **11** :450–479.
- Pavydė E., Veikutis V., Mačiulienė A., Mačiulis V., Petrikonis K. & Stankevičius E., 2015.-** Public Knowledge, Beliefs and Behavior on Antibiotic Use and Self-Medication in Lithuania. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **12**: 7002-7016.
- Perez F., Endimiani A., Hujer K. M. & Bonomo R. A., 2007.-** The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol*, **7**: 459-469.
- Perichon B, Courvalin P. & Galimand M., 2007.-** Transferable resistance to aminoglycosides by methylation of G1405 in 16S rRNA and to hydrophilic fluoroquinolones by QepA-mediated efflux in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **51**: 2464-2469.
- Petersen K. E & James W. O., 1998.-** Agents, vehicles, and causal inference in bacterial foodborne disease outbreaks: 82 reports (1986–1995). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **212**:1874-1881.
- Philippon A, Labia R. & Jacoby G., 1989.-** Extended-spectrum betalactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **33**: 1131-1136.
- Philippon A., Arlet G. & Jacoby G. A., 2002.-** Plasmid-determined *AmpC*-type β lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **46**: 1-11.

- Podglajen I., 2006.** Génétique de la résistance. In Patrice Antibiogramme, 2^{ème} édition. Courvalin, Leclercq R, Bingen E (eds), Paris : *ESKA*, **33 P.**
- Poirel L., Naas T. & Nordmann P., 2008.-** Genetic support of extended-spectrum **β**lactamases. *Clinical Microbiology and Infection*, **14**: 75-81.
- Poirel L., Naas T. & Nordmann P., 2010.-** Diversity, epidemiology and genetics of class D **β**lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **54**: 24-38.
- Poole K., 2000.-** Efflux-mediated resistance to fluoroquinolones in gram-negative bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **44**: 2233-2241.
- Poole K., 2007.-** Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms. *Annal of Medicine*, **39** : 162-176.
- Popoff M. Y. & Norel F., 1992.-** Bases moléculaires de la pathogénicité des *Salmonella*. *Médecine et maladies infectieuses*, **22**: 310-324.
- Popoff M.Y., Bockemuhl J., Gheesling L.L., 2003.-** Supplement 2001 (no. 45) to the Kauffmann–White scheme. *Research in Microbiology*, **154**:173-174.
- Pruimboom-Brees I. M., Morgan T. W., Ackermann M. R., Nystrom E. D., Samuel J. E., Cornick N. A. & Moon H. W., 2000.-** Cattle lack vascular receptors for *Escherichia coli* O157:H7 Shiga toxins. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A*, **97**:10325-10329.
- Radostitis O. M., Gay C. C., Hinchliff K. W. & Constable P. D., 2007.-** Veterinary Medicine- A text book of the disease of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. *Canadian vetenary journal*, **51**: 541.
- Rahal J. J. & Simberkoff M. S., 1979.-** Bactericidal and bacteriostatic action of chloramphenicol against meningeal pathogens. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **16** :13-18.
- Raska, K., Raskova H., Urbanova Z., Matejovska D., Matejovska V., Palounek V. & Polák L., 1979.-** Resistance of gram-negative bacteria to antibiotics in large calf agglomerations. *Acta tropica*, **36**: 163-170.
- Recchia, G. D. & Hall R. M., 1995.-** Gene Cassettes: A New Class of Mobile Element.” *Microbiology*, **141** : 3015–3027.
- Redding L. E., Cubas-Delgado F., Sammel M. D., Smith G., Galligan D. T., Levy M. Z. & Hennessy S., 2014.-** L'utilisation d'antibiotiques dans les petites exploitations laitières du Pérou rural . *Médecine vétérinaire préventive*, **113**: 88-95.
- Reeves M. W., Evins G. M., Heiba, A. A., Plikaytis B. D. & Farmer J. J., 1989.-** Clonal nature of *Salmonella* Typhi and its genetic relatedness to other *salmonellae* as shown by multilocus enzyme electrophoresis, and proposal of *Salmonella bongori* comb. nov. *Journal of Clinical Microbiology*, **27**: 313-320.

- Renter D. G. & Sargeant J. M., 2002.-** “Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157: Epidemiology and Ecology in Bovine Production Environments. *Animal Health Research Reviews*, **3**: 83-94.
- Reynolds D. W.; Carpenter R. L. & Simon, W. H., 1970.-** Diagnostic specificity of Widal's reaction for typhoid fever. *Journal of the American Medical Association*, **214**: 2192-2193.
- Riad E. M., Tanios A. I. & El-Moghny A. F. A., 1998.-** Antigen capture ELISA technique for rapid detection of *Salmonella* typhimurium in fecal samples of diarrheic cow calves. *Assiut Veterinary Medical Journal*, **39** : 324-33.
- Richard C., 1979.-** Les limites d'utilisation des systèmes prêts à l'emploi. *Médecine et maladies Infectieuses*, **9**: 484-489.
- Rigobelo E C., Gamez H. J., Marin J M., Macedo C., Ambrosin J. A. & Ávila F. A., 2006.-** Virulence Factors of *Escherichia coli* isolated from Diarrheic Calves. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, **58**: 305-310.
- Riley L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee H. B., Wells J. G., Davis B. R., Hebert R. J., Olcott H. M., Johnson L. M., Hargrett N. T., Blake P. A. & Cohen M. L., 1983.-** Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine*, **308**: 681- 685.
- Roberts M. C., 1996.-** Tetracycline resistance determinants: mechanisms of action, regulation of expression, genetic mobility, and distribution. *FEMS Microbiology reviews*, **19**: 1-24.
- Roberts M. C., 2003.-** Tetracycline Therapy: Update. *Clinical Infectious Diseases*, **36**: 462-467.
- Robicsek A., Jacoby G. A & Hooper D. C., 2006a.-** The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infectious Diseases*, **6**: 629-640.
- Robicsek A., Strahilevitz J. & Jacoby G. A., 2006b.-** Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nature Medicine*, **12**: 83-8.
- Rodloff A. C., Goldstein E. J. C. & Torres A., 2006.-** Two Decades of Imipenem Therapy. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **58** : 916-929.
- Rodriguez-Martinez J. M., Velasco C., Briales A., Garcia I., Conejo M. C & Pascual A., 2008.-** qnr-like pentapeptide repeat proteins in gram-positive bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **61**: 1240-1243.
- Rotger, R. & Casadesus J., 1999.-** The virulence plasmid of *Salmonella*. *International Microbiology*, **2** : 177-184.
- Rotimi V. O., Jamal W., Pal T., Sovenned A. & Albert M. J., 2008.-** Emergence of CTX-M-15 Type Extended-Spectrum -Lactamase-Producing *Salmonella* Spp. in Kuwait and the United Arab Emirates.” *Journal of Medical Microbiology*, **57**: 881-886.

- Roy P. H., 1997.-** Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique. *Médecine /sciences*, **13**: 927-933.
- Ruiz J., 2003.-** Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **51**:1109-17.
- Ruiz J., 2003.-** Mechanisms of Resistance to Quinolones: Target Alterations, Decreased Accumulation and DNA Gyrase Protection.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **51**: 1109-1117.
- Sabtu N., Enoch D. A & Brown N. M., 2015.** Antibiotic resistance: what, why, where, when and how?. *British Medical Bulletin.*, **116**: 105-113.
- Sahlström L., de Jong B. & Aspan A., 2006.-** *Salmonella* isolated in sewage sludge traced back to human cases of salmonellosis. *Letters in Applied Microbiology*, **43** : 46-52.
- Samandoulougou S., Ilboudo A. J., Ouédraogo S. G., Tindano K., Compaore H., Ouedraogo A., Savadogo A. & Traore A. S., 2016.-** Utilisation de Médicaments Vétérinaires En Production Bovine et Aviaire et Sécurité Sanitaire Des Aliments d’origine Animale Au Burkina Faso.” *International Journal of Multi-Disciplinary Sciences*, **1** : 50-79.
- Samouelian F., Gaudin V & Boccara M., 2009.-** Génétique moléculaire des plantes. 1^{ère} Editions Quae; France, **230 P**.
- Sánchez-Vargas F. M, Abu-El-Haija M. A. & Gómez-Duarte O. G., 2011.-** *Salmonella* infections : an update on epidemiology, management, and prevention. *Travel Medicine and Infectious Disease*, **9**: 263-277.
- Sanders P., 1999.-** Traitements thérapeutiques et antibiorésistance. *Point Veterinaire*, **30**: 23-30.
- Sanders P., 2005.-** L’antibiorésistance en médecine vétérinaire : enjeux de santé publique et de santé animale. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, **158**: 137-142.
- Sanders P., Perrin-Guyomard A. & Moulin G ., 2017. -**Évolution de l’utilisation des antibiotiques en production animale. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, **52**: 301-311.
- Sanjukta R., Dutta J. B., Sen A., Shakuntala I., Ghatak S., Puro A. K., Das S., Huidrom S., Dey T. K., Purkait D., Dutta A. & Das B. C., 2016.-** Characterization of Multidrug-Resistant *Escherichia Coli* and *Salmonella* Isolated from Food Producing Animals in Northeastern India. *International Journal of Infectious Diseases*, **45**: 114-115.
- Sanogo M., Cissé B., Ouattara M., Walravens K., Praet N., Berkvens D. & Thys E., 2008.-** Prévalence réelle de la brucellose bovine dans le centre de la Côte d’Ivoire. *Revue d’élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*. **61**: 147-151.
- Sarmah A K., Meyer M T. & Boxall A B. A., 2006.-** A Global Perspective on the Use, Sales, Exposure Pathways, Occurrence, Fate and Effects of Veterinary Antibiotics (VAs) in the Environment. *Chemosphere*. **65**: 725-759.

- Scallan E, Hoekstra R. M, Angulo F. J, Tauxe R. V, Widdowson M. A, Roy S. L, Jones J. L. & Griffin P. M., 2011.-** Foodborne illness acquired in the United States - major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, **17**: 7-15.
- Schelcher., Valarcher J.-F., Bonal C. & Bspinasse J., 1993.-** Le virus BVD et les gastroentérites néonatales du veau. *Point Vétérinaire*, **25** : 631-636.
- Schmid A., Hörmansdorfer S., Messelhäusser U., Käsbohrer A., Sauter-Louis C. & Mansfeld R., 2013.-** Prevalence of Extended-Spectrum bêtalactamase-Producing *Escherichia Coli* on Bavarian Dairy and Beef Cattle Farms. *Applied and Environmental Microbiology*, **79**: 3027-3032.
- Schmidt H., Beutin L. & Karch, H., 1995.-** Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infection and Immunity*, **63**: 1055-1061.
- Schurman R D., Hariharan H., Heaney S B. & Rahn K., 2000.-** Prevalence and Characteristics of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Beef Cattle Slaughtered on Prince Edward Island. *Journal of Food Protection*, **63**: 1583-1586.
- Schwarz S. & Chaslus-Dancla E., 2001.-** Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *Veterinary Research*, **32** : 201-225.
- Schwarz S., Kehrenberg C. & Walsh T. R., 2001.-** Use of antimicrobials agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **17** : 431-437.
- Scott S., 2010.-** The most probable number method and its use in Enumeration, Qualification and validation. *Journal of Validation Technology*, **16**: 35-38.
- Seleim R. S, Sahar R. M, Novert M. H. & Gobran R. A., 2004.-** *Salmonella* infection in calves: virulence proteins and its immunogenic properties. *Journal of Veterinary Science*, [En ligne] : <http://www.tropentag.de/2002/abstracts/full/178.pdf>. Consulté le 25 octobre 2017.
- Shaw K. J., Rather P. N., Hare R. S. & Miller G. H., 1993.-** Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. *Microbiology Reviews*, **57**: 63-138.
- Sheorey H. & Darby J., 2008.-** Searching for *Salmonella*. *Australian Family Physician*, **37**: 806-810.
- Sherley M., Gordon D. M. & Collignon P.J., 2004.-** Evolution of multi-resistance plasmids in Australian clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiology*, **150**: 1539-1546.
- Shin S. W., Shin M. K., Jung M., Belaynehe K M. & Yoo H. S., 2015.-** Prevalence of Antimicrobial Resistance and Transfer of Tetracycline Resistance Genes in *Escherichia Coli* Isolates from Beef Cattle. *Applied and Environmental Microbiology*. *American Society for Microbiology*, **81**: 5560-5566.

