

édition **2013**

Antibiogrammes

Rapport d'activités et résultats de l'ARSIA



Résultats 2010 à 2012 par rapport aux résultats 2005 à 2009

4^{ème}
édition

Avant propos

Si l'antibiorésistance est une conséquence naturelle de l'utilisation des antibiotiques, l'usage massif de ces derniers semble nous conduire vers une impasse thérapeutique si des mesures sérieuses ne sont pas prises.

Force est de constater que ce problème a été trop régulièrement occulté par la mise sur le marché de nombreux antibiotiques. Maintenant, les nouveaux produits se font de plus en plus rares et les dernières molécules disponibles perdent de leur efficacité et rendent compliqué le travail de nos praticiens.

Pour contrecarrer ce phénomène, les autorités et le monde médical se mobilisent depuis plusieurs années en créant divers organismes qui tantôt étudient le phénomène, tantôt sensibilisent les acteurs, tantôt proposent aux décideurs des mesures coercitives.

Quoi qu'il en soit, chacun doit assumer ses responsabilités et tenir son rôle.

C'est ce que l'ARSIA tente de faire modestement depuis sa création il y a dix ans. D'abord en mettant à la disposition des vétérinaires et des éleveurs un personnel compétent et les outils les plus performants, nécessaires à une pratique médicale efficace et responsable.

Ensuite en contribuant à une meilleure connaissance des facteurs qui influencent l'apparition des résistances aux antibiotiques grâce à la publication régulière de synthèses relatives à nos activités.

Ce rapport s'inscrit dans la continuité des précédents. Il tente de faire une sorte d'état des lieux du comportement des bactéries pathogènes isolées depuis dix ans dans nos laboratoires de pathologie à partir d'échantillons prélevés dans toute la Wallonie.

Au même titre que les ouvrages précédents, nous espérons que ce travail permettra au lecteur d'en tirer quelques enseignements utiles à sa pratique professionnelle responsable.

Pareille synthèse n'aurait pas été possible sans la collaboration des nombreux vétérinaires qui nous font confiance depuis tant d'années ni sans le dévouement et le professionnalisme de nos employés et techniciens. Merci à tous!

Merci également aux firmes pharmaceutiques qui nous ont aidé à réaliser ce document.

Pour conclure, je tiens à féliciter et à remercier chaleureusement l'auteur, notre confrère le Dr Jean Bughin pour la qualité de cet ouvrage mais aussi et surtout pour le travail rigoureux et exemplaire accompli tout au long d'une carrière scientifique particulièrement bien remplie.

Bonne lecture à tous!

Dr Marc LOMBA, Directeur
Coordination de la politique générale

Sommaire

Introduction	3
Le nombre d'antibiogrammes au fil des années	5
Matériel et méthodes opératoires.....	6
Matériel et méthodes statistiques.....	9
La comparaison des antibiogrammes des Pasteurelloses bovines	11
La comparaison des antibiogrammes des Salmonelloses bovines	13
La comparaison des antibiogrammes des Colibacilloses bovines.....	14
La comparaison des antibiogrammes des germes gram positifs des mammites bovines.....	21
Conclusions	26
Bibliographie.....	28

Arsia asbl

Allée des Artisans 2
5590 Ciney
Tel: 083/23 05 15
Fax: 083/23 05 16
E-mail: arsia@arsia.be

LABORATOIRE

Tel: 083/23 05 18
Fax: 083/23 05 19

www.arsia.be

Avec le soutien de





C'est désormais devenu une tradition que de mettre à disposition des prescripteurs vétérinaires wallons les résultats des antibiogrammes de la majorité des germes pathogènes rencontrés en pathologie bovine à l'ARSIA. Comme pour les éditions précédentes, cette initiative ne peut se concrétiser que grâce à l'aide financière consentie par les firmes dont l'annonce figure en fin d'édition. Nous leur exprimons notre gratitude.

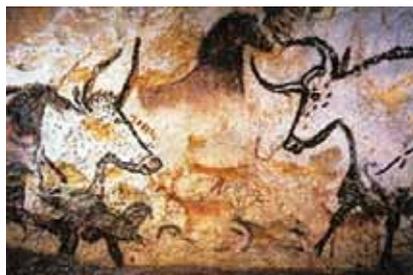
Nous sommes heureux de pouvoir partager le fruit de nos constatations avec ces partenaires privilégiés que sont les praticiens, d'autant plus que notre mode opératoire bénéficie depuis mai 2005 de l'accréditation BELAC pour la «Réalisation des antibiogrammes des entérobactéries et Staphylocoques spp sur Mueller-Hinton transparentes, par diffusion en gélose».

D'éminents spécialistes nous remettent parfois en question, se posant l'interrogation de la possibilité de données chiffrées biaisées, puisque provenant pour la plupart, dans notre médecine économique, de cas «désespérés» à partir de prélèvements déjà soumis à une antibiothérapie préalable. Ceci constitue néanmoins une critique positive que nous ne pouvons ignorer, puisque notre seul terrain d'action se situe à ce niveau des germes pathogènes déjà bien souvent soumis à une pression de sélection. C'est la raison pour laquelle nous recommandons aux vétérinaires praticiens de réaliser des prélèvements avant administration thérapeutique lorsque la chose est possible. Si, à l'avenir, ces prélèvements sont clairement identifiés, ils pourraient faire l'objet d'une comparaison spécifique vis-à-vis des pathogènes isolés de cas ayant subi divers traitements... Nous appelons ces réalisations de tous nos vœux: elles reposent sur les épaules des Confrères les plus avisés qui se reconnaîtront...

D'autres chercheurs, dans notre pays, oeuvrent

dans la fenêtre de la flore commensale: c'est un métier différent de celui des pathologistes, mais qui mérite sans aucun doute toute notre attention car nous pourrions y puiser des moyens nouveaux de surveillance et d'accompagnement pour les exploitations soumises à un risque accru d'antibiorésistance... Quoi qu'il en soit, le biais éventuel rencontré dans notre travail reste identique d'années en années et nous autorise, sans doute, à vous faire part des tendances observées au fil du temps. En effet, ces chiffres font aussi partie de la réalité quotidienne pour le praticien.

Si l'on peut suspecter que l'antibiorésistance microbienne soit un phénomène préhistorique, il est par contre certain qu'elle est un problème historique.



En effet, deux ans avant la commercialisation de la pénicilline en 1942, une enzyme inhibitrice des bêta-lactamines avait déjà été découverte par Ernst Chain, prix Nobel contemporain de Alexander Fleming en 1945.



Ainsi, dans toute population bactérienne relativement importante, existent des sous-populations de mutants résistants PREEXISTANT aux antibiotiques.

Il est parfaitement clair que cette antibiorésistance tend à s'exprimer et à montrer une EXPANSION sous l'action de la pression de sélection opérée par les antibiotiques. Elle est pourtant de persistance le plus souvent courte, puisque le seul avantage pour le microorganisme mutant est une acquisition de résistance lui permettant de croître dans un milieu contenant ce(s) antibiotique(s). Dans les conditions naturelles et hors utilisation d'antibiotique, ces mutants dont la croissance est affectée par les conséquences physiologiques de la mutation ne trouvent pas de conditions favorables à leur diffusion. En clair, le développement d'une population bactérienne résistante à un ou des antibiotiques est favorisée par l'utilisation de ce(s) antibiotique(s), mais cette nouvelle population bactérienne est le plus souvent moins stable dans le temps que la population non résistante de la même bactérie car le poids génétique de cette résistance constitue un handicap...