- Singer R. S. & Williams-Nguyen J., 2014.-** Les impacts sur la santé humaine de l'utilisation des antibiotiques dans l'agriculture: une poussée pour améliorer l'inférence causale. *Current Opinion in Microbiology*, **19**: 1-8.
- Smati M., Clermont O., Bleibtreu A., Fourreau F., David A., Daubie A. S., Hignard C., Loison O., Picard B. & Denamur E., 2015.-** Quantitative analysis of commensal *Escherichia coli* populations reveals host-specific enterotypes at the intra-species level. *Microbiology Open*, **4**: 604-615.
- Smith A. B., Renter D. G., Cernicchiaro N., Shi X., & Nagaraja T. G., 2016.-** Prevalence and Quinolone susceptibilities of *Salmonella* isolated from the feces of preharvest cattle within feedlots that used a fluoroquinolone to treat bovine respiratory disease. *Foodborne Pathogens and Disease*, **13**: 1- 6.
- Smith M. G. & F. H. Grau., 1973.-** Occurrence of *salmonellas* on the hides and fleeces of cattle and sheep at slaughter. *Australian Veterinary Journal*, **49**: 218-219.
- Sokouri D. P, Yapi-Gnaore C.V, N'Guetta A. S. P, Loukou N. E, Kouao B. J, Toure G, Sangare A. & Kouassi A., 2009.-** Utilisation et gestion des races taurines locales sous la pression des croisements avec les zébus dans les régions Centre et Nord de la Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*, **5**: 456-465.
- Sougakoff W., Goussard S. & Courvalin P., 1988.-** The TEM-3 β -lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. *FEMS Microbiology Letters*, **56**: 343-348.
- Stefani S., Giovanelli I., Anacarso I., Condò C., Messi P., Niederhäusern S D., Bondi M., Iseppi R. & Sabia C., 2014.-** Prevalence and Characterization of Extended-Spectrum β - Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Food-Producing Animals in Northern Italy. *New Microbiologica*, **37**: 551-555.
- Strahilevitz J., Jacoby G. A., Hooper D. C. & Robicsek A., 2009.-** Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: A Multifaceted Threat. *Clinical Microbiology Reviews*, **22**: 664-89.
- Sudarwanto M. B., Lukman D. W., Latif H., Pisestyani H., Sukmawinata E., Akineden O. & Usleber E., 2016.-** CTX-M Producing *Escherichia coli* isolated from cattle feces in Bogor slaughterhouse, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **6**: 605-608.
- Swanson S. J., Snider C., Braden C. R., Boxrud D., Wünschmann A., Rudroff J. A., Lockett J. & Smith K. E., 2007.-** Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium associated with pet rodents. *The New England Journal of Medicine*. **356**: 21-28.
- Swennes A. G., Buckley E. M., Parry N. M. A., Madden C. M., Garcia A., Morgan P. B., Astrofsky K. M. & Fox J. G., 2012.-** Enzootic Enteropathogenic *Escherichia coli* Infection in Laboratory Rabbits. *Journal of Clinical Microbiology*. **50** :2353-2358.

- Talaro K. P. & Chess B., 2012.-** Foundations : In microbiology. Microbiology Medical. New York, USA, .579 P.
- Tamang M. D., Mamata G., Min-Su K., Hyang-Mi N., Dong C. M., Geum-Chan J., Suk-Chan J., Yong H P. & Lim S-K., 2014.-** Characterization of Plasmids Encoding CTX-M bêtalactamase and Their Addiction Systems in *Escherichia Coli* Isolates from Animals. *Veterinary Microbiology* , **174**: 456-62.
- Tatsadjieu N. L., Tanedjieu K. S. & Mbofung C. M. F., 2009.-** Impact de l'utilisation des antibiotiques sur la sensibilité des bactéries pathogènes de poules dans la ville de Ngaoundéré. *Cameroon Journal of Experimental Biology*, **5**: 52-61.
- Tenson T., Lovmar M. & Ehrenberg M., 2003.-** The mechanism of action of macrolides, lincosamides and streptogramin B reveals the nascent peptide exit path in the ribosome. *Journal of Molecular Biology*, **330** :1005- 1014.
- Thielman N. M. & Guerrant R. L., 2004.-** Acute infectious diarrhea. *The New England Journal of Medicine*, **350**: 38-47.
- Tindall B. J., Grimont P. A., Garrity G. M. & Euzéby J. P., 2005.-** Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **55**: 521-524.
- Todd E. C., 1997.-** Epidemiology of foodborne diseases: a worldwide review. *World Health Stat Q*, **50**:30-50.
- Todd E. C., Greig J. D., Bartleson C. A. & Michaels B. S., 2008.-** Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part5. Sources of contamination and pathogen excretion from infected persons. *Journal of food protection*, **71**: 2582-2595.
- Townsend S. M., Kramer N. E., Edwards R., Baker S., Hamlin N., Simminds M., Stevens K., Maloy S., Parkhill J., Dougan G. & Bäumlér A. J., 2001.-** *Salmonella* enterica serovar Typhi possesses a unique repertoire of fimbrial gene sequences. *Infection and Immunity*, **69**: 2894-2901.
- Tsolis R. M., Adams L. G., Ficht T. A. & Bäumlér A. J., 1999.-** Contribution of *Salmonella* typhimurium virulence factors to diarrheal disease in calves. *Infection and Immunity*, **67**:4879-4885
- Turpin P. E., Maycroft K. A., Rowlands C. L. & Wellington E. M. H., 1993.-** Viable but non-culturable *Salmonella* in soil. *Journal of Applied Microbiology*, **74**:421-427.
- Uyttendaele M. R., Debevere J. M., Lips R. M. & Neyts, K. D., 1998.-** Prevalence of *Salmonella* in poultry carcasses and their products in Belgium. *International Journal of Food Microbiology*, **40**: 1-8.

- Van Bambeke F, Michot J. M, Van Eldere J. & Tulkens P. M., 2005.-** Quinolones in 2005: an update. *Clinical Microbiology and Infection*, **11**: 256-280.
- Van Den Bogaard A. E. & Stobberingh E. E., 1999.-** Antibiotic usage in animals: impact on bacterial resistance and public health. *Drugs*, **58**: 589-607.
- van der Velden A. W. M., Bäumlner A. J., Tsolis R. M. & Heffron F., 1998.-** Multiple fimbrial adhesins are required for full virulence of *Salmonella typhimurium* in mice. *Infection and Immunity*, **66**: 2803-2808.
- Van Immerseel F., Fievez V., De Buck J., Pasmans F., Martel A., Haesebrouck F. & Ducatelle R. 2004.-** Microencapsulated short-chain fatty acids in feed modify colonization and invasion early after infection with *Salmonella enteritidis* in young chickens. *Poultry Science*, **83** : 69-74.
- Vannuffel P. & Cocito C., 1996.-** Mechanism of action of streptogramins and macrolides. *Drugs*. **51** :20-30.
- Vimal D. B., Khullar M., Gupta S. & Ganguly N. K., 2000.-** Intestinal mucins: The binding sites for *Salmonella typhimurium*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **204**: 107-117.
- Vimont A. 2007.-** Optimisation de la recherche des *Escherichia coli* producteurs de Shiga- toxines (STEC). Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard-Lyon 1, France, **318 P**.
- Wang L., Rothmund D., Curd H. & Reeves P. R., 2003.-** Species-Wide Variation in the *Escherichia coli* Flagellin (H-Antigen) Gene. *Journal of Bacteriology*, **185** : 2936-2943.
- Wang M., Guo Q., Xu X., Wang X., Ye X., Wu S. & Hooper D. C., 2009.-** New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **53**: 1892-1897.
- Wang M., Tran J. H., Jacoby G.A., Zjhang Y., Wang F. & Hooper D. C., 2003.-** Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in Clinical Isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **47**: 2242-2248.
- Wang Q., Ruan X., Wei D., Hu Z, Wu L., Yu T., Feng L. & Wang L., 2010.-** Development of a Serogroup-Specific Multiplex PCR Assay to Detect a Set of *Escherichia coli* Serogroups based on the Identification of Their O-antigen Gene Clusters. *Molecular and Cellular Probes*, **24** : 286-290.
- Watson E., Jeckel S, Snow L., Stubbs R., Teale C., Wearing H, Horton R., Toszeghy M., Tearne O., Joey E-I. & Coldham N., 2012.-** Epidemiology of extended spectrum beta-lactamase *E. Coli* (CTX-M-15) on a Commercial Dairy Farm. *Veterinary Microbiology*, **154**: 339-346.
- Wattiau P., Boland C. & Bertrand S., 2011.-** Methodologies for *Salmonella enterica* subsp. *enterica* subtyping: gold standards and alternatives. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**: 7877-7885.

- Wegener CH., 1999.-** The consequences for food safety of the use of fluoroquinolones in food animals. *New England Journal of Medicine*, **30**: 1581-1582.
- Wei L & Joys T. M., 1985.-** Covalent Structure of Three Phase-1 Flagellar Filament Proteins of *Salmonella*. *Journal of Molecular Biology*, **186**: 791-803.
- Weill F-X., 2008.-** Salmonelles non-typhiques d'origine animale et résistance aux antibiotiques. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*, **1**: 221-234.
- Weldhagen, G. F., Poirel L. & Nordmann P., 2003.-** Ambler class A extended-spectrum bêta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **47**: 2385-2392.
- Wells T. J. & Henderson I. R., 2013.-** Type 1 and 5 secretion systems and associated toxins. In *Escherichia coli* Pathotypes and Principles of Pathogenesis. 2nd Edition. **Donnenberg M. S., editor.** Baltimore, Maryland : Academic Press, **P**: 499-532.
- White D. G., Zhao S., Sudler R., Ayers S., Friedman S., Chen S., Mcdermott P. F., Mcdermott S.; Wagner D. D. & Meng J., 2001.-** The isolation of antibiotic resistant *Salmonella* from retail ground meats. *The New England Journal of Medicine*. **345**: 1147-1154.
- WHO: World Health Organization, 1980.-** *Escherichia coli* diarrhoea. *Bulletin of the World Health Organization*, **58**: 23-36.
- Widal F. M., 1896.-** Serodiagnostic de la fièvre typhoïde a propos d'une modification par M M C Nicolle et al. Halipie. *Bulletins et mémoires de la Société Médicale des Hôpitaux de Paris*, **13**: 561-566.
- Wieczorek K. & Osek J., 2013.-** Prevalence and characterisation of *Salmonella* in slaughtered cattle and beef in Poland. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, **57**: 607-611.
- Willis L. M. & C. Whitfield. 2013.-** Capsule and lipopolysaccharide. In: *Escherichia coli*: Virulence Mechanisms of a Versatile Pathogen. Donnenberg M.S, editor. ASM Press. **P**: 533-586.
- Wilson J. B., Clarke R. C., Renwick S. A., Rahn K., Johnson R. P., Karmali M. A., Lior H., Alves D., Gyles C. L., Sandhu K. S., McEwen S. A. & Spika, J. S., 1996.-** Vero Cytotoxigenic *Escherichia coli* infection in Dairy Farm Families. *Journal of Infectious Diseases*, **174**: 1021-1027.
- Winstanley C. & Morgan A. W., 1997.-** The Bacterial Flagellin Gene as a Biomarker for Detection, Population Genetics and Epidemiological Analysis. *Microbiology*, **143**: 3071-3084.
- Witte W., 2000.-** Ecological impact of antibiotic use in animals on different complex microflora: environment. *International Journal of Antimicrobial Agents*, **14**: 321-325.
- Woods D. F., Reen F. J., Gilroy D., Buckley J., Frye J. G. & Boyd E. F., 2008.-** Rapid multiplex PCR and real-time TaqMan PCR assays for detection of *Salmonella enterica* and the highly

virulent serovars Choleraesuis and Paratyphi C. *Journal of Clinical Microbiology*, **46**: 4018-4022.

Worrall L. J., Bergeron J. R. C. & Strynadka N. C. J., 2013.- Type 3 secretion systems. In *Escherichia coli* Pathotypes and Principles of pathogenesis. 2nd Edition. Donnenberg M.S, editor. Baltimore: Academic press, **P**: 417-450.

Wright G. D., 2010.- Q&A: Antibiotic Resistance: Where Does It Come from and What Can We Do about It?. *BMC Biology*, **8** : 123.

Yala. D, Merad A.S, Mohamedi. D, Ouar Korich M.N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques, Médecine du Maghreb n°91. URL: <http://www.sante.dz/aarn/classification.pdf>. Consulté le 20 Avril 2016.

Yamane K., Wachino J. & Suzuki S., 2007.- New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, QepA, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 3354-60.

Yao B. D. & Kallo V., 2015.- Dynamique de l'approvisionnement du marché à bétail. *Revue de Géographie Tropicale et d'Environnement*, **2**: 86-96.

Yapi-Gnaore C. V., Oya B. A. & Ouattara Z., 1996.- Revue de la situation des races d'animaux domestiques de Côte d'Ivoire, *Animal Genetic Resources Information*. **19**: 91-108.

Yassin A K., Gong J., Kelly P., Lu G., Guardabassi L., Wei L., Han X., Qiu H., Price S., Cheng D. & Wang C., 2017.- Antimicrobial Resistance in Clinical *Escherichia Coli* Isolates from Poultry and Livestock, China. *PloS One*. **12**: e0185326.

Yeo N., Yahaya K., Dofara S., Zahouli F., Zouh B. & Seïdina I. T., 2017.- Elevages de Bétail Dans La Région Du Poro (Côte d ' Ivoire) : Caractérisation et Modalités de Lutte Contre Les Pathogènes Transmis Par Les Tiques Cattle Breeding in the Poro Area (Côte d ' Ivoire) : *Characterisation and of Tick- Borne Diseases Control*. **11** : 237-46.

Yu T., Jiang X., Zhou Q., Wu J. & Wu Z., 2014.- Antimicrobial resistance, class 1 integrons, and horizontal transfer in *Salmonella* isolated from retail food in Henan, China. *The Journal of Infection in Developing Countries*, **8**: 705-711.

Zakpa L. G., Sokouri D. P., Bi S. G., Goran K. E. N., Inza J., Soro B. & Guetta A. S. P. N., 2014.- Analysis of Pathological Constraints and Productivity of Cattle in Traditional Environment in Northern Côte d'Ivoire. *International Journal of Agricultural and Soil Science*, **2**: 59-68.

Zechiedrich E. L., Khodursky A. B. & Cozzarelli N. R., 1997.- Topoisomerase IV, not gyrase, decatenates products of site-specific recombination in *Escherichia coli*. *Genes & Development*, **11**: 2580-2592.