Toute autre est la problématique des

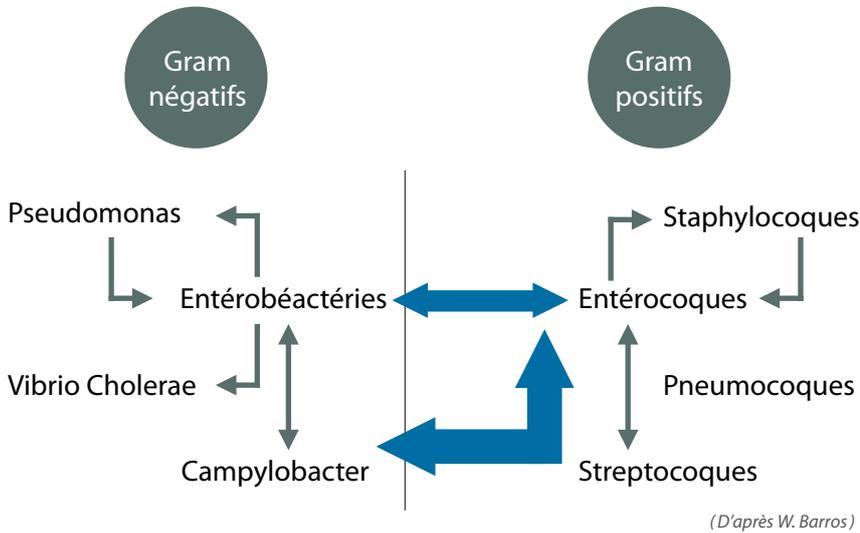
résistances microbiennes à support plasmidique, ces fragments d'ADN extra-chromosomique se transmettant verticalement dans la descendance du clone bactérien, mais aussi et surtout horizontalement aux bactéries voisines et, bien plus encore, entre espèces microbiennes différentes, parfois très éloignées.

par cette phrase: « Qui nous garantit, qu'à l'avenir, ces tendances n'incitent pas nos autorités à restreindre l'utilisation de certaines molécules? ». *Alea jacta est!* C'est désormais chose faite.

Le 17 novembre 2011, se crée en France, le comité national de coordination pour l'utilisation raisonnée des antibiotiques en médecine vétérinaire, dans le cadre d'une approche globale conforme aux règles de l'OIE:

La Belgique ne reste pas à la traîne. En effet, le rapport **BELVETSAC** (*Belgian Veterinary Surveillance of Antimicrobial Consumption*) conclut, dans son rapport 2010, à la nécessité d'action vigoureuse visant à obtenir une diminution de la consommation d'antimicrobiens. Notre pays voit ainsi la naissance de **I'AMCRA** (*Antimicrobial Consumption and Resistance in Animals*), opérationnel depuis le 1 janvier 2012. Il s'agit d'y rédiger des recommandations et lignes directrices pour orienter l'ensemble du secteur vers une réduction rationnelle de la consommation d'antimicrobiens chez les animaux.

Ces innovations légitiment un intertitre de notre Confrère Alain Schonbrodt dans le bulletin « *Veterinaria* » de novembre 2011: « *Les vétérinaires ont mal à leurs antibiotiques* ».



Leur expansion est ici plus rapide, plus intense (notamment dans des populations jamais exposées à l'antibiotique – contamination par ingestion d'aliments et/ou eau contaminés, ou contact entre hôtes), avec des flux de gènes passant de l'animal à l'homme (bactéries commensales du système digestif) et persiste plus longtemps (pérennisation dans la flore résidente).

Il s'agit là d'enjeux à minima sanitaire et social, en fonction de l'espèce bactérienne et de son écosystème. Nous concluons notre troisième rapport d'activité en 2009

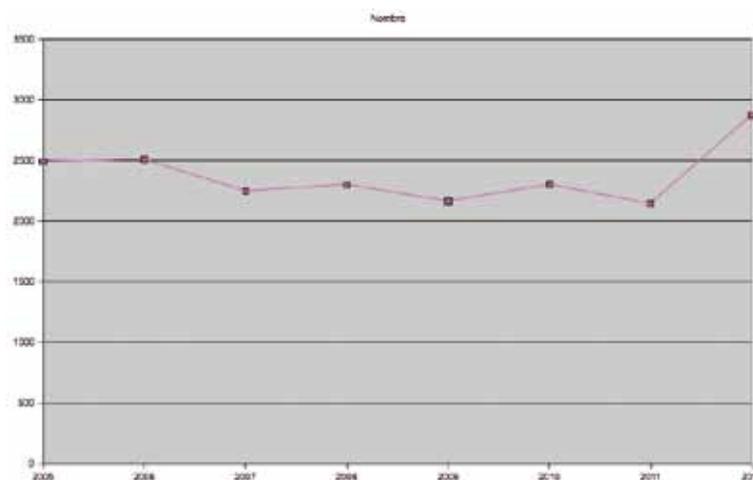
ciné vétérinaire, dans le cadre d'une approche globale conforme aux règles de l'OIE:

- bien entendu, préserver l'arsenal thérapeutique et son efficacité pour notre médecine, mais aussi,
- diminuer la contribution des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire à la résistance microbienne.

Il ne s'agit rien de moins que de « sanctuariser » la santé humaine, but louable s'il en est un.

Le nombre d'antibiogrammes au fil des années

- Année 2005 : total de 2490 antibiogrammes
- Année 2006 : total de 2509 antibiogrammes
- Année 2007 : total de 2247 antibiogrammes
- Année 2008 : total de 2301 antibiogrammes
- Année 2009 : total de 2165 antibiogrammes (voir rapport d'activités, édition 2010)
- Année 2010 : total de 2302 antibiogrammes
- Année 2011 : total de 2144 antibiogrammes
- Année 2012 : total de 2875 antibiogrammes



ESPECE ANIMALE 2011	GERME	NOMBRE
BOVINS		1810
	<i>E.coli</i>	432
	<i>E.coli CS31A</i>	318
	<i>Streptococcus uberis</i>	204
	<i>E.coli F17</i>	145
	<i>Salmonella enterica dublin</i>	116
	<i>Staphylococcus aureus</i>	112
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	63
	<i>E.coli entérohémolysine +</i>	36
	<i>E.coli F5</i>	32
	<i>E.coli tellur résistant</i>	29
	<i>Pasteurella multocida</i>	26
	<i>Haemophilus somnus</i>	19
	<i>Mannheimia haemolytica</i>	15
	<i>Listeria monocytogenes</i>	10
	Autres	253
PORCS		14
OCC (ovins, caprins, cervidés)		52
EQUINS		9
LAPINS		21
CHIENS		20
CHATS		4
OISEAUX		49
AUTRES		165

ESPECE ANIMALE 2012	GERME	NOMBRE
BOVINS		2514
	<i>E.coli</i>	622
	<i>Streptococcus uberis</i>	332
	<i>E.coli CS31A</i>	330
	<i>Staphylocoques coagulase négative</i>	216
	<i>E.coli F17</i>	176
	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	151
	<i>Staphylococcus aureus</i>	136
	<i>E.coli entérohémolysine positive</i>	61
	<i>E.coli tellur résistant</i>	53
	<i>Pasteurella multocida</i>	52
	<i>E.coli F5</i>	47
	<i>Mannheimia haemolytica</i>	28
	<i>Haemophilus somnus</i>	18
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5
	Autres	174
PORCS		27
OCC (ovins, caprins, cervidés)		39
EQUINS		10
LAPINS		25
CHIENS		22
CHATS		12
OISEAUX		59
AUTRES		167

Nous utilisons la méthode de diffusion en gélose (Kirby-Bauer) qui consiste à évaluer simultanément l'activité inhibitrice de plusieurs anti-infectieux représentatifs des principales familles d'antibiotiques, sur une souche bactérienne pure et fraîchement isolée de moins de 24 heures.