- Ziebell, K., Johnson R. P., Kropinski A. M., Reid-Smith R., Ahmed R., Gannon V. P., Gilmour M. & Boerlin P., 2011.-** Gene Cluster Conferring Streptomycin, Sulfonamide, and Tetracycline Resistance in *Escherichia Coli* O157:H7 Phage Types 23, 45, and 67.” *Applied and Environmental Microbiology*, **77**: 1900-1903.
- Zweifel, C., Schumacher S., Blanco M., Blanco J.E., Tasara T., Blanco J. & Stephan R., 2005.-** Phenotypic and Genotypic Characteristics of Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Swiss Cattle. *Veterinary Microbiology*, **105**: 37-45.

PUBLICATIONS

PUBLICATION 1

Original Research Article

<https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.134>

Prevalence of *Salmonella* Strains in Cattle Breeding in the District of Abidjan (Côte d'Ivoire)

Yao Kouamé René^{1,2*}, Coulibaly Kalpy Julien², Cissé Souleymane²,
Tiécoura Kouakou Bertin², Goualié Glossi Bernadette⁴, Gueu Kpon Roméo²,
Yapi Houphouët Felix¹ et Djaman Alico Joseph^{1,3}

¹Laboratory of Pharmacodynamie Biochimique, UFR Biosciences, University of Félix Houphouët- Boigny, Abidjan, 22 PO BOX 582 Abidjan 22, Ivory Coast

²Laboratory of Microbiology of Food, Institut Pasteur de Côté d'Ivoire,
PO BOX 490 Abidjan 01, Ivory Coast

³Laboratory of Biochemistry, Institut Pasteur de Côté d'Ivoire,
PO BOX 490 Abidjan 01, Ivory Coast

⁴Laboratory of Biotechnology, UFR Biosciences, University of Félix Houphouët- Boigny,
Abidjan, 22 PO BOX 582 Abidjan 22, Ivory Coast

*Corresponding author

ABSTRACT

Keywords

Salmonella,
serotype,
Resistance,
Cattle breeding,
Côte d'Ivoire.

Article Info

Accepted:
20 February 2017
Available Online:
10 March 2017

Salmonella is an enterobacterium present in the environment as well as in a large number of animals which, in most cases, serve as host asymptotically. This bacterium is the leading cause of collective food poisoning in the world. In view of the expansion of salmonellosis in the world and the emergence of multi-resistant strains of *Salmonella*, this is a threat to human safety. The aim of this study is to determine the prevalence rate of *Salmonella* and their antibiotic resistance profile, antibiotics often used in cattle breeding in the district of Abidjan. In this study, we were able to analyze 420 samples of cattle fecal and 84 strains of *Salmonella* (20%) were isolated. Twenty-three (23) different serotypes were identified. Some of these strains were resistant to the antibiotics used. In view of the outbreak of salmonellosis and the emergence of multidrug-resistant strains *Salmonella*, biosecurity measures have to be adopted in cattle breeding in order to avoid the risk of food poisoning in the population.

Introduction

Salmonella is a gram-negative bacterium that belongs to the enterobacteria family (Yan *et al.*, 2003). It is present in the environment as well as in a large number of livestock which, in most cases, host it asymptotically. This bacterium can survive in the environment for a very long period of time, thus contributing to the maintenance of the bacterium within the animal reservoir (Lailier *et al.*, 2015).

Salmonella is the main cause of collective Food Borne Disease Outbreak (FBDO) both in the developed and underdeveloped countries (Dubroca *et al.*, 2005; Bean *et al.*, 1997; Flint *et al.*, 2005; Karou *et al.*, 2013).

A high increase in infections caused by *Salmonella* present in human foods was noted in the United States, Europe and Korea. These

infections involved *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* (Brooks *et al.*, 2012; Janmohamed *et al.*, 2011; Jung *et al.*, 2007).

In most cases the food products, mostly contaminated are of animal origin, such as beef, poultry, milk or eggs, but any food, including fruits and vegetables can also be contaminated (Movassagh *et al.*, 2010).

In Côte d'Ivoire, beef as a source of animal protein occupies an important place in the daily diet of the population. In 2004, Ivorian total meat production was 171 000 tonnes and meat consumption requirements were covered at 94% by total meat production (Assoumy, 2009). This implied a higher risk of salmonellosis transmitted by cattle. In addition, salmonellosis in animals still presents a potential danger of zoonotic disease (Donough *et al.*, 1999).

In Côte d'Ivoire in general and in the district of Abidjan in particular, no data or information concerning the circulation of *Salmonella* in cattle breeding are available.

Faecal matter is a major source of contamination by direct contact or contamination of the environment. *Salmonella* contamination has enormous consequences, pathological, hygienic and economical consequences, due to the losses induced by animal and human pathologies on one hand and due to the high costs associated with *Salmonella* contamination control measures on the other hand (Coulibaly *et al.*, 2010).

In this context, *Salmonellae* constitute a serious threat to the health of our population, due to the spread of salmonellosis in the world and the emergence of multidrug resistant strains of *Salmonella*. The objective of this study was to determine the prevalence rate of *Salmonella* in cattle breeding in the district of Abidjan and their resistance profile.

Materials and Methods

Study area

This is a cross-sectional study on cattle breeding sites and livestock markets in five (5) municipals in the district of Abidjan: Port Bouët, Abobo, Adjamé, Yopougon and Bingerville. Two of these five municipalities are a popular cattle breeding sites (Port-Bouët and Bingerville), while the other three are mainly livestock markets (Abobo, Adjamé and Yopougon). In Port-Bouët, the samples were collected from three (3) sites, *i.e.*, at the farm, the slaughterhouse and from the livestock open market. These sites were chosen on the basis of their significant inflows of livestock destined for breeding, sale and consumption by the population of the district of Abidjan and also sincere cooperation of all the operators involved (farmers, sellers and owners of livestock) to participate in the study. The sites selected supplied a large amount of beef to the population of the district of Abidjan.

Sampling

The sampling consisted of collecting fresh cow dung from the cattle just after defecation on the various livestock sites. A total of 420 samples were collected from April to September 2016. During each exercise 30 cow dung samples were aseptically collected in sterile containers and transported to the microbiology laboratory of the Pasteur Institute of Cocody within one hour after collection, in an ice chest containing cold accumulator for analysis upon arrival.

Culture and identification of strains

All strains were isolated according to the protocol described by standard ISO6579 (2002E). Twenty-five (25) g of cow dung were pre-enriched in 225 mL of Buffered-

Peptone water (BPW) (Liofilchem®) in a stomacher bag and incubated at 37 °C for 24 hours. After 0.1 mL of pre-enriched broth was added to 10 mL of Rappaport Vassiliadis broth (RV 10) (Bio-Rad) and incubated at 44°C for 24 hours. From each Rappaport Vassiliadis suspension, Hektoen agar (OXOID®) in Petri dishes were streaked and incubated at 37°C for 24 hours. The suspected colonies retained exhibited morphological and biochemical characteristics as follows (Table 1).

The strains of *Salmonella* sp isolated were confirmed by MALDI-TOF Vitek MS (Bio Mérieux, France). *Escherichia coli* ATCC 8739 (Biomérieux, France) was used as a MALDI-TOF calibrating strain.

Serotyping of strains of *Salmonella* sp

Serotypes were determined by agglutination tests slide with anti-serum O, H and Vi (Bio Mérieux, France). Reading the results was made according to the Kauffmann White (1934) scheme.

Antimicrobial susceptibility testing

Salmonella strains were tested for their susceptibility to different antibiotics using Kirby-Bauer disc diffusion method (Bauer *et al.*, 1966). An inoculum was prepared with colonies of pure culture of 24 hours onto nutrient agar (Mueller Hinton agar) in Petri dishes. These colonies were emulsified in a tube of 10 mL of Salt water in order to obtain a homogenous suspension of density equivalent to 0.5 Mc Farland standards. A sterile swab was moistened in the bacterial suspension, and Miller-Hinton agar previously dried was seeded by swabbing the entire surface of agar by scoring tightened. The antibiotic disks were disposed onto the surface of the dried agar medium and the agar was incubated for 24 hours. After incubation, agar plats were read by measuring the

diameters of inhibition zones around each antibiotic disk with the ADAGIO software (BioMérieux, France). The interpretation of the results was carried out according to the standard of the Antibiogram Committee of the French Society of Microbiology (CA-SFM / EUCAST 2014). A reference Strain of *E. coli* ATCC25922 (OXOID®) was tested as a quality a positive control for susceptibility testing. The following antibiotics were tested: Ampicillin (10 µg), Amoxicillin + clavulanic acid (30 µg), Cefalotin (30 µg), Cefepime (30 µg), Aztreonam (30 µg), Cefoxitin (30 µg), Ceftriaxone (30 µg), Ceftazidime (30 µg), Cefuroxime (30 µg), Imipenem (10 µg), Tetracycline (30 µg), Minocycline (30 µg), Gentamicin (15 µg), Tobramycin (10 µg), Amikacin 30 µg, Nalidixic acid(30 µg), Norfloxacin (5 µg), Ciprofloxacin (5 µg), Chloramphenicol (30 µg), Colistin (50 µg) and Trimethoprim / Sulfamethoxazole (25 µg). The antibiotics were produced by Bio-Rad.

Results and Discussion

Prevalence of *Salmonella*

A total of 84 strains of *Salmonella* were isolated from the 420 cow dung samples tested, a prevalence of 20%. The municipality of Port-Bouët has the highest prevalence rate with 9.8%, followed by Adjamé (7%), Abobo (1.2%). The lowest prevalences were observed in Yopougon and Bingerville (Table 2).

Serotyping

The serotyping was carried out entirely for 33 strains. *Salmonella* isolates was distributed in twenty-three (23) different serotypes (Table 3).

S. muguga (2), *S. agbeni* (4), *S. II* (6), *S. virchow* (1), *S. IIIa* (2), *S. enteritidis* (1), *S. neumuenster* (1), *S. othmerschen* (1), *S.*

parkroyal (1), *S. senftenberg* (1), *S. umbadaha* (1), *S. Dessau* (1), *S. tudu* (1), *S. muenster* (1), *S. gustavia* (1), *S. canton*, *S. salford* (1), *S. africana* (1), *S. bradford* (1), *S. chicao* (1), *S. erfut* (1), *S. bron* (1), *S. typhi* (1).

Antimicrobial susceptibility testing

Resistance to an antibiotic

A total of 54 strains of *Salmonella* was subjected to the antibiotic sensitivity test (antibiogram), 46.3% (25/54) of the strains exhibited resistance to at least one antibiotic. These strains showed resistance to colistin (24.1%), tetracycline (22.2%), minocycline (20.4%), trimethoprim / sulfamethoxazole (9.3%), nalidixic acid (7.4%), norfloxacin (5.6%), ciprofloxacin (5.6%), tobramycine (5.6%), cefalotin (3.7%), ceftazidime (1.9%), cefoxitin (1.9%), ceftriaxone (1.9%), amoxicillin + clavulanic acid (1.9%), aztreonam (1.9%), cefepime, Cefuroxim (1.9%) and Ampicillin (1.9%)

Phenotypes of resistant serovars

Of the 54 strains tested 22.22% of the strains (12/54) showed resistance to at least one antibiotic and 24.07% of the strains (13/54) showed resistance to at least 2 antibiotics

(Tables 4 and 5). However, 53.7% of the strains (29/54) were sensitive to the antibiotics used (Table 3).

The prevalence of *Salmonella* in the cow dung samples tested in our study was 20%. This could be explained due to the fact that *Salmonellae* are naturally present in the digestive tract of warm-blooded animals (Bourgeois and Leveau, 1991).

In this study the prevalence (20%) is much higher than that reported by Fegan *et al.*, (2004) in Australia, which was 6.88%. In the United States, the prevalence of *Salmonella* in cattle faeces in farms was reported to be less than 7% (Losinger *et al.*, 1997; Fedorka-Cray *et al.*, 1998; Dargatzet *et al.*, 2003). The presence of *Salmonella* in cattle could be linked, on one hand, to the cattle rearing method and, on the other hand, to the contamination of the breeding sites which are located in township therefore subjected to the influence of the activities of the population. This situation will encourage the circulation and spreading of *Salmonella*. In Côte d'Ivoire, no studies on *Salmonella* prevalence in cattle breeding have been reported, but studies by Traoré (2003) and Ouattara (2005) in poultry farming has reported *Salmonella* prevalence rates of 56% and 52 % respectively.

Table.1 Biochemical and morphological character of *Salmonella*

Biochemical and morphological character of <i>Salmonella</i>	
glc⁺lac⁻H₂S⁺ur⁻ind⁻ LDC⁺bg⁻mob⁺ gas⁺cat⁺ ox⁻	
Glc ⁺ = glucose fermentation; lac ⁻ = no oxidation of lactose; H ₂ S ⁺ = hydrogen sulfide production; ur ⁻ = no production of urease; ind ⁻ = no production of indole; LDC ⁺ = production of lysine decarboxylase; bg ⁻ = gram-negative bacilli; mob ⁺ = presence of mobility; gas ⁺ = gas production; cat ⁺ = production of catalase; ox ⁻ = no production of oxidase.	

Table.2 Prevalence of *Salmonellas* isolated from the cow dung in the District of Abidjan

	Distribution of <i>Salmonellas</i> in the different municipalities					Total
	Abobo	Adjamé	Yopougon	Bingerville	Port-Bouët	
Number of sample	n= 60	n= 60	n= 60	n= 60	n= 180	420
Numberof <i>Salmonelle</i> (n (%))	5(1,2%)	30(7%)	4(1 %)	4(1 %)	41(9,8%)	84(20%)

Table.3 serotypes of isolated *Salmonella* spp strains

Serotype	Number
<i>S. muguga</i>	2
<i>S. agbeni</i>	4
<i>S. II</i>	6
<i>S. IIIa</i>	2
<i>S.virchow</i>	1
<i>S. enteritidis</i>	1
<i>S. neumuenster</i>	1
<i>S. canton</i>	1
<i>S. othmerschen</i>	1
<i>S. parkroyal</i>	1
<i>S. senftenberg</i>	1
<i>S. umbadah</i>	1
<i>S. dessau</i>	1
<i>S. tudu</i>	1
<i>S. muenster</i>	1
<i>S. gustavia</i>	1
<i>S. salford</i>	1
<i>S. africana</i>	1
<i>S. bradfort</i>	1
<i>S.chicago</i>	1
<i>S.erfut</i>	1
<i>S.bron</i>	1
<i>S. typhi</i>	1
<i>Salmonella. sp</i>	51

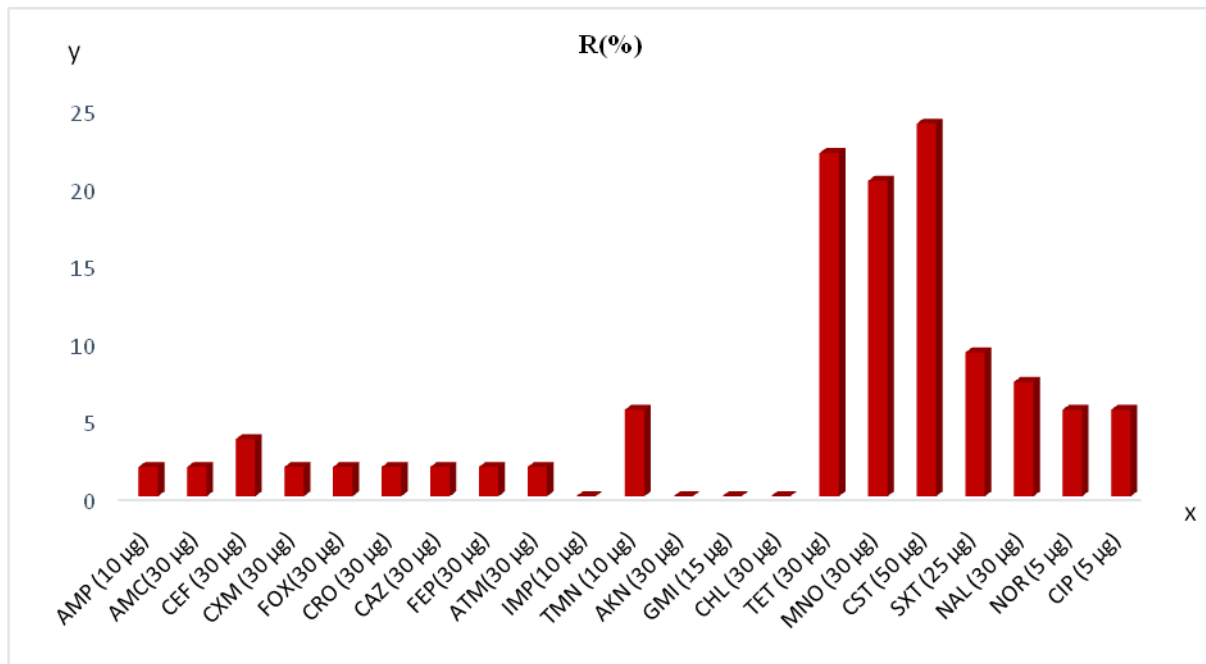
Table.4 Phenotypes of resistant strains to single antibiotic

Sample	Serotypes	Phenotypes
E44S	<i>S. enteritidis</i>	Tmn
E46S	<i>S. neumenster</i>	Cst
E67S/B	<i>S. senftenberg</i>	Sxt
E61S	<i>S. agbeni</i>	Cst
E74S	<i>S. dessau</i>	Sxt
E111S/B	<i>S.sp</i>	Cst
E45ADS/B	<i>S. sp</i>	Cst
E43ADS/C	<i>S. sp</i>	Cst
E43ADS/B	<i>S. sp</i>	Cst
E42ABS	<i>S. sp</i>	Cst
E73S	Umbadah	Tmn
E92S	<i>S. sp</i>	Cst

Table.5 Phenotypes of resistant strains to at least 2 antibiotics

Sample	Serotypes	Phenotypes
E64S	<i>S. II</i>	CefCstMnoTet
E32S	<i>S. virchow</i>	SxtMnoTetNalNorCip
E38S	<i>S. IIIa</i>	MnoTet
E60S	<i>S. sp</i>	CstTmn
E68S	<i>S. sp</i>	SxtMnoTet
E88S	<i>S. II</i>	NalNorCip
E89S	<i>S. gustavia</i>	TetMnoNalNorCip
E108S	<i>S. sp</i>	CstMnoTet
E28ADS	<i>S. sp</i>	CstMnoTet
E29PBS/B	<i>S. sp</i>	MnoNalTet
E66S	<i>S. sp</i>	MnoTet
E90S	<i>S. sp</i>	MnoTet
E28ABS/C	<i>S. sp</i>	CazFoxCroAmcAtmFepCepS xtCxmCstAmpMnoTet

Fig.1 Profile of resistance to antibiotics of *Salmonella* strains



AMP = Ampicillin, AMC = Amoxicillin + clavulanic acid, CEF = Cefalotin, FEP = Cefepime, ATM = Aztreonam, FOX = Cefoxitin, CRO = Ceftriaxone, CAZ = Ceftazidime, CXM = Cefuroxime, IMP = Imipenem, TET = Tetracycline, MNO = Minocycline, GMI = Gentamicin, TMN = Tobramycin, AKN = Amikacin, NAL = nalidixic acid, NOR = Norfloxacin, CIP = Ciprofloxacin, CHL = Chloramphenicol, CST = Colistin et SXT = Trimethoprim / sulfamethoxazole

Salmonella strains subjected to serotyping gave 23 different serotypes and also showed a predominance of *Salmonella II* (6/33). The

frequency of isolation of serovars varies according to region and even country Khar (2006). Resistance profiles obtained in this

study showed a resistance rate of 22.2% for colistin, 16.7% for tetracycline, 16.7% for minocycline, 7.4% for trimethoprim / sulfamethoxazole, 7.4% for nalidixic acid, 5.6% for norfloxacin, 5.6% for ciprofloxacin, 3.7% for tobramycin and 1.9% for cefalotine (Fig. 1). Study results do not corroborate to that of Ahi *et al.*, (1990), who, according to him between 1980 and 1988, all *Salmonellae* isolated in Côte d'Ivoire were sensitive to fluoroquinolones, on the other hand, these results are in agreement with the works of Coulibaly *et al.*, (2009). *Salmonellae* are enterobacteriaceae (Yan *et al.*, 2003), naturally sensitive to betalactamins, aminoglycosides, quinolones, fluoroquinolones and nitrofurantoin. Therefore, strains sensitive to all families of antibiotics could be purely wild strains. This would explain why the acquisition of a multiresistance character would be caused by the misuse of antibiotics in the prophylactic and metaphylactic treatments of animals. Resistance to colistin was rarely observed despite selection pressure (Jensen *et al.*, 1987, Pit *et al.*, 2003), it remains the last choice antibiotic when the use of an antibiotic of the betalactamin family Aminoglycosides, or quinolones seems to be inefficient (Livermore, 2002). The resistance to colistin would come from the contamination of the herds of their immediate environment.

In conclusion, this study showed a high prevalence of *Salmonella* in cattle rearing. Contamination of the environment by these germs can cause the occurrence of infectious diseases in humans and in cattle. For this purpose, further study on *Salmonella* in cattle should be taken in order to determine their pathogenic factors. To check the transmission and spreading of *Salmonella* in cattle breeding biosecurity measures must be taken. Finally, the use of antibiotics in cattle breeding should only be done if necessary to avoid resistant strains of *Salmonella* to antibiotics.

References

- Ahi, K. 1990. Contribution à l'étude de l'espèce *Salmonella* en Côte d'Ivoire. Thèse Méd. Abidjan. Côte d'Ivoire. 133 p.
- Assoumy, A.M. 2009. Contribution à la codification, à l'analyse des statistiques d'importation et à l'étude de qualité des médicaments vétérinaires en Côte d'Ivoire: cas d'Abidjan, d'Anyama et de Bingerville, Thèse de médecine Vétérinaire, Ecole inter-états des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar, Sénégal, 232p.
- Bauer, A.W., W.M. Kirby, J.C. Sherris and Turck, M. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American J. Clin. Pathol.*, 45: 493-496.
- Bean, N. H., J. S. Goulding, M.T. Daniels and Angulo, F.J. 1997. Surveillance for foodborne disease outbreaks - United States, 1988-1992. *J. Food Protection*. 60: 1265-1286.
- Bourgeois C.M et Leveau J.Y., 1991. Le contrôle microbiologique: Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries Agroalimentaires, collection Sciences et techniques agroalimentaire, 3(2): 260-266.
- Brooks, J.T., Matyas, B.T., Fontana, J., DeGroot, M.A., Beuchat, L.R., Hoekstra, M. and Friedman, C.R. 2012. An outbreak of *Salmonella* serotype Typhimurium infections with an unusually long incubation period. *Foodborne Pathog. Dis.*, 9: 245-248
- Coulibaly, E.K., Bakayoko, S., Karou, T.G., Coulibaly, K.J., Goualie, G.B., Dosso, M., and Diopoh, K.J. 2009. Serotyping and antimicrobial resistance of *Salmonella* strains isolated from the livers of chickens sold in the markets of Yopougon (Abidjan Côte d'Ivoire) in 2005. *RASPA* 8: 1-6.

- Coulibaly, K.J., Bakayoko, S., Coulibaly, E.K., Karou, G.T., Goualie, G.B., Akesse, L., Gbonon, C., Boni-Cisse, C., Koffi, K.S., Ekaza, E., N'Douba, A. and Dosso, M. 2010. Biodiversité des *Salmonella* à Abidjan: Etude des isolats de 2003 à 2009 par le centre de référence de l'Institut Pasteur, *RASPA*, 8: 25-30
- Dargatz, D.A., Fedorka-Cray, P.J., Ladely, S.R., Koprak, C.A., Ferris, K.E. and Headrick, M.L. 2003. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolates from US cattle in feedlots in 1999 and 2000. *J. Appl. Microbiol.*, 95: 753–761.
- Dubroca S., Corregé I., Goueset M., Guyomard F., Loiseau m., Salaum Y., Minvielle B., et Le Roux A. 2005. Caractérisation du statut « salmonelles » d'un élevage de porcs: Analyse comparée de la sérologie et de la bactériologie. *Epidémiol et Santé Anim.* 48: 41-49.
- Fedorka-Cray., Dargatz P.J, D.A., Thomas, L.A. and Gray, J.T. 1998. Survey of *Salmonella* serotypes in feedlot cattle. *J. Food Protection*, 61: 525–530.
- Fegan, N., Vanderlinde, P., Higgs, G. and Desmarchelier, P. 2004. Quantification and prevalence of *Salmonella* in beef cattle presenting at slaughter, *J. Appl. Microbiol.*, 97: 892–898.
- Flint, J.A., Van Duynhoven, Y.T., Angulo, F.J., DeLong, S. M., Braun, P., Kirk, M., Scallan, E., Fitzgerald, M., Adak, G. K., Sockett, P., Ellis, A., Hall, G., Gargouri, N., Walke, H., and Braam, P. 2005. Estimating the burden of acute gastroenteritis, foodborne disease, and pathogens commonly transmitted by food: an international review. *Clin. Infect. Dis.*, 41(5): 698-704. Epub 2005 Jul 22. 41, 698-704.
- ISO 6579. 2002(E). Microbiology - General guidance on methods for the detection of *Salmonella*, International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland, 4rd ed.
- Janmohamed, K., Zenner, D., Little, C., Lane, C., Wain, J., Charlett, A., Adak, B. and Morgan, D. 2011. National outbreak of *Salmonella* Enteritidis phage type 14b in England, September to December 2009: case-control study. *Euro Surveill.* 16. Pii: 19840.
- Jensen, T, Pedersen, S.S, and Garne, S.1987. Colistin inhalation therapy in cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. *J. Antimicrobial Chemother.*, 19: 831-8.
- Jung, S.C., Song, S.W., Kim, S.I., Jung, M.E., Kim, K.H., Lee, J.Y. and Lim, S.K. 2007. Surveillance of antimicrobial susceptibility of bacteria isolated from slaughterhouse in Korea. 2. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* spp. isolated from carcasses in slaughterhouse. *Kor. J. Vet. Public Health*, 31: 51–56.
- Kane, M. 2008. Enregistrement, contrôle et harmonisation des législations sur les médicaments à usage vétérinaire en Afrique de l'Ouest. *Conférence de l'OIE sur les médicaments vétérinaires en Afrique*, 25-27 mars 2008, Dakar, Sénégal, pp 1-11
- Karou, G.T, Ouattara, H, Bakayoko, S. 2013. Prevalence of *Salmonella* and distribution of Serovars Isolated from Retail Raw Chicken Gizzards in Abidjan, Côte D'ivoire. *Octa. J. Biosci.*, Vol. 1(2): 115-121.
- Lailier, R., Moury, F., Leclerc, V., Bohnert, M., Cadel-Six, S., and Brisabois, A. 2015. Surveillance de *Salmonella* dans la chaîne alimentaire pour la détection d'émergences en France. *Bulletin épidémiologique, santé animale et alimentation* 68: 11-16.
- Livermore, D.M. 2002. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in

- Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin. Infect. Dis.*, 34: 40-634.
- Losinger, W.C., Garber, L.P., Smith, M.A., Hurd, S.H., Biehl, L.G., Fedorka-Cray, P.J., Thomas, L., and Ferris, K., 1997. Management and nutritional factors associated with the detection of *Salmonella* sp from cattle fecal specimens from feedlot operations in the United States. *Preventative Vet. Med.*, 31: 231-244.
- Mc Donough, P.L., Fogelman D, Shin S.I., Brunner M.A and Lein D.H. 1999. *Salmonella enteric* serotype Dublin infection: an emerging infectious disease for the northeastern United States, *I. Clin. Microbiol.*, pp: 2418-2427.
- Mohammad Hosein Movassagh, Mohammad Shakoori and Jalii Zolfaghari. 2010. The Prevalence of *Salmonella* spp. In Bovine Carcass at Tabriz Slaughterhouse, Iran, *Global Veterinaria*, 5(2): 146-149.
- Pitt, T.L., Sparrow, M., Warner, M. 2003. Survey of resistance of *Pseudomonas aeruginosa* from UK patients with cystic fibrosis to six commonly prescribed antimicrobial agents. *Thorax*, 58: 6-79
- Yan, S.S., ML. Pendrak, B. Abela-Ridder, I.W. Punderson, D.P. Pedorko and S.L. Foley, 2003. An overview of *Salmonella* typing public health perspectives, *Clin. Appl. Immunol. Rev.*, 4(3): 189-204.