A cet effet, des disques imprégnés des antibiotiques à tester sont déposés en surface d'une gélose préalablement ensemencée avec une dose calibrée d'une culture pure de la souche à étudier. Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations dans le milieu de culture sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation à 37 +/- 2°C pendant 21 +/- 3 heures, les disques sont

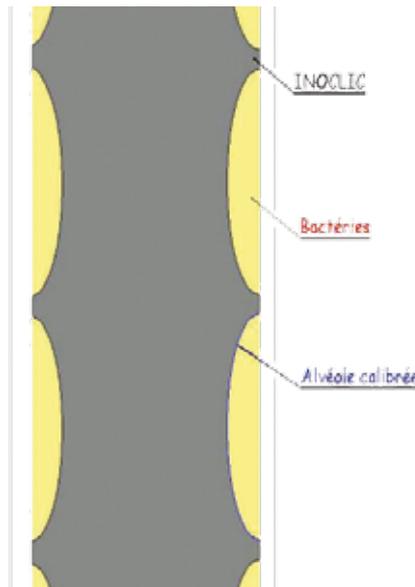
entourés de zones d'inhibition le plus souvent CIRCULAIRES, correspondant à une absence de culture. Lorsque la technique est standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe vis à vis de l'antibiotique dont le disque est imprégné.

Il est clair que les besoins d'une harmonisation européenne dans la méthodologie des tests de sensibilité aux antibiotiques et leur interprétation revêtent une nécessité majeure. Ainsi a été créé l'**EUCAST** (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*), composé de divers représentants dont ceux du **CA-SFM** (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie). Il n'existe que quelques rares différences entre les objectifs de ces deux

comités. Depuis la fin de l'été 2011, nous nous sommes donc alignés sur les objectifs de l'EUCAST, en recourant désormais aux disques d'antibiotiques en papier d'un **diamètre de 6 mm** (et non plus sous forme cristallisée d'un **diamètre de 9 mm**). Nous utilisons enfin des boîtes de gélose Mueller-Hinton CARREES permettant la lecture simultanée de pas moins de 16 pastilles, en lieu et place de 3 boîtes rondes à 6 pastilles par gélose. Enfin et surtout, les concentrations critiques et règles de lecture interprétative suivent scrupuleusement celles du CA-SFM. C'est la raison pour laquelle nous sommes tenus de tester certaines molécules pour lesquelles, paradoxalement, le praticien n'attend aucune réponse, car inexistantes en médecine vétérinaire.

Les étapes sont illustrées ci-dessous

- 1 Réalisation d'une suspension bactérienne standardisée en liquide physiologique stérile (à l'aide d'une tige Inoclic ND, stérile, métallique et micro-alvéolée pour loger les bactéries lors du piquage vertical d'une colonie sur gélose) de germes recueillis en culture pure et fraîche de moins de 24 h, titrant entre 1 et 3 millions d'UFC/ml.



- 2 Dans les 15 minutes, ensemencement de Mueller Hinton (MH) Agar du commerce, par inondation de la surface de la gélose (des MH additionnées de sang de mouton sont spécifiquement utilisées pour les pasteurelles, microcoques, haemophilus, ... ; aucune addition de sang n'est requise pour les entérobactéries, pseudomonales et staphylocoques).



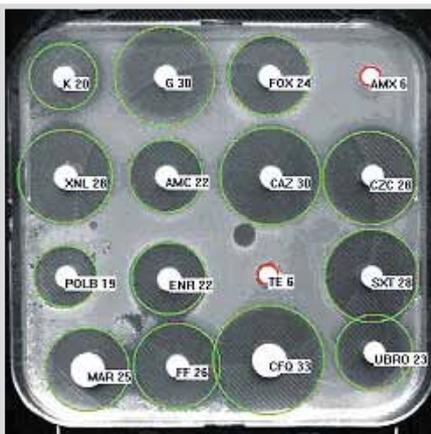
3

Après séchage des boîtes sous hotte à flux laminaire, couvercle ouvert, pendant 30 +/- 10 minutes, les disques à tester sont déposés à l'aide de distributeurs adéquats.



4

Après incubation en aérobiose (anaérobiose pour les pasteurelles et haemophilus) à 37 +/- 2°C pendant 21 +/- 3 heures, les diamètres d'inhibition sont lus et comparés aux standards.



5

Cette lecture est automatisée, grâce à une caméra haute définition réalisant une quarantaine de mesures par pastille et concluant au diamètre moyen. Cette technique (**SIRSCAN 2000**, ND) permet:

- l'affichage du diamètre mesuré, des valeurs cibles inférieures et supérieures pour chaque couple germe/antibiotique, et des résultats sous forme S (Sensible), I (Intermédiaire) ou R (Résistant) ;
- la numérisation de l'image et sa conservation en banque de données, assurant une traçabilité optimale et les possibilités de réexamen ultérieur ;
- l'observation de phénomènes d'antagonisme, de synergie, de mutants, ...



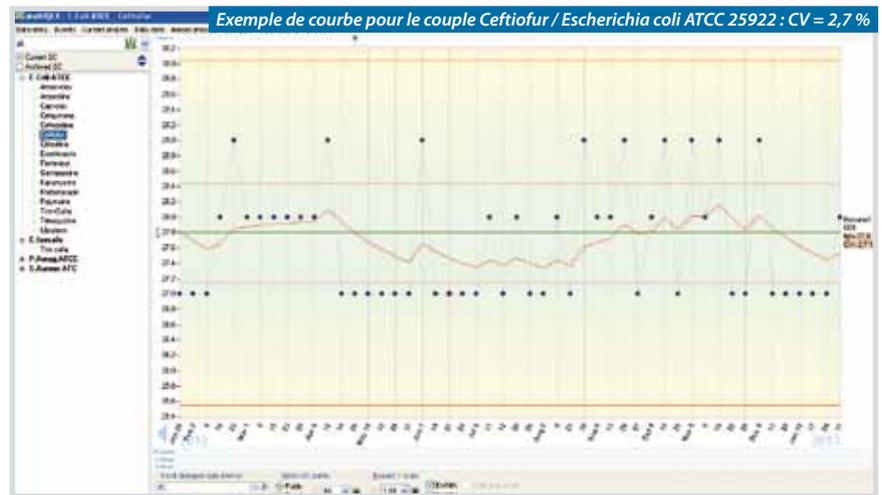
En outre, le module informatique expert couplé au logiciel de lecture intègre les règles de l'antibiogramme de la CA-SFM, assurant une interprétation exacte et systématiquement mise à jour des résultats: le résultat BRUT devient INTERPRETE ; c'est ce dernier qui est répondu au vétérinaire prescripteur, après avoir été exporté dans notre LIMS.

Le logiciel permet enfin l'extraction et le traitement épidémiologique des données encodées. Cet outil est la base informatique de ce rapport.

Par ailleurs, les laboratoires de l'ARSIA sont intégrés dans un système qualité assurant la reproductibilité des mesures. En plus de la participation bisannuelle à des ring-

tests internationaux, chaque lecture quotidienne est validée avec des souches ATCC de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 et *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) : pour chacune de ces souches, les diamètres mesurés doivent se situer à l'intérieur de la fourchette des résultats attendus pour chaque

zone d'inhibition ; ces données font enfin l'objet d'un suivi longitudinal réalisé grâce à un autre logiciel (MultiQC6 ND) permettant de mesurer la dispersion des mesures quotidiennes devant se situer, au plus à 2 déviations standards de la moyenne, et le coefficient de variation (CV) y afférent.