How to cite this article:

Yao Kouamé René, Coulibaly Kalpy Julien, Cissé Souleymane, Tiécoura Kouakou Bertin, Goualié Glossi Bernadette, Gueu Kpon Roméo, Yapi Houphouët Felix et Djaman Alico Joseph. 2017. Prevalence of *Salmonella* Strains in Cattle Breeding in the District of Abidjan (Côte d'Ivoire). *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*. 6(3): 1154-1162.
doi: <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.134>

PUBLICATION 2



Molecular Characterisation of Extended-Spectrum Beta-lactamase Producing *Escherichia coli* Isolated from Cattle Faeces in Abidjan District, Ivory Coast

René Kouamé Yao^{1*}, Julien Kalpy Coulibaly², Bertin Konan Tiekoura², Félix Houphouët Yapi¹ and Joseph Allico Djaman¹

¹Laboratory of Biochemical Pharmacodynamic, University Félix Houphouët-Boigny (UFHB), Ivory Coast.

²Department of Bacteriology and Virology, Pasteur Institute (IPCI), Ivory Coast.

Authors' contributions

This work was carried out in collaboration between all authors. All authors read and approved the final manuscript.

Article Information

DOI: 10.9734/MRJI/2018/45271

Editor(s):

(1) Dr. Giuseppe Blaiotta, Professor, Department of Agriculture, Division of "Grape and Wine Sciences", University of Naples Federico II, Via Università' 100 – Palazzo Mascabruno, 80055 Portici, Italy.

(2) Dr. Marcin Lukaszewicz, Department of Biotransformation, Faculty of Biotechnology, University of Wrocław, Wrocław, Poland and Division of Chemistry and Technology Fuels, Wrocław University of Technology, Wrocław, Poland.

Reviewers:

(1) Vivek Kumar Singh, Public Health and Infectious Disease Research Center, Nepal.

(2) Kaunara A. Azizi, Tanzania Food and Nutrition Centre (TFNC), Tanzania.

Complete Peer review History: <http://www.sciencedomain.org/review-history/27732>

Original Research Article

Received 28 September 2018

Accepted 03 December 2018

Published 12 December 2018

ABSTRACT

Aims: To determine the frequency of Extended-Spectrum Beta-lactamase producing *E. coli* strains in cattle farms in Abidjan district (Ivory Coast).

Methodology: A total of 420 bovine faecal samples were collected in five townships in Abidjan district over six (6) month period from April to September 2016. ESBL-producing *E. coli* strains were isolated on Rapid *E. coli* 2 medium supplemented with 2 mg / L ceftazidime (antibiotic). The antibiotic resistance profile was evaluated by the diffusion method in agar media and the detection of strains of Extended-Spectrum Beta-lactamase producing *E. coli* was performed by the double-disk synergy test. Molecular detection of CTX-M, SHV and TEM genes was performed by polymerase chain reaction (PCR).

Results: Out of the 85 strains of *E. coli* isolated (20,2%), 45 strains were confirmed producing ESBL, a prevalence of 52,9%. The *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} and *bla*_{TEM} genes were detected in 15 strains of

*Corresponding author: E-mail: yarene2006@gmail.com;

Extended-Spectrum Beta-lactamase producing *E. coli* resistant to quinolone with respective frequencies of 73,3%, 66,7% and 100%.

Conclusion: This study showed a high prevalence of Extended-Spectrum Beta-lactamase producing *E. coli* strains in cattle faeces in the Abidjan district. A good use of antibiotics would be an alternative to overcome the problem of the emergence of Extended-Spectrum Beta-lactamase producing *E. coli* strains in farms.

Keywords: *E. coli*; extended-spectrum beta-lactamase; cattle; faeces.

1. INTRODUCTION

Increased introduction of antimicrobial agents into animal production has resulted in selective pressures on bacterial populations [1]. The emergence and spread of multidrug-resistant Gram-negative bacteria (MDR) constitute a major public health problem worldwide. Recently, the bacterial resistance resulting from the production of extended spectrum beta-lactamases (ESBL) has been recognised as a global therapeutic problem [2,3]. This resistance is increasingly reported in enterobacteria isolated in humans and animals in recent years [4,5]. The presence of ESBL in Enterobacteriaceae is of great microbiological and clinical importance [6]. Among these ESBL-producing Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* are the most frequent and can be the cause of many infections that can lead to an increase in morbidity, mortality and the cost of treatment [7,8].

Extended-spectrum Beta-Lactamases (ESBLs) are a group of enzymes that promote resistance to most beta-lactams used in human and veterinary medicine, including extended-spectrum cephalosporins, but excluding carbapenems and cephamycins [9]. They are also generally inhibited by beta-lactamase inhibitors, such as clavulanic acid, sulbactam and tazobactam [9,10].

Discovered in the early 1980s, these ESBL enzymes were initially detected in clinical *E. coli* isolates [11] and mainly derived from TEM, SHV and CTX-M [12]. However, ESBL-producing *E. coli* strains are increasingly observed in an increasing number of food animals. Thus, it is well established that antibiotic-resistant bacteria that are selected in animals may be transmitted to the human intestine via the food chain as well as in environmental settings [13]. These animals are recognised as potential reservoirs of ESBL-producing *E. coli* [14] because their role in the dissemination of antibiotic resistance genes has been documented [15].

In Ivory Coast, there is little information on ESBL-producing *E. coli* strains from food producing animals and the possible contribution of these animals in propagating resistance genes in the environment. The overall objective of this study was to determine the prevalence of ESBL-producing *E. coli* strains isolated in cattle faeces in the district of Abidjan, Ivory Coast.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Sample Collection

The sample collection was done in five township of Abidjan district that are Port-Bouët, Abobo, Adjamé, Yopougon and Bingerville. A total of 420 apparently healthy cow faecal samples were collected just after emissions over a six (6) month period from April to September 2016. A quantity of two hundred (200) grams of fresh faeces randomly selected from the different sites was collected. The samples were immediately transported in coolers containing cold accumulators to the microbiology laboratory of the Institut Pasteur for analysis.

2.2 Isolation and Identification of ESBL-producing *E. coli*

All samples collected were analysed for the research of extended-spectrum beta-lactamase-producing *E. coli*. Twenty-five (25) grams of fresh cow faeces sample diluted in 225 mL of buffered peptone water (PEF) (Liofilchem®, Italy) were streak seeded directly onto Rapid' *E. coli* 2 agar (Bio- Rad, France) supplemented with 2 mg / L of ceftazidime, then incubated at 37°C for 24 hours. Three to five characteristic colonies of *E. coli due to their morphological appearance on the agar (purple color)* were randomly selected and then identified using the Leminor's reduced rack. Strains of *E. coli* identified were subsequently confirmed at MALDI-TOF MS (BioMérieux, France). The reference strains *E. coli* ATCC 25922 were used as a control to verify the

efficacy of Rapid' *E. coli* 2 media supplemented with 2 mg / L ceftazidime. *E. coli* ATCC 8739 (Biomérieux, France) was used as a MALDI-TOF calibrating strain (Table 1).

2.3 The Susceptibility of ESBL-producing *E. coli* Strains to Antibiotics

Antibiotic susceptibility tests were carried out on all *E. coli* strains (identified and confirmed) by the diffusion method of disks in an agar medium and the results were interpreted according to the standard of the Antibiogram Committee of the French Society. Microbiology (EUCAST / CA-SFM, 2016). The reference Strain of *E. coli* ATCC25922 was used as a quality control for susceptibility testing. The following antibiotic discs (Bio-Rad France) were used: ampicillin (10 µg), amoxicillin + clavulanic acid (30 µg), cefalotine (30 µg), cefepime (30 µg), aztreonam (30 µg), ceftazidime (30 µg), cefuroxime (30 µg), imipenem (10 µg), tetracycline (30 µg), minocycline (30 µg), gentamicin (10 µg), tobramycin (10 µg), amikacin (30 µg), nalidixic acid (30 µg), norfloxacin (5 µg), ciprofloxacin (5 µg), chloramphenicol (30 µg), colistin (50 µg) and trimethoprim / sulfamethoxazole (25 µg).

Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production was detected by a synergism between amoxicillin / clavulanic acid, placed in the center of the Petri dish containing Müller-Hinton agar, and third-generation cephalosporins

(ceftazidime, Ceftriaxone, cefotaxime), aztreonam and cefepime [16].

2.4 Detection of Beta-lactam Resistance Genes

The search for beta-lactam resistance genes was performed by simplex PCRs on 15 strains of *E. coli* phenotypically identified ESBL-producing and resistant to quinolone. The extraction of the bacterial DNA was carried out on 24-hour colonies, by boiling method [17] followed by purification with phenol-chloroform-alcohol-isomyl (v / v / v) [18]. The primers used in this study are shown in Table 2. The genomic amplification was carried out in a final reaction volume of 50 µl and contained a colored 5X buffer (Promega, USA), a non-colored 5X buffer (Promega, USA), 25 mM MgCl₂ (Promega, USA), 10 mM of each dNTPs (Bio-Rad, France), 5 U / µl of Go taq DNA polymerase (Promega, USA) and 10 µM of specific primers for each target (Table 3). Amplification was performed in a thermocycler (Applied Biosystems, USA). The reference strains provided by the National Food Institute's collection (DTU Food) were used as positive controls for PCR (Table 1) and a reaction mixture without DNA extract served as a negative control. The amplification conditions are reported in Table 4. The amplification products were analysed by electrophoresis on agarose gel at 1,5% prepared from a TAE 10X buffer (Tri-Acetate-EDTA) and 5 µL of a solution of EZ-vision® (InqabaBiotec, West Africa) at 120 volts / cm for 1 hour.

Table 1. Reference strains

Identity	Strains	Beta-lactamase gene	Origin of the reference strain
TEM-104	<i>Salmonella</i> brednoney	TEM	DUT
58.67 Holland	<i>Salmonella</i> virchou	CTX	DUT
DAK2	<i>Salmonella</i> keurmassar	SHV	DUT
ATCC 25922	<i>E. coli</i>	-	IPCI
ATCC 8739	<i>E. coli</i>	-	BioMérieux, France

DUT= Technical University of Denmark; IPCI= Pasteur Institut of Ivory Coast

Table 2. Primer used for amplification of resistance genes by monoplex PCR

Target	Primers	Sequence (5'-3')	Fragment size (pb)	References
<i>bla</i> _{TEM}	TEM front P1	GCGGAACCCCTATTTG	964	[19]
	TEM-C-R-ny	ACCAATGCTTAATCAGTGAG		
<i>bla</i> _{CTX-M}	CTX-M F	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA	544	[20]
	CTX-M R	CGATATCGTTGGTGGTGCCATA		
<i>bla</i> _{SHV}	SHV F	TTTATGGCGTTACCTTTGACC	1051	[21]
	SHV R	ATTTGTCGCTTCTTACTCGC		

Table 3. Reaction mixture

Reagents and DNA extract	Reactional medium (µl)		
	Gene		
	<i>bla_{CTX-M}</i>	<i>bla_{SHV}</i>	<i>bla_{TEM}</i>
Colored buffer (5X)	5	5	2,5
non-colored buffer (5X)	5	5	2,5
MgCl ₂ (25 mM)	3,5	3,5	3,5
dNTPs (10 mM)	2	2	1
Go taq DNA polymérase (5 U/µl)			
Primers Forward (10 µM)	0,5	0,5	0,75
Primers Reverse (10 µM)	0,5	0,5	0,75
Nucléase Free Water	28,3	28,3	33,75
DNA extract	5	5	5

Table 4. Amplification program

Amplification step	Temperature C ° / time / cycle
Initial denaturation	94°C/5 min
Cyclic denaturation	94°C/1 min
Hybridisation	60°C/1 min
Cyclic elongation	72°C/1 min
Final elongation	72°C/7 min
Number of cycles	30 cycles

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Frequency of Isolation of ESBL-producing *E. coli*

A total of 85 strains of resistant *E. coli* were isolated on Rapid' *E. coli* 2 supplemented with 2mg / L of ceftazidime, a prevalence of 20,2%. All isolated strains were tested for susceptibility to antibiotics. The analysis revealed that all isolated strains showed a high level of resistance to beta-lactams with levels ranging from 31,8% to 96,5%. Only imipenem was effective on all strains tested. The results showed a low level of resistance to classical quinolones (nalidixic acid) and fluoroquinolones (ciprofloxacin and norfloxacin) with resistance rates ranging from 16,5% to 17,6%. A very high resistance was observed for cyclins with rates of 69,4% (minocycline) and 97,6% (tetracycline). Concerning the aminoglycosides (gentamicin, tobramycin, amikacin) relatively lower levels ranging from 10,6% to 34,1% were obtained. High resistance levels were obtained with colistin (58,8%) and trimethoprim / sulfamethoxazole (69,4%). However, chloramphenicol showed a low resistance level of 7,1% (Table 5). All isolated strains showed a multidrug resistance

phenotype to at least two (2) families of antibiotics. Thus, of the 85 strains of *E. coli* isolated, 45 strains were confirmed to produce Extended-Spectrum Beta-lactamase (ESBL) (double synergistic tests), a prevalence of 52,9% (Fig. 1).