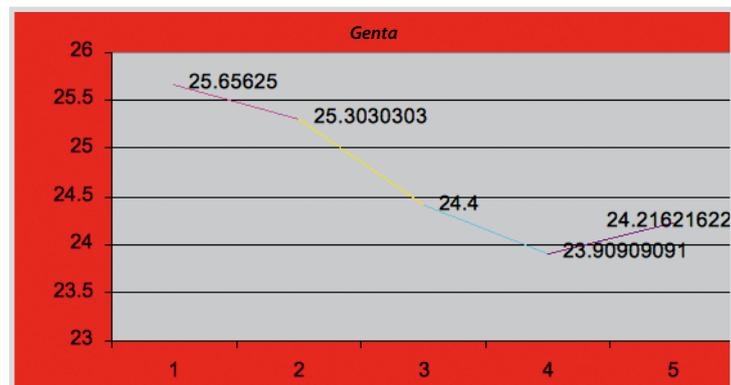
Le but ultime de ce rapport étant de montrer s'il y a ou non évolution de l'antibiorésistance, nous disposons, pour ce faire, de deux techniques statistiques : une méthode quantitative et une qualitative.

1. La méthode quantitative

Celle-ci avait été privilégiée dans la troisième parution de ce rapport, l'édition 2010 qui intégrait les données chiffrées des années 2005 à 2009. Elle reprenait les **MESURES MILLIMETRES** des zones d'inhibition des différentes molécules vis-à-vis des germes pathogènes. On pouvait alors se poser la question de la constatation d'une évolution vers leur diminution dans le temps. Nous partions du postulat que les souches résistantes (R) n'évoluant plus, nous ne nous intéressions alors qu'aux souches sensibles (S) et intermédiaires (I). Après comparaison des moyennes, dispersions et intervalles de confiance au fil de ces 5 années par une analyse de variance (paramétrique ou non), on pouvait montrer s'il existait une différence significative au seuil de risque de 5%. Nous poursuivions ensuite par la technique de régression linéaire.

A titre d'exemple, illustrons ce propos par l'évolution des zones d'inhibition de la gentamicine envers *Pasteurella multocida* :

- Année 2005 : moyenne et déviation-standard de 25,65 +/- 2,71
- Année 2006 : 25,3 +/- 3,07
- Année 2007 : 24,4 +/- 2,88
- Année 2008 : 23,9 +/- 2,94
- Année 2009 : 24,21 +/- 3,78, soit la représentation graphique ci-dessous :



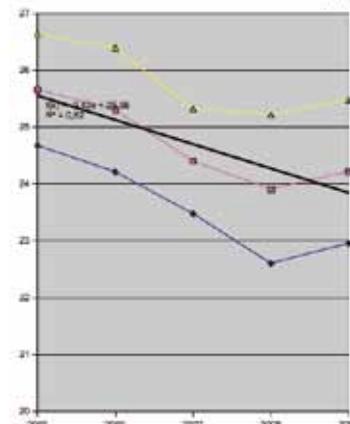
L'analyse de variance (logiciel *GraphPadInstat*) conduit aux deux schémas suivants :

Col. title	Group A GEN05	Group B GEN06	Group C GEN07	Group D GEN08	Group E GEN09
Mean	25.65625	25.303030303	24.4	23.9090909091	24.2162162162
Standard deviation (SD)	2.719	3.077	2.881	2.942	3.780
Sample size (N)	32	33	40	22	37
Std. error of mean(SEM)	0.4807	0.5356	0.4555	0.6273	0.6214
Lower 95% conf. limit	24.676	24.212	23.479	22.604	22.955
Upper 95% conf. limit	26.637	26.395	25.321	25.214	25.477
Minimum	21.000	20.000	20.000	20.000	20.000
Median (50th percentile)	25.500	25.000	24.000	24.000	23.000
Maximum	32.000	35.000	33.000	32.000	36.000
Normality test KS	0.1975	0.1186	0.1925	0.1478	0.2016
Normality test P value	0.0027	>0.10	0.0007	>0.10	0.0006
Passed normality test?	No	Yes	No	Yes	No

Kruskal-Wallis Test (Nonparametric ANOVA)			
The P value is 0.0279, considered significant. Variation among column medians is significantly greater than expected by chance.			
The P value is approximate (from chi-square distribution) because at least one column has two or more identical values.			
Calculation detail			
Group	Number of Points	Sum of Ranks	Mean of Ranks
GEN05	32	3188.0	99.625
GEN06	33	3120.5	94.561
GEN07	40	3059.0	76.475
GEN08	22	1590.0	72.273
GEN09	37	2572.5	69.527
Kruskal-Wallis Statistic KW = 10.887 (corrected for ties)			

Poursuivons l'analyse de cette différence significative ($0,0279 < 0,05$) par la **régression linéaire**, en portant en abscisse, les années et en ordonnée, la moyenne des diamètres pour ce couple antibiotique/germe. Nous pouvons alors, grâce au tableur Excel, insérer une courbe de tendance $Y = a + bX$, avec b = pente de la courbe (slope) et a = intercept ou valeur de Y pour la première année.

Dans notre exemple, l'équation devient : $y = (-0,4274 x) + 25,979$.



Droite régression Genta

◆ Moyenne - IC ■ Moyenne ▲ Régression linéaire pour Moyenne ▼ Moyenne + IC

Le programme *GraphPadInstat* permet alors de répondre à 3 questions :

- A)** La PENTE de la droite de régression est-elle NEGATIVE (tendance à la diminution des diamètres d'inhibition) et différente de zéro ? Détermination d'un nouveau P = PROBABILITE qui permet de se focaliser sur la question « A quel point sommes-nous certains qu'il existe réellement une différence ? » Certes, cette différence existe entre nos **échantillons**, mais pourrait simplement résulter d'une coïncidence liée à cet **échantillonnage**, plutôt que d'une réelle différence. Les statistiques ne permettent pas de dire si ce genre de coïncidence s'est produit, mais à quel point cette dernière serait rare.
- B)** Tester ensuite, pour un niveau de confiance de 95%, si l'INTERVALLE DE CONFIANCE de cette PENTE peut ou non contenir la valeur nulle. Dans l'affirmative, il est loin d'être certain que la variable explicative (écoulement du temps, ici) intervienne réellement dans le modèle. Nouvelle question ici : « Avec ce calcul de l'IC de la différence entre la moyenne de ces **ECHANTILLONS**, quelle est l'importance de la différence dans la **POPULATION** ? »
- C)** Déterminer enfin le R² = COEFFICIENT DE DETERMINATION. Dernière question « Quelle est, en pourcentage, la part de la variation du diamètre expliquée par la variation des années ? »

Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification
-0.4275	-0.7952	-0.05967	0.0343	Significatif

On constate une diminution significative ($p = 3.4\% < 5\%$ et l'intervalle de confiance ne contient pas la valeur 0) du diamètre moyen de 0,427 mm d'une année à l'autre et 82% de cette défervescence est expliquée par le temps qui s'écoule.

Dans le corpus de ce rapport, nous rappellerons brièvement et seulement sous forme de tableaux les évolutions négatives alors recensées.

2. La méthode qualitative

Suite aux modifications apportées en été 2011 (Voir « Matériel et méthodes opératoires ») pour répondre aux exigences d'harmonisation des techniques, nous recourrons dorénavant aux disques papier d'un diamètre de 6 mm, versus les disques microcristallisés, commercialisés par Rosco et mesurant 9 mm de diamètre, antérieurement. Cette variation du standard de mesure entraînant de *facto* la modification de l'échelle de comparaison, la méthode QUANTITATIVE n'est désormais plus utilisable pour le moment. Quoi qu'il en soit et quelle que soit l'échelle d'appréciation, il reste toujours possible de comparer des **POURCENTAGES DE RESISTANCE** d'une année à l'autre, puisque ces résultats sont directement issus du type de mesure, quel qu'en soit le procédé.

Nous représenterons alors ces données comparatives maintenant **QUALITATIVES** sous forme de tableaux et d'histogrammes. Ceux-ci n'incluent que les résultats strictement « Résistants » et non « Intermédiaires + Résistants ». Nous nous poserons alors la question d'une différence significative dans les pourcentages observés de germes résistants vis-à-vis des mêmes molécules entre les années 2010-2012 et les années 2005-2009.

Cette différence, si elle existe, sera matérialisée par une flèche descendante au-dessus

de la molécule intéressée.

Afin de conclure à une différence significative, il importe de calculer l'**ECART REDUIT** ϵ répondant à la formule :

$$\epsilon = \frac{p_A - p_B}{\sqrt{\frac{pq}{n_A} + \frac{pq}{n_B}}}$$

S'il est supérieur à 1,96 (au seuil de 5 % de risque d'erreur), on peut arriver à une conclusion positive.

Il y a bien sûr quelques conditions à l'utilisation de ce test, soit $n_A p$, $n_A q$, $n_B p$ et $n_B q$ tous supérieurs à la valeur 5. Nous indiquerons quand ces conditions n'ont pas été rencontrées.

La comparaison des antibiogrammes des Pasteurelloses bovines au laboratoire de l'Arsia

1. La méthode quantitative (années 2005 à 2009)

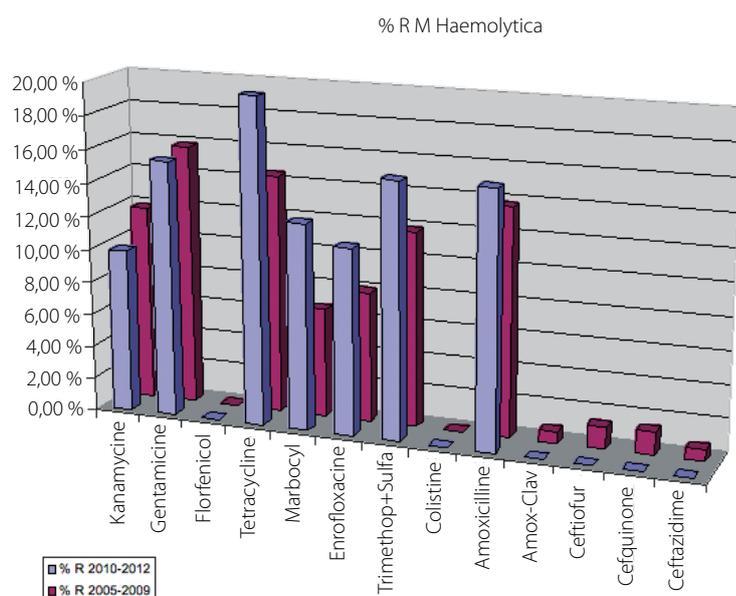
- A) *Mannheimia haemolytica*: aucun processus négatif
 B) *Pasteurella multocida*: une seule différence significative envers la gentamycine (Voir chapitre « Matériel et méthodes statistiques »).

2. La méthode qualitative (années 2010 à 2012 versus années 2005-2009)

A) *Mannheimia haemolytica*

M. HAEMOLYTICA	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	71	7	152	18	9,86%	11,84%
GENTAMICINE	71	11	152	24	15,49%	15,79%
FLORFENICOL	32	0	94	0	0,00%	0,00%
TETRACYCLINE	71	14	152	22	19,72%	14,47%
MARBOCYL	64	8	151	10	12,50%	6,62%
ENROFLOXACINE	71	8	152	12	11,27%	7,89%
TRIMETHOP+SULFA	71	11	152	18	15,49%	11,84%
COLISTINE	71	0	152	0	0,00%	0,00%
AMOXICILLINE	71	11	152	21	15,49%	13,82%
AMOX-CLAV	71	0	150	1	0,00%	0,67%
CEFTIOFUR	71	0	152	2	0,00%	1,32%
CEFQUINOME	38	0	147	2	0,00%	1,36%
CEFTAZIDIME	71	0	152	1	0,00%	0,66%

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

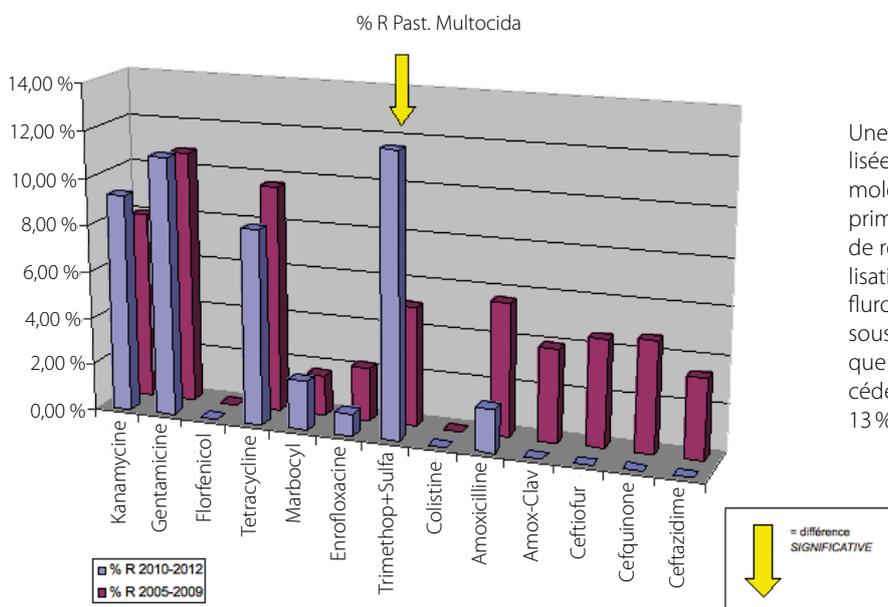


On ne remarque de nouveau aucune différence significative dans la comparaison qualitative des pourcentages de résistance d'une période par rapport à l'autre, même si les conditions d'utilisation du test ne sont pas réunies pour les 4 dernières molécules (amoxicilline + acide clavulanique, ceftiofur, cefquinome, ceftazidime). Toutefois, les faibles pourcentages de résistance pour ces antimicrobiens, couplés au fait que ce graphique de résistance culmine seulement autour de 15% de résistance, tous anti-infectieux confondus, nous autorise à rester aujourd'hui optimistes quant à l'antibiorésistance des *Mannheimia haemolytica* rencontrées en pathologie respiratoire bovine.