Table 5. Antibiotic resistance profile

Antibiotic family	Resistance rate (%)
	R (n=85)
Ampicillin (AMP)	92,9
Amoxicillin + clavulanic acid (AMC)	61,2
Cefalotine (CEF)	96,5
Cefuroxime (CXM)	85,9
Cefoxitin (FOX)	31,8
Ceftriaxone (CRO)	89,4
Ceftazidime (CAZ)	84,7
Cefepime (FEP)	87,1
Aztreonam (ATM)	95,3
Imipenem (IMP)	0
Nalidixic acid (NAL)	17,6
Ciprofloxacin (CIP)	17,6
Norfloxacin (NOR)	16,5
Tétracycline (TET)	97,6
Minocycline (MNO)	69,4
Amikacin (AKN)	10,6
Tobramycin (TMN)	22,4
Gentamycin (GEN)	34,1
Colistin (CST)	58,8
Chloramphénicol (CHL)	7,1
Triméthoprim/sulfaméthoxazole (SXT)	69,4

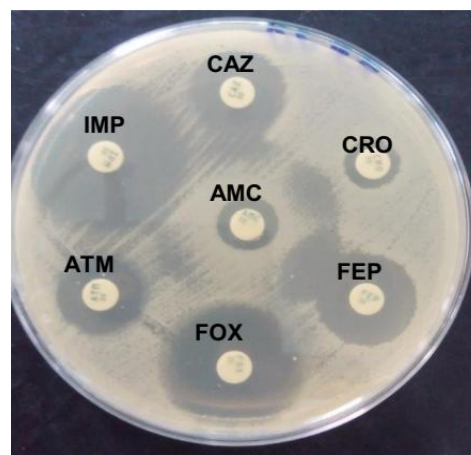


Fig. 1. Image showing the keyhole phenomenon of Double Disc synergy Test (DDS)

AMC = amoxicillin + clavulanic acid; FOX = cefoxitin; CRO = ceftriaxone; CAZ = ceftazidime; FEP = cefepime; ATM = aztreonam; IMP = Imipenem

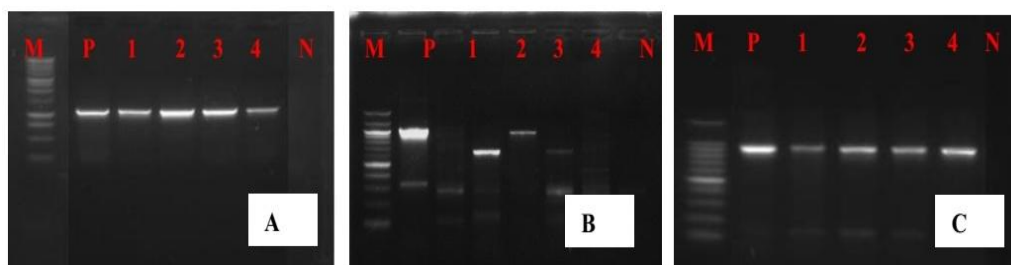


Fig. 2. Electrophoretic profile of the beta-lactam resistance genes on agarose gel at 1.5%
 A: detection of the *bla*_{CTX-M} gene (544 bp); B: detection of the *bla*_{SHV} gene (1051bp); C: detection of the gene *bla*_{TEM} (964bp); M: Molecular weight marker (100 bp DNA Ladder); P: Positive control; Number 1 to 5: Bacterial strains; N: Negative control

3.2 Detection of Beta-lactamase Genes in ESBL-producing *E. coli* Isolates

Overall, PCR results showed a high level of detection of beta-lactamase genes (Fig. 2). Out of 15 strains of *E. coli* producing ESBL and resistant to quinolone tested, the *bla*_{CTX} (544pb), *bla*_{SHV} (1051pb) and *bla*_{TEM} (964pb) genes were detected with respective frequencies of 73,3%, 66,7% and 100% (Table 6). The associations of beta-lactam resistance genes have also been observed (Table 7).

Table 6. Detection of beta-lactam resistance genes

Strains	Number of genes detected			Total
	<i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{SHV}	<i>bla</i> _{TEM}	
<i>E. coli</i>	11	10	15	15
Frequency (%)	73,3	66,7%	100%	100%

Table 7. Genotypic profiles of extended-spectrum beta-lactamase producing *E. coli* strains

Profiles	Genotypes	Fréquency (%)
P1	<i>bla</i> _{CTX-M} / <i>bla</i> _{SHV} / <i>bla</i> _{TEM}	60%
P2	<i>bla</i> _{CTX-M} / <i>bla</i> _{TEM}	13,3%
P3	<i>bla</i> _{SHV} / <i>bla</i> _{TEM}	6,7%
P4	<i>bla</i> _{TEM}	20%

3.3 Discussion

The isolation of resistant *E. coli* strains on Rapid^{E. coli} 2 medium supplemented with ceftazidime revealed a prevalence of 20,2%. Several studies have been conducted to evaluate the prevalence of resistant *E. coli* in cattle

faeces. Some studies have reported prevalence lower than that found in this study. This is the case of studies conducted by Sudarwanto et al. [22] in Indonesia and Medhanie et al. [23] in the United States, which revealed prevalence rates of 8,6% and 13,4%, respectively. Other studies have, however, reported higher prevalence. In France, Haenni et al. [24] detected a prevalence rate of 29,4%. In addition, Hille et al. [25] in Germany, reported a prevalence twice as high as that obtained in this study (43%). This difference in prevalence could be attributed to the isolation methodology used. Indeed, all of the studies cited above applied isolation protocols different to those used in this study, including a non-selective pre-enrichment step followed by a selective agar culture, containing 2 mg / L of cefotaxime.

However, a study conducted in Switzerland by Endimiani et al. [26] on surveillance of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in bovine faeces, using selective agar containing 2 mg / L ceftazidime reported a prevalence of 3,9%. In addition, the comparability of these cited studies may be hindered by the level of antibiotic consumption. Moreover, the detection of resistant *E. coli* strains in cattle faeces reflects the poor use of antibiotics during the practice of breeding [27]. The antibiotic resistance is therefore the evolutionary response of bacteria to the high selective pressure resulting from antibiotic exposure [28].

The *E. coli* strains isolated showed as whole a high level of resistance to beta-lactams. The beta-lactam antibiotics, mainly cephalosporins, are commonly used in veterinary medicine because they are effective in treating environmental mastitis largely caused by strains of *E. coli* [29]. This high prevalence of beta-lactam resistance would be due to the use often

abusive and uncontrolled of beta-lactam antibiotics in livestock. Many previous studies have also reported this high resistance to beta-lactam antibiotics in *E. coli* strains on farms [30, 14]. Among the beta-lactam antibiotics tested, only imipenem was more active on all isolated strains. Of this fact, imipenem constitutes an antibiotic of choice for the treatment of the infections due to multidrug-resistant bacteria [31, 32]. Concerning resistance to quinolones and fluoroquinolones, resistance rates close to those observed in our study were reported by Yassin et al. [33] in China (nalidixic acid (13,1%) and ciprofloxacin (21,3%)). However, lower results than those obtained in our work were reported by Abbassi et al. [34] with rates of 6,7% for nalidixic acid and 3,3% for ciprofloxacin. Very high levels of resistance to nalidixic acid and ciprofloxacin have been observed in Nigeria by Ogunleye et al. [35] with respective rates of 61,7% and 51,3%. It is important to underline the upsurge of the resistance of *E. coli* strains to the cyclin family, in particular, the tetracyclines which are old molecules widely used in first intention. The tetracyclines are one of the most widely used classes of antimicrobial agents in human and veterinary medicine because they present several advantages, including a broad spectrum of activity, a weak cost, oral administration and few secondary effects [36]. This high use of tetracycline in farms has also been reported in Ivory Coast by Ouattara et al. [37]. Therefore, the high resistance to tetracycline in *E. coli* observed in this study would likely be due to the horizontal transfer of resistance genes between *E. coli* populations that have survived the selective pressure caused by the uncontrolled use of this antimicrobial agent. The resistance to colistin was quite important in this work with a frequency of 58,8%. The rates obtained in this work are worrying because they are much higher than the rates reported in several studies [38,39,40,41]. This high prevalence of colistin resistance may be due to the increasing use of colistin on farms. The mechanism of resistance to colistin was known as chromosomal mutations and its spread was therefore limited to vertical transmission [42]. In recent years plasmid-mediated resistance involving the *mrc-1* gene has been discovered [43]. The ESBL-producing strains of *E. coli* isolated in cattle faeces have been reported by several authors [44,45]. In our study, this frequency was 52,94%. This frequency is higher than that observed by Schmid et al. [5] which was 32%. Lower frequencies were detected by Faruk et al. [46]. The frequency obtained in our study is close to that reported by Dahms et al.

[47] which is 54,4%. However, Stefani et al. [48] detected higher frequencies compared to the one detected in our study. This strong presence of the ESBL-producing *E. coli* strains may be due to misuse of third- and fourth-generation cephalosporins in farms. In this study, the results revealed a high prevalence of the *bla_{TEM}* gene among isolated ESBL-producing *E. coli* strains. This result is similar to other studies [49,50]. However, other results showed that the *bla_{CTX-M}* gene was most detected in the ESBL-producing *E. coli* strains [16,14]. According to studies conducted by Sudarwanto et al. [22] in Indonesia, *bla_{CTX-M}* genes were the most widespread type of ESBL in most regions of the world, where the significant increase in ESBL incidence in enterobacteria was attributed to the spread of the members of CTX-M family. The rapid proliferation and worldwide spread of CTX-M in *E. coli* constitute a topic of preoccupation in both human and veterinary medicine [51]. In addition, Njage and Buys, [52] have reported that plasmids carrying CTX-M can transfer these determinants to other commensal enterobacteria. The enzymes of TEM and SHV type are able to hydrolyse cephalosporins but are unable to hydrolyse carbapenems. However, there are some variants that are not considered ESBL because they do not present activity on cephalosporins [53]. Although the subclasses of these enzymes can be differentiated, the double synergy test has shown the production of ESBL. It can be supposed that these classes of enzymes are responsible for the observed phenotypic profile, or that other classes of enzymes are produced by the bacteria. The importance of the *bla_{TEM}* and *bla_{SHV}* genes has been significantly reduced because of the rapid increase of *bla_{CTX-M}* genes [53]. Several studies have highlighted the alarming emergence of these beta-lactamase genes in cattle faeces. The high levels of ESBL-producing *E. coli* strains carrying the *bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}* and *bla_{SHV}* genes obtained in our study were also reported by Geser et al. [54].