B) *Pasteurella multocida*

P. MULTOCIDA	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	108	10	175	14	9,26 %	8,00 %
GENTAMICINE	109	12	176	19	11,01 %	10,80 %
FLORFENICOL	60	0	121	0	0,00 %	0,00 %
TETRACYCLINE	108	9	176	17	8,33 %	9,66 %
MARBOCYL	95	2	175	3	2,11 %	1,71 %
ENROFLOXACINE	108	1	176	4	0,93 %	2,27 %
TRIMETHOP+SULFA	108	13	176	9	12,04 %	5,11 %
COLISTINE	109	0	175	0	0,00 %	0,00 %
AMOXICILLINE	108	2	176	10	1,85 %	5,68 %
AMOX-CLAV	109	0	176	7	0,00 %	3,98 %
CEFTIOFUR	109	0	175	8	0,00 %	4,57 %
CEFQUINOME	58	0	169	8	0,00 %	4,73 %
CEFTAZIDIME	108	0	176	6	0,00 %	3,41 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009



Une seule différence significative (matérialisée par des flèches jaunes au-dessus des molécules) à percevoir pour le « triméthoprime + sulfamide » qui passe de 5% à 12% de résistance. Notons que les conditions d'utilisation du test ne sont pas remplies pour les fluoroquinolones, ni les bêta-lactamines. Nous souscrivons toutefois aux mêmes conclusions que pour *Mannheimia haemolytica* (page précédente - graphique culminant à moins de 13% de résistance).

H.SOMNUS 2012					
	Nombre	Sens	Intermé	Résista	% R
KANAMYCINE	16	16	0	0	0,00 %
GENTAMICINE	16	1	3	12	75,00 %
CEFOXITINE	16	11	3	2	12,50 %
AMOXICILLINE	16	11	0	5	31,25 %
CEFTIOFUR	16	15	0	1	6,25 %
AMOX-CLAV	16	15	0	1	6,25 %
CEFTAZIDIME	16	12	0	4	25,00 %
COLISTINE	16	16	0	0	0,00 %
ENROFLOXACINE	16	16	0	0	0,00 %
TETRACYCLINE	16	16	0	0	0,00 %
TRIMETHOP + SULFA	16	8	7	1	6,25 %
MARBOCYL	10	9	0	1	10,00 %
CEFQUINOME	9	9	0	0	0,00 %
FLORFENICOL	7	6	0	1	14,29 %

REMARQUE: nous ne nous autoriserons aucun commentaire concernant les chiffres recensés pour les 16 cas d'infection à *Haemophilus somnus*, en 2012 et ne présenterons que le tableau des fréquences ci-contre;

La comparaison des antibiogrammes des Salmonellose bovines au laboratoire de l'Arsia

Nous n'envisagerons, dans ce chapitre, que les infections à *Salmonella enterica dublin* les plus prévalentes, alors que les infections bovines à *Salmonella typhimurium* ou *Salmonella enteritidis* restent anecdotiques dans notre pratique wallonne.

1. La méthode quantitative

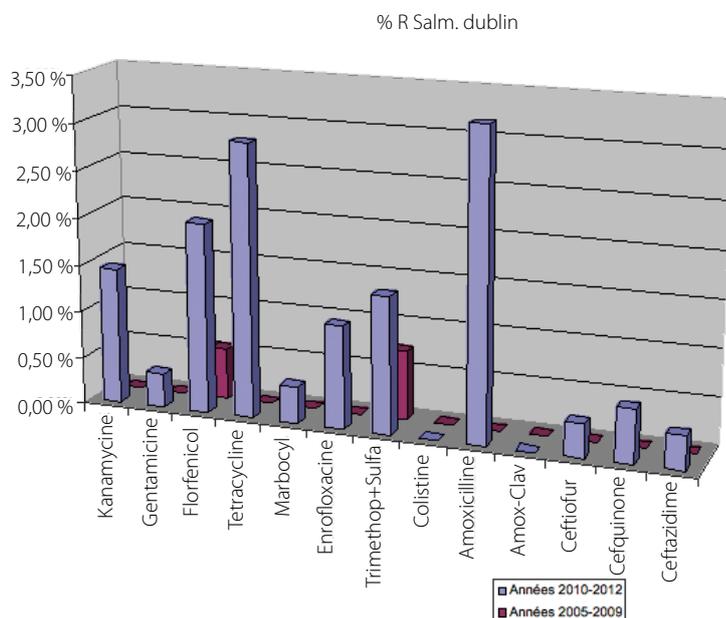
(n = 271) une seule différence significative et seulement pour la **tétracycline**: ($y = -1.043x + 33.144$; $R^2 = 0.869$)

mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009
32.037	31.722	29.516	28.236	28.565
Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification
- 1.043	-1.787	-0.2990	0.0210	Significatif

2. La méthode qualitative

SALM. DUBLIN	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	276	4	271	0	1,45 %	0,00 %
GENTAMICINE	276	1	271	0	0,36 %	0,00 %
FLORFENICOL	99	2	183	1	2,02 %	0,55 %
TETRACYCLINE	276	8	271	0	2,90 %	0,00 %
MARBOCYL	257	1	271	0	0,39 %	0,00 %
ENROFLOXACINE	275	3	271	0	1,09 %	0,00 %
TRIMETHOP+SULFA	276	4	271	2	1,45 %	0,74 %
COLISTINE	276	0	271	0	0,00 %	0,00 %
AMOXICILLINE	276	9	271	0	3,26 %	0,00 %
AMOX-CLAV	276	0	269	0	0,00 %	0,00 %
CEFTIOFUR	276	1	271	0	0,36 %	0,00 %
CEFQUINOME	175	1	266	0	0,57 %	0,00 %
CEFTAZIDIME	276	1	271	0	0,36 %	0,00 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009



Conclusions identiques à celles formulées pour les pasteurelles: graphique culminant à 3% (conditions d'utilisation du test de comparaison non réunies pour aucune molécule).

La comparaison des antibiogrammes des Colibacillose bovines au laboratoire de l'Arsia

1. COLIBACILLES ENTEROTOXINOGENES (ETEC)

ou entérotoxigènes au sens large (souches productrices de toxines accumulatives de fluides dans les intestins) = *E.coli* F5, anciennement *E.coli* K99 (inféodés au très jeune âge chez le veau : < 5 jours) :

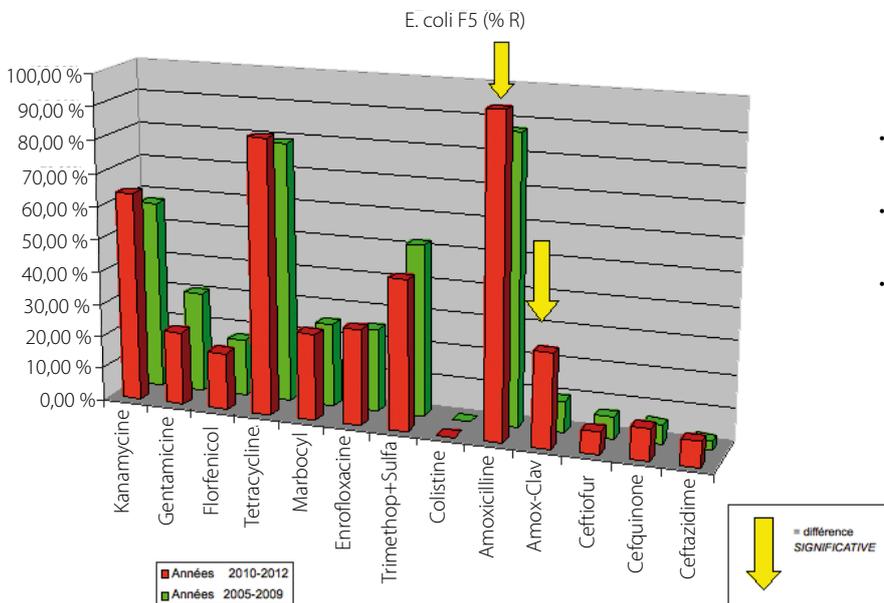
a. La méthode quantitative (années 2005 à 2009)

Molécule	mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009		
TÉTRACYCLINE	29.909	29.6	27.166	27.23	26.714		
ENROFLOXACINE	30.26	30.56	29.48	27.31	27.4		
CEFQUINOME	31.76	29.47	28.19	28.18	27.16		
Molécule	Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification	Equation	R ²
TÉTRACYCLINE	- 0.876	- 1.562	- 0.189	0.0269	Significatif	-0.87x +30.75	0.85
ENROFLOXACINE	- 0.895	- 1.598	- 0.192	0.027	Significatif	-0.89x +31.69	0.83
CEFQUINOME	- 1.047	- 1.766	- 0.328	0.019	Significatif	-1.047x +32.03	0.88

b. La méthode qualitative (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

F5	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	116	74	203	117	63,79 %	57,64 %
GENTAMICINE	116	26	203	62	22,41 %	30,54 %
FLORFENICOL	63	11	143	25	17,46 %	17,48 %
TETRACYCLINE	116	97	203	161	83,62 %	79,31 %
MARBOCYL	110	29	203	51	26,36 %	25,12 %
ENROFLOXACINE	116	34	203	51	29,31 %	25,12 %
TRIMETHOP+SULFA	116	53	203	106	45,69 %	52,22 %
COLISTINE	114	0	203	0	0,00 %	0,00 %
AMOXICILLINE	116	112	203	178	96,55 %	87,68 %
AMOX-CLAV	116	33	199	19	28,45 %	9,55 %
CEFTIOFUR	116	8	202	13	6,90 %	6,44 %
CEFQUINOME	94	9	202	12	9,57 %	5,94 %
CEFTAZIDIME	116	9	203	6	7,76 %	2,96 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009



- Conditions d'utilisation du test réunies pour toutes les molécules
- Différence significative pour amoxicilline et « amoxicilline + acide clavulanique »
- Graphique culminant ici à plus de 90 %

2. COLIBACILLES ENTEROPATHOGENES (EPEC) au sens strict

La plupart des souches sont lésionnelles car s'attachent aux villosités intestinales pour les « effacer » (AECC) et certaines sécrètent des vérotoxines (VTEC) responsables de diarrhées hémorragiques (EHEC). L'extension de la période de réceptivité s'étend bien au-delà de la période néo-natale, cette fois. Chez les bovins, ces souches présentent des propriétés supplémentaires non liées à la pathogénie de l'infection, mais très utiles au diagnostic de routine, à savoir la production d'ENTEROHEMOLYSINES (sur gélose au sang de mouton avec globules rouges lavés) et une fréquente RESISTANCE AU TELLURE.

a. La méthode quantitative (années 2005 à 2009)

Seule différence significative pour la cefquinome (n = 166)

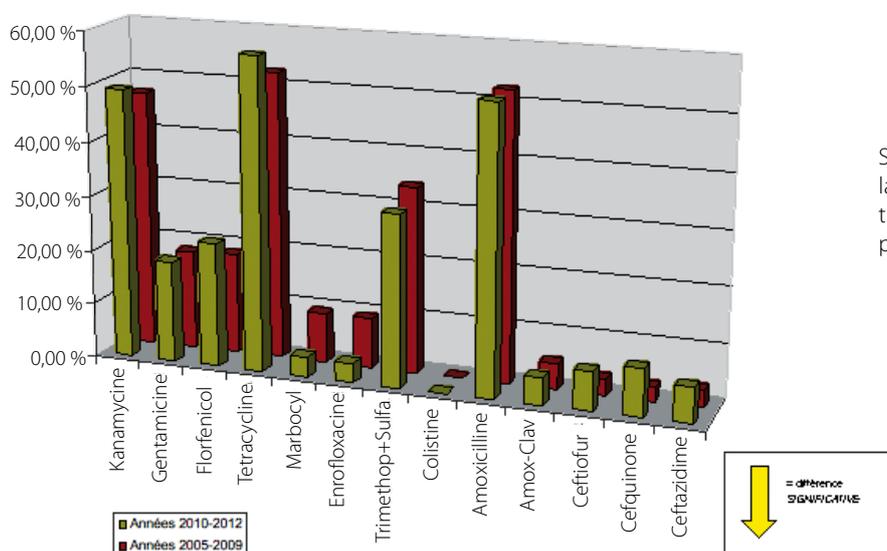
Molécule	mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009		
CEFQUINOME	33.64	33.79	31.84	31.59	31.09		
Molécule	Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification	Equation	R ²
CEFQUINOME	-0.729	-1.256	-0.2321	0.0216	Significatif	-0.73x +34.58	0.87

b. La méthode qualitative (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

ENTERO	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	140	69	166	78	49,29 %	46,99 %
GENTAMICINE	140	26	166	30	18,57 %	18,07 %
FLORFENICOL	79	18	97	18	22,78 %	18,56 %
TETRACYCLINE	140	80	166	87	57,14 %	52,41 %
MARBOCYL	137	5	166	15	3,65 %	9,04 %
ENROFLOXACINE	140	5	166	15	3,57 %	9,04 %
TRIMETHOP+SULFA	140	44	165	56	31,43 %	33,94 %
COLISTINE	140	0	166	0	0,00 %	0,00 %
AMOXICILLINE	140	73	166	87	52,14 %	52,41 %
AMOX-CLAV	140	7	165	8	5,00 %	4,85 %
CEFTIOFUR	140	10	166	5	7,14 %	3,01 %
CEFQUINOME	92	8	160	4	8,70 %	2,50 %
CEFTAZIDIME	140	9	166	5	6,43 %	3,01 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

E. coli entero. (% R)



Seule différence significative APPARENTE pour la cefquinome, mais les conditions d'utilisation du test ne sont pas respectées de justesse pour cette même molécule (n A p = 4,4 < 5).

3. COLIBACILLES INVASIFS ou SEPTICEMIQUES

(*E. coli* F17, anciennement *E. coli* ATT25, et *E. coli* CS31A)

a. La méthode quantitative *E. coli* F17 (années 2005 à 2009)

Différences significatives pour tétracycline, fluméquine, enrofloxacin, ceftiofur et cefquinome (n = 778).

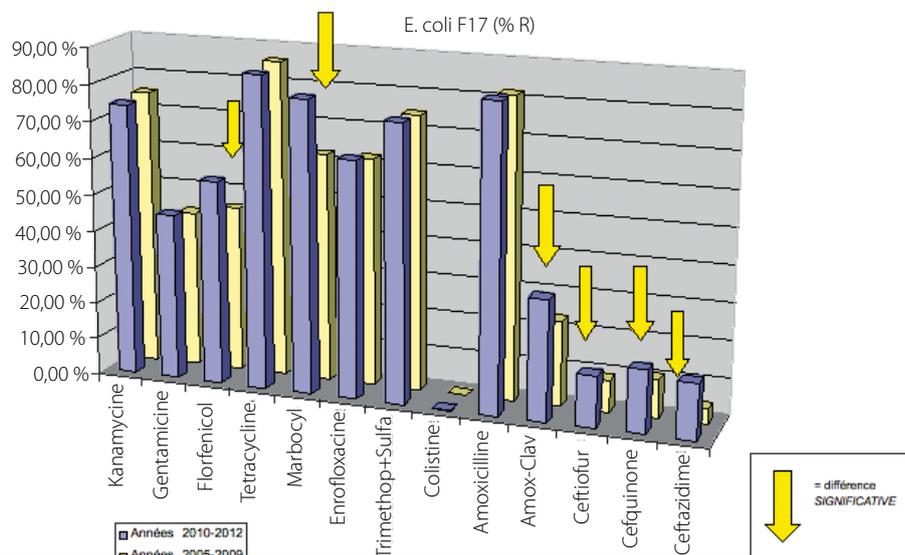
Molécule	mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009		
TÉTRACYCLINE	30.517	29.4	28.882	27.043	27		
FLUMÉQUINE	31.583	28.871	28.076	27.907	26.409		
ENROFLOXACINE	33.016	30.794	29.555	28.521	27.631		
CEFTIOFUR	28.575	27.508	26.528	26.456	26.309		
CEFQUINOME	33.185	31.258	29.949	29.579	28.451		
Molécule	Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification	Equation	R ²
TÉTRACYCLINE	- 0.9391	- 1.372	- 0.5065	0.0062	Significatif	-0.94x +31.3	0.94
FLUMÉQUINE	- 1.131	- 1.894	- 0.3679	0.0181	Significatif	-1.13x +31.96	0.88
ENROFLOXACINE	- 1.358	- 1.775	- 0.9421	0.0019	Significatif	-1.36x + 33.92	0.97
CEFTIOFUR	- 0.5584	- 1.004	- 0.1127	0.0283	Significatif	-0.55x +28.75	0.84
CEFQUINOME	- 1.115	- 1.603	- 0.6265	0.0054	Significatif	-1.11x + 33.82	0.94