4. CONCLUSION

This study showed that cattle are reservoirs of ESBL-producing *E. coli* strains. Indeed, strains of ESBL-producing *E. coli* with multiple resistance to other antibiotic families have been isolated with a high prevalence in cattle faeces in the Abidjan district, which testifies the misuse of antibiotics in farms. However, all ESBL-producing *E. coli* strains remained sensitive to imipenem, which is considered an antibiotic of

choice for serious infections. Molecular determination of resistance markers also revealed a high level of *bla* genes (CTX-M, SHV and TEM). These highly antibiotic-resistant strains may contribute to resistance acquired by transfer of resistance genes to other bacterial strains other than *E. coli*. These antibiotic resistance genes can be easily disseminated in the environment, in foods, in animals and in human. This spread can constitute a public health risk. In addition, it would be necessary to evaluate the mode of propagation of strains of *E. coli* producing ESBL in farms.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors would like to thank Professor Mireille DOSSO, director of the Pasteur Institute of Côte d'Ivoire for her wise advice. It is also the place to sincerely thank Dr. DAGNOGO Komissiri, Director of slaughterhouse of the district of Abidjan, Dr. KOUADIO Adaman and Dr. KALO Vessaly of the Veterinary Services Directorate. Thanks to all those whom made this study possible.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

- Dolejská M, Bierošová B, Kohoutová L, Literák I, Čížek A. Antibiotic-resistant *Salmonella* and *Escherichia coli* isolates with integrons and extended-spectrum beta-lactamases in surface water and sympatric black-headed gulls. *J. Appl. Microbiol.* 2009;106(6):1941-1950.
- Bush K. Extended-spectrum β -lactamases in North America 1987–2006. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14:134–143.
- Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, et al. Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 2008;14: 144-153.
- Urumova V. Extended spectrum beta lactamase producing animal enterobacteriaceae isolates as potential risk to public health. *Rev. Med. Vet.* 2015; 166:192-207.
- Schmid A, Hörmansdorfer S, Messelhäusser U, Käsbohrer A, Sauter-Louis C, Mansfeld R. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* on Bavarian dairy and beef cattle farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013;79(9):3027-3032.
- Falagas ME, Karageorgopoulos DE. Extended-spectrum β -lactamase-producing organisms. *J. Hosp. Infect.* 2009;73(4): 345-354.
- Peña C, Gudiol C, Tubau F, Saballs M, Pujol M, Dominguez MA et al. Risk-factors for acquisition of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among hospitalised patients. *Clin. Microbiol. Infect.* 2006;12(3):279-284.
- EFSA (European Food Safety Authority) Scientific Opinion on the public health risks of bacterial strains producing extended-spectrum β -lactamases and/or AmpC β -lactamases in food and food-producing animals. *Eur. Food Saf. Auth. J.* 2011;9: 2322-2417.
- Coque TM, Baquero F, Cantón R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance.* 2008;13(47):1-16.
- Payne DJ, Cramp R, Winstanley DJ, Knowles DJC. Comparative activities of clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam against clinically important β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 1994;38(4):767-772.
- Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern, *Lancet Infect.* 2008; 8(3):159-166.
- Pitout JD. Enterobacteriaceae producing ESBLs in the community: Are they a real threat?. *Infect. Med.* 2007;24:57-65.
- Agabou A, Lezzar N, Ouchenane Z, Khemissi S, Satta D, Sotto A, et al. Clonal relationship between human and avian ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* isolates in North-Eastern Algeria, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2015;35:227-234.
- Olowe OA, Adewumi O, Odewale G, Ojurongbe O, Adefioye OJ. Phenotypic and molecular characterisation of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* obtained from animal fecal samples in Ado Ekiti, Nigeria. *Journal of Environmental and Public Health.* 2015;1-7.
- Belmahdi M, Bakour S, Al Bayssari C, Touati A, Rolain JM. Molecular characterisation of extended-spectrum β -

- lactamase and plasmid AmpC-producing *Escherichia coli* strains isolated from broilers in Béjaïa, Algeria. J. Glob. Antimicrob. Resist. 2016;6:108-112.
16. Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: Hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev. Infect. Dis. 1988;10(4):867-78.
 17. Lee VT, Smith RS, Tümmler B, Lory S. Activities of *Pseudomonas aeruginosa* effectors secreted by the type III secretion system *in vitro* and during infection. Infect. Immun. 2005;73(3):1695-1705.
 18. Serghini MA, Ritzenthaler C, Pinck L. A rapid and efficient miniprep for isolation of plasmid DNA. Press Nucleic Acids Research. 1989;17(9):3604.
 19. Olesen I, Hasman H, Aarestrup FM. Prevalence of B-Lactamases among Ampicillin-Resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from food animals in Denmark. Microb. Drug Resist. 2004;10(4): 334-340.
 20. Birkett CI, Ludlam HA, Woodford N, Brown DFJ, Brown NM, Roberts MTM, et al. Real-time TaqMan PCR for rapid detection and typing of genes encoding CTX-M extended-spectrum b-lactamases. J. Med. Microbiol. 2007;56:52-55.
 21. Yagi T, Kurokawa H, Shibata N, Shibayama K, Arakawa Y. A preliminary survey of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan. FEMS Microbiol. Lett. 2000;184:53-56.
 22. Sudarwanto MB, Lukman DW, Latif H, Pisestyani H, Sukmawinata E, Akineden O et al. CTX-M producing *Escherichia coli* isolated from cattle feces in Bogor slaughterhouse, Indonesia. Asian Pac. J. Trop. Biomed. 2016;6(7):605-608.
 23. Medhanie GA, Pearl DL, McEwen SA, Guerin MT, Jardine CM, Schrock J et al. On-farm starling populations and other environmental and management factors associated with the presence of cefotaxime and ciprofloxacin resistant *E. coli* among dairy cattle in Ohio. Prev. Vet. Med. 2016; 134:122-127.
 24. Haenni M, Chatre P, Metayer V, Bour M, Signol E, Madec JY, Gay E. Comparative prevalence and characterization of ESBL-producing Enterobacteriaceae in dominant versus subdominant enteric flora in veal calves at slaughterhouse, France. Veterinary Microbiology. 2014;171:321-327.
 25. Hille K, Ruddat I, Schmid A, Hering J, Hartmann M, von Münchhausen C, et al. Cefotaxime-resistant *E. coli* in dairy and beef cattle farms—Joint analyses of two cross-sectional investigations in Germany. Prev. Vet. Med. 2017;142:39-45.
 26. Endimiani A, Rossano A, Kunz D, Overesch G, Perreten V. First countrywide survey of third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from broilers, swine, and cattle in Switzerland. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2012;73(1): 31-38.
 27. Sanders P, Perrin-Guyomard A, Moulin G. Évolution De L'Utilisation Des Antibiotiques En Production Animale. Cah. Nutr. Diet. 2017;52(6):301-311. French.
 28. Wright GD. Q&A: Antibiotic resistance: Where does it come from and what can we do about it?. BMC Biol. 2010;8(1):123.
 29. Shpigel NY, Levin D, Winkler M, Saran A, Ziv G, Böttner A. Efficacy of cefquinome for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Escherichia coli*. J. Dairy Sci. 1997;80(2):318-323.
 30. Ajayi AO, Oluyeye AO, Olowe OA, Famurewa O. Antibiotic resistance among commensal *Escherichia coli* isolated from faeces of cattle in Ado-Ekiti, Nigeria. J. Anim. Vet. Adv. 2011;10(2):174-179.
 31. Paterson DL, Ko W-C, Von Gottberg A, Mohapatra S, Casellas JM, Goossens H et al. Antibiotic Therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Implications of production of extended-spectrum β -Lactamases. Clin. Infect. Dis. 2004;39(1): 31-37.
 32. Rodloff AC, Goldstein EJC, Torres A. Two decades of imipenem therapy. J. Antimicrob. Chemother. 2006;58(5):916-929.
 33. Yassin AK, Gong J, Kelly P, Lu G, Guardabassi L, Wei L, et al. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolates from poultry and livestock, China. PLoS One. 2017;12(9):e0185326.
 34. Abbassi SM, Kilani H, Zouari M, Mansouri R, Fekih OE, Hammami S et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolates from healthy poultry, bovine and ovine in Tunisia: A real animal and human health threat. J Clin Microbiol Biochem Technol. 2017;3(2):19-23.

35. Ogunleye AO, Okunlade AO, Jeminlehin FO, Ajuwape ATP. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from healthy cattle at a major cattle market in Ibadan, Oyo. African Journal of Microbiology Research. 2013;7(37):4572-4575.
36. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: Mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2001;65(2):232-60.
37. Ouattara ND, Guessenn N, Gbonon V, Toe E, Dadié T, Tiécoura B. Consommation des antibiotiques dans la filière aviaire à Abidjan : Cas de quelques fermes semi-industrielles. Eur. J. Sci. Res. 2013;94:80-85.
38. de Jong A, Bywater R, Butty P, Deroover E, Godinho K, Klein U, et al. A pan-European survey of antimicrobial susceptibility towards human-use antimicrobial drugs among zoonotic and commensal enteric bacteria isolated from healthy food-producing animals. J. Antimicrob. Chemother. 2009;63(4):733-744.
39. Kempf I, Jouy E, Chauvin C. Colistin use and colistin resistance in bacteria from animals. Int. J. Antimicrob. Agents. 2016; 48(6):598-606.
40. Kempf I, Fleury MA, Drider D, Bruneau M, Sanders P, Chauvin C et al. What do we know about resistance to colistin in Enterobacteriaceae in avian and pig production in Europe?. Int. J. Antimicrob. Agents. 2013;42(5):379-383.
41. Huang X, Yu L, Chen X, Zhi C, Yao X, Liu Y. High Prevalence of Colistin Resistance and mcr-1 Gene in *Escherichia coli* Isolated from Food Animals in China. Frontiers in Microbiology. 2017;8:1-5.
42. Lim LM, Ly N, Anderson D, Yang JC, Macander L, Jarkowski A, et al. Resurgence of colistin: A review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing. Pharmacotherapy. 2010;30: 1279-1291.
43. Liu Y-Y, Wang Y, Walsh TR, Yi L-X, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. Lancet Infect. Dis. 2016;16(2):161-168.
44. Hartmann A, Locatelli A, Amoureux L, Depret G, Jolivet C, Gueneau E, et al. Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy region). Front. Microbiol. 2012;3:1-7.
45. Nguyen DP, Nguyen TAD, Le TH, Tran NMD, Ngo TP, Dang VC et al. Dissemination of Extended-Spectrum β -Lactamase and AmpC β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* within the Food Distribution System of Ho Chi Minh City, Vietnam. Biomed Res. Int. 2016;2016: 1-9.
46. Faruk P, Hulya T, Dilek O, Hakan Y. Molecular characterization of esbl-producing *Escherichia coli* isolated from healthy cattle and sheep. Acta Vet. 2016; 66(4):520-533.
47. Dahms C, Hübner N-O, Kossow A, Mellmann A, Dittmann K, Kramer A et al. Occurrence of ESBL-Producing *Escherichia coli* in Livestock and Farm Workers in Mecklenburg-Western Pomerania, Germany. PLoS ONE. 2015; 10(11): e0143326.
48. Stefani S, Giovanelli I, Anacarso I, Condò C, Messi P, Niederhäusern SD, et al. "Prevalence and characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in food-producing animals in Northern Italy. New Microbiologica. 2014;37:551-555.
49. Awosile B, McClure J, Sanchez J, Rodriguez-Lecompte JC, Keefe G, Heider LC. Salmonella enterica and extended-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* recovered from Holstein dairy calves from 8 farms in New Brunswick, Canada. J. Dairy Sci. 2018; 101:3271-3284.
50. Cormier AC, Chalmers G, McAllister TA, Cook S, Zaheer R, Scott HM, et al. Extended-spectrum-cephalosporin resistance genes in *Escherichia coli* from beef cattle. Antimicrob. Agents Chemother. 2016;60:1162-1163.
51. Tamang MD, Gurung M, Kang MS, Nam HM, Moon DC, Jang GC, et al. Characterization of plasmids encoding CTX-M β -lactamase and their addiction systems in *Escherichia coli* isolates from animals. Vet. Microbiol. 2014;174:456-462.
52. Njage PMK, Buys EM. Pathogenic and commensal *Escherichia coli* from irrigation water show potential in transmission of extended spectrum and AmpC β -lactamases determinants to isolates from lettuce. Microb. Biotechnol. 2015;8(3):462-473.

53. Woods DF, Reen FJ, Gilroy D, Buckley J, Frye JG, Boyd EF. Rapid multiplex PCR and real-time TaqMan PCR assays for detection of *Salmonella enterica* and the highly virulent serovars choleraesuis and Paratyphi C. J. Clin. Microbiol. 2008;46: 4018-4022.
54. Geser N, Stephan R, Hächler H. Occurrence and characteristics of extended- spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in food producing animals, minced meat and raw milk. BMC Veterinary Research. 2012; 8:21.

© 2018 Yao et al.; This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Peer-review history:

The peer review history for this paper can be accessed here:
<http://www.sciencedomain.org/review-history/27732>

ANNEXES

ANNEXE 1 : QUESTIONNAIRE D'ENQUETE SUR L'UTILISATION DES ANTIBIOTIQUES EN ELEVAGE BOVIN

N° de fiche :

Site d'étude :

Activité principale :

I/ Information sur le vendeur

1) Identité du vendeur

- Nom et Prénom :
- Nationalité :

2) Niveau d'étude

- Primaire
- Collège
- Sans diplôme

3) Avez-vous suivi des formations :

- Qualifiantes ?
 - Oui
 - Non
 - Si Oui préciser
- Diplômantes ?
 - Oui
 - Non
 - Si Oui : préciser

4) Depuis combien de temps pratiquez-vous la vente de bétails ?

- Moins de 5 ans
- Entre 5 et 10 ans
- Entre 10 et 15
- Entre 15 et 20
- Entre 20 et plus

II/ Information sur le parc à bétail

1) Nombre de bétails total au jour de l'enquête :

- Moins de 50
- Entre 50 et 100
- Entre 100 et 150
- Entre 150 et 200

- Entre 200 et 250
- Entre 250 et 300
- Plus de 300

2) Age moyen de vente des animaux :

- moins de 5 ans
- entre 5 et 10 ans
- plus de 10 ans

3) savez-vous d'où provient votre bétail ?

- Oui
- Non
- si Oui précisez le lieu (ville ou pays) :

4) Vos animaux tombent-ils souvent malade ?

- oui
- non

III/ Information sur les antibiotiques :

1) Comment soignez-vous votre bétail ?

- Avec des médicaments pharmaceutiques
- Sans médicaments pharmaceutiques

2) a) Quel genre de médicaments utilisez-vous pour soigner votre bétail ?

- Antibiotique
- Autre médicament

b) Lister les antibiotiques que vous utilisez (dans le cas où vous utilisez les antibiotiques) :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

3) Dans quel(s) but(s) utilisez-vous les antibiotiques ?

- Traitement curatif
- Traitement préventif
- Traitement de croissance

4) A quelle dose utilisez-vous l'antibiotique ?

.....
.....
.....
5) Quelle est la fréquence d'utilisation des antibiotiques pendant le traitement ?

- Chaque jour
- Par semaine
- Par moi
- Par trimestre

6) Combien de fois utilisez-vous des antibiotiques pendant le traitement ?

- Une fois
- 2 fois
- Entre 2 à 5 fois
- Plus de 5 fois

7) Comment administrez-vous les antibiotiques aux bétails ?

- Eau de boisson
- Aliment
- Injection
- Autre

IV/ Information sur le vétérinaire

1) Avez-vous un vétérinaire ?

- Oui
- non

2) A quelle fréquence vous rend-t-il visite ?

- par semaine
- par mois
- par trimestre
- Pas de visite

3) Avez-vous un registre d'élevage pour consigner les divers actes sur vos animaux ?

- oui
- non

V/ Approvisionnement en antibiotique

1) Approvisionnez-vous en antibiotique suite à une prescription d'un vétérinaire ?

- Oui
- Non

2) Où achetez-vous les antibiotiques ?

- Au marché à bétail
- Dans une pharmacie vétérinaire
- Chez un vendeur ambulancier

3) Sollicitez-vous un conseil vétérinaire lorsque vous allez chercher des antibiotiques ?

- Toujours
- Parfois
- Jamais

VI / Antibiothérapie

1) Estimez-vous le poids de vos animaux avant de leur administrer un antibiotique ?

- Toujours
- Parfois
- Jamais

2) Votre vétérinaire vous montre-t-il comment administrer les divers antibiotiques qu'il vous prescrit ?

- Oui
- Non

3) Diriez-vous que, pour les antibiotiques, vous suivez la prescription quant à :

Durée d'administration, Posologie, Fréquence d'administration

- Oui
- Non

4) Quel est votre critère d'arrêt d'un traitement antibiotique ?

- Amélioration
- Guérison
- Durée indiquée sur la notice ou par votre vétérinaire

5) Quelle est votre première attitude face à un animal malade ?

- Appel du vétérinaire
- Mise en place d'un traitement antibiotique
- Autre attitude

ANNEXE 2 : PHOTOGRAPHIE DE FERME ET PARC A BETAIL

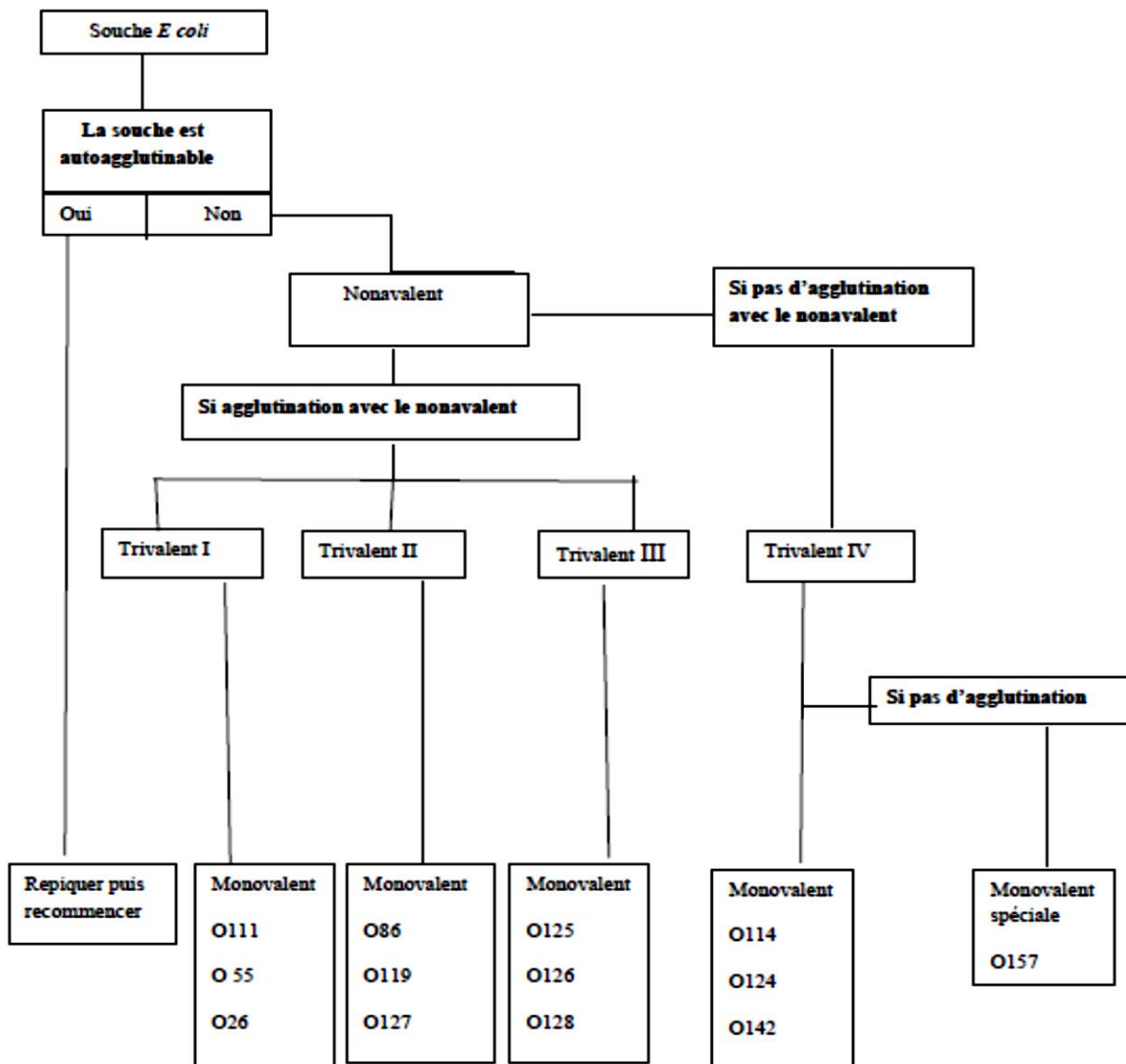


Photo1 : Ferme dans la commune de Port-Bouët (Yao, 2017)



Photo2 : Parc à bétail dans la commune d'Adjamé (Yao, 2017)

ANNEXE 3 : SCHEMA DE SEROGROUPAGE DES SOUCHES DE *ESCHERICHIA COLI*



ANNEXE 4 : PHOTOGRAPHIE DE ADAGIO™ ET DU MALDI-TOF



Photo4 :Système automatisé ADAGIO™



Photo 5: MALDI-TOF vitek MS

Résumé :

La résistance bactérienne aux antibiotiques est devenue un sujet de préoccupation croissante pour le grand public et fait l'objet d'un intérêt scientifique accru. L'objectif général de ce travail est d'étudier l'impact des traitements antibiotique chez l'animal sur l'antibiorésistance des bactéries pathogènes humaine.

Pour cette étude une enquête transversale a été menée dans les fermes et parcs à bétail de cinq localités du district d'Abidjan (Port-Bouët, Yopougon, Adjamé, Abobo et Bingerville) avant les différents prélèvements. Les souches de *Salmonella* et *E. coli* BLSE ont été isolées des différents prélèvements de bouses fraîches de bovin respectivement sur les milieux Hektoen et Rapid *E. coli* 2 contenant 2mg/L de Ceftazidime. Un test de sensibilité aux antibiotiques a permis de déterminer les profils de résistances des souches isolées. La recherche des différents gènes de résistances aux antibiotiques et de virulences a été réalisée par la technique de PCR.

Les résultats de l'enquête ont montré une forte utilisation de la tétracycline dans les élevages. Aussi, sur un total de 420 échantillons de bouses analysés, les souches de *Salmonella* et *E. coli* BLSE ont été isolées avec des proportions respectives de 20% et 20,2%. Le profil de résistance des souches de *Salmonella* a montré des niveaux de résistances relativement élevés à la tétracycline, à la minocycline et à la colistine avec des taux variant de 20,2% à 33,3%. Cependant, de faibles niveaux de résistance ont été observés aux β -lactamines, aux aminosides, aux fluoroquinolones et aux triméthoprime/sulfaméthoxazole avec des taux de résistances variant de 1,2% à 6%. En ce qui concerne les souches de *E. coli*, elles ont présenté dans l'ensemble des taux de résistances élevés à la colistine, aux triméthoprime/sulfaméthoxazole, aux cyclines et aux β -lactamines et ont varié de 58,8% à 97,6%. Par contre, des taux de résistances relativement faibles ont été observés aux aminosides, aux phénicolés et aux fluoroquinolones et ont varié de 7,1% à 34,1%. La recherche des gènes de résistance par PCR réalisée sur 26 souches de *Salmonella* et 15 souches de *E. coli* BLSE a révélé, chez *Salmonella* la présence de gène *bla_{SHV}* (7,7%), *bla_{TEM}* (57,7%), *qnrB* (30,8%), *qnrS* (7,7%) et *tetA* (7,6%). Concernant les souches de *E. coli* BLSE, la PCR a révélé la présence de gènes *bla_{CTX}* (73,3%), *bla_{SHV}* (66,7%), *bla_{TEM}* (100%), *qnrA* (100%), *qnrB* (93,3%), *qnrS* (60%) et *tetA* (66,7%). Par ailleurs, aucun gène *bla_{CTX}* et *qnrA* n'a été détecté chez les souches de *Salmonella*. La recherche des gènes de virulence par PCR a montré que ces souches possèdent au moins un gène de virulence. Chez les *Salmonella* les gènes *invA*, *spvC* et *iroN* ont été détectés respectivement à 100%, 3,9% et 53,9%. Quant aux souches de *E. coli* BLSE, les gènes *stx1*, *stx2*, *eae*, *sta* et *lt* ont été détectés respectivement à 40%, 60%, 86,7%, 2% et 13,3%.

Les mauvaises pratiques de l'antibiothérapie dans les élevages contribuent à la dissémination des bactéries potentiellement pathogènes et résistantes aux antibiotiques au sein de la population humaine. D'où la nécessité de mettre en place un bon plan de surveillance des antibiotiques dans les élevages.

Mots clés : Antibiotique, bovin, résistance, virulence, Abidjan, Côte d'Ivoire.

Abstract :

Bacterial resistance to antibiotics has become a growing concern for the general public and is of increasing scientific interest. The aim of this work is to study the impact of antibiotic treatments in animals on the antibiotic resistance of human pathogenic bacteria.

For this study, a cross-sectional survey was carried out on farms and cattle yards in five localities of the Abidjan district (Port-Bouët, Yopougon, Adjamé, Abobo and Bingerville) before the various samples. Strains of *Salmonella* and ESBL *E. coli* were isolated from the different samples of fresh bovine stool respectively on Hektoen and Rapid *E. coli* 2 media containing 2 mg / L of Ceftazidime. An antibiotic susceptibility test was used to determine the resistance profiles of the isolated strains. The search for the different antibiotic resistance and virulence genes was carried out by the PCR technique.

The results of the survey showed a high use of tetracycline in farms. Also, out of a total of 420 dung samples analyzed, *Salmonella* and ESBL *E. coli* strains were isolated with 20% and 20.2% respectively. The resistance profile of *Salmonella* strains showed relatively high levels of resistance to tetracycline, minocycline and colistin with rates ranging from 20.2% to 33.3%. However, low levels of resistance were observed with β -lactams, aminoglycosides, fluoroquinolones and trimethoprim / sulfamethoxazole with resistance rates ranging from 1.2% to 6%. For *E. coli* strains, they had high overall resistance rates to colistin, trimethoprim/sulfamethoxazole, cyclins and β -lactamines and ranged from 58.8% to 97.6%. In contrast, relatively low resistance rates were observed for aminoglycosides, phenicols and fluoroquinolones and ranged from 7.1% to 34.1%. The search for resistance genes by PCR carried out on 26 *Salmonella* strains and 15 *E. coli* BLSE strains revealed the presence of *bla_{SHV}* (7.7%), *bla_{TEM}* (57.7%), *qnrB* (30.8%), *qnrS* (7.7%) and *tetA* (7.6%) genes in *Salmonella*. For the ESBL *E. coli* strains, PCR revealed the presence of *bla_{CTX}* (73.33%), *bla_{SHV}* (66.7%), *bla_{TEM}* (100%), *qnrA* (100%), *qnrB* (93.3%), *qnrS* (60%) and *tetA* (66.7%). In addition, no *bla_{CTX}* and *qnrA* genes were detected in *Salmonella* strains. The search for virulence genes by PCR has shown that these strains possess at least one virulence gene. In *Salmonella*, the *invA*, *spvC* and *iroN* genes were detected at 100%, 3.8% and 53.8% respectively. For *E. coli* BLSE strains, the *stx1*, *stx2*, *eae*, *sta* and *lt* genes were detected at 40%, 60%, 86.7%, 2% and 13.3% respectively.

Bad practices of antibiotic therapy in farms contribute to the spread of potentially pathogenic and antibiotic-resistant bacteria within the human population. Hence the need to put in place a good plan for monitoring antibiotics on farms.

Key words : Antibiotic, cattle, resistance, virulence, Abidjan, Ivory Coast.