b. La méthode qualitative *E. coli* F17 (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

F17	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	531	395	778	585	74,39 %	75,19 %
GENTAMICINE	530	240	778	333	45,28 %	42,80 %
FLORFENICOL	335	186	469	212	55,52 %	45,20 %
TETRACYCLINE	530	450	778	670	84,91 %	86,12 %
MARBOCYL	412	328	778	483	79,61 %	62,08 %
ENROFLOXACINE	530	342	778	482	64,53 %	61,95 %
TRIMETHOP+SULFA	530	399	778	580	75,28 %	74,55 %
COLISTINE	527	1	778	0	0,19 %	0,00 %
AMOXICILLINE	530	438	778	636	82,64 %	81,75 %
AMOX-CLAV	529	174	771	180	32,89 %	23,35 %
CEFTIOFUR	530	74	778	68	13,96 %	8,74 %
CEFQUINOME	433	74	767	80	17,09 %	10,43 %
CEFTAZIDIME	530	80	778	34	15,09 %	4,37 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

- Toutes les conditions sont réunies pour l'utilisation du test
- Différence significative pour florfenicol, marbofloxacin, toutes les bêta-lactamines, à l'exception de l'amoxicilline vis-à-vis de laquelle les germes sont déjà très résistants
- Graphique culminant à plus de 80 % de R.



a. La méthode quantitative *E. coli CS31A* (années 2005 à 2009)

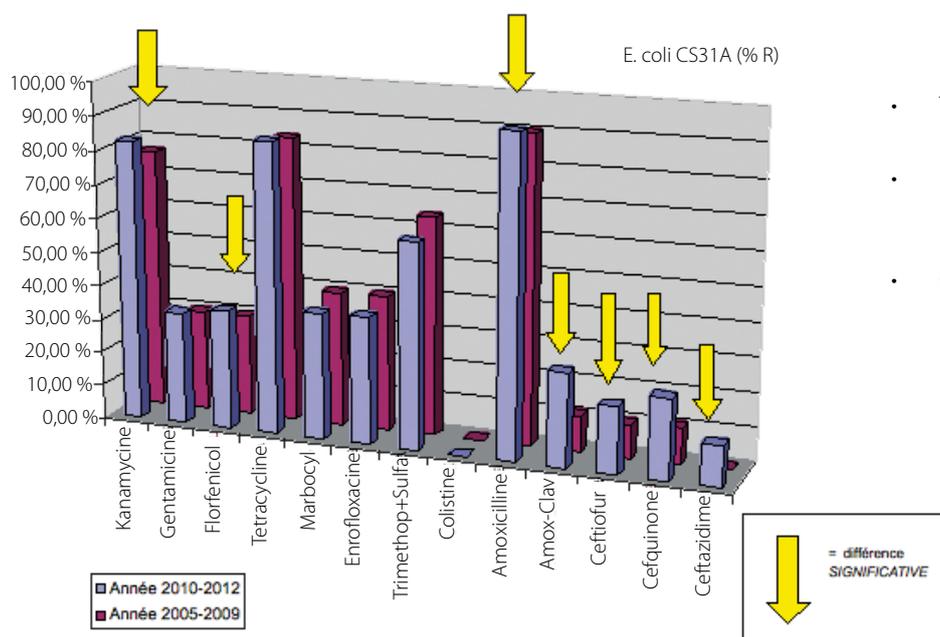
Différences significatives pour tétracycline, triméthoprime + sulfamide, enrofloxacin, ceftiofur et ceftquinome (n = 1679) :

Molécule	mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009		
TÉTRACYCLINE	30.23	29.73	28.88	27.39	27.13		
TRIMÉTH-SULF	35.57	35.73	34.98	34.42	34.47		
ENROFLOXACINE	30.1	29.54	28.75	28.7	28.15		
CEFTIOFUR	28.86	27.99	26.98	26.58	26.84		
CEFQUINOME	33.57	32.25	30.96	29.77	29.88		
Molécule	Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification	Equation	R ²
TÉTRACYCLINE	- 0.853	-1.181	- 0.525	0.0037	Significatif	-0.85x +31.24	0.96
TRIMÉTH-SULF	- 0.3502	- 0.6358	-0.06461	0.0299	Significatif	-0.35x +36.08	0.83
ENROFLOXACINE	- 0.4727	- 0.6738	- 0.2715	0.0050	Significatif	-0.74x +30.47	0.95
CEFTIOFUR	- 0.5442	- 1.017	-0.07189	0.0351	Significatif	-0.54x +29.08	0.82
CEFQUINOME	- 0.985	- 1.507	- 0.4638	0.0092	Significatif	-0.98x +34.24	0.92

b. La méthode qualitative *E. coli CS31A* (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

CS31A	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	940	772	1678	1284	82,13 %	76,52 %
GENTAMICINE	940	310	1679	497	32,98 %	29,60 %
FLORFENICOL	649	227	1190	354	34,98 %	29,75 %
TETRACYCLINE	940	803	1679	1403	85,43 %	83,56 %
MARBOCYL	872	324	1676	659	37,16 %	39,32 %
ENROFLOXACINE	940	352	1681	664	37,45 %	39,50 %
TRIMETHOP+SULFA	940	566	1678	1076	60,2 %	64,12 %
COLISTINE	938	0	1679	0	0,00 %	0,00 %
AMOXICILLINE	940	878	1679	1513	93,40 %	90,11 %
AMOX-CLAV	940	259	1649	174	27,55 %	10,55 %
CEFTIOFUR	939	184	1679	165	19,60 %	9,83 %
CEFQUINOME	751	177	1655	175	23,57 %	10,57 %
CEFTAZIDIME	940	113	1679	7	12,02 %	0,42 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009



- Toutes les conditions sont réunies pour l'utilisation du test ;
- Différences significatives pour kanamycine, florfenicol, toutes les bêta-lactamines ;
- Graphique culminant à plus de 90 %.

4. LES *E. COLI* DES INFECTIONS PULMONAIRES EN CULTURE PURE

Nous réalisons l'antibiogramme de ce germe dans les poumons, à partir du moment où il y a été mis en évidence en culture pure et abondante, signant à cet égard une très probable septicémie.

a. La méthode quantitative *E. coli pulmonaire* (années 2005 à 2009)

Différences significatives pour tétracycline, marbofloxacine, enrofloxacine, ceftiofur et ceftquinome (n = 313).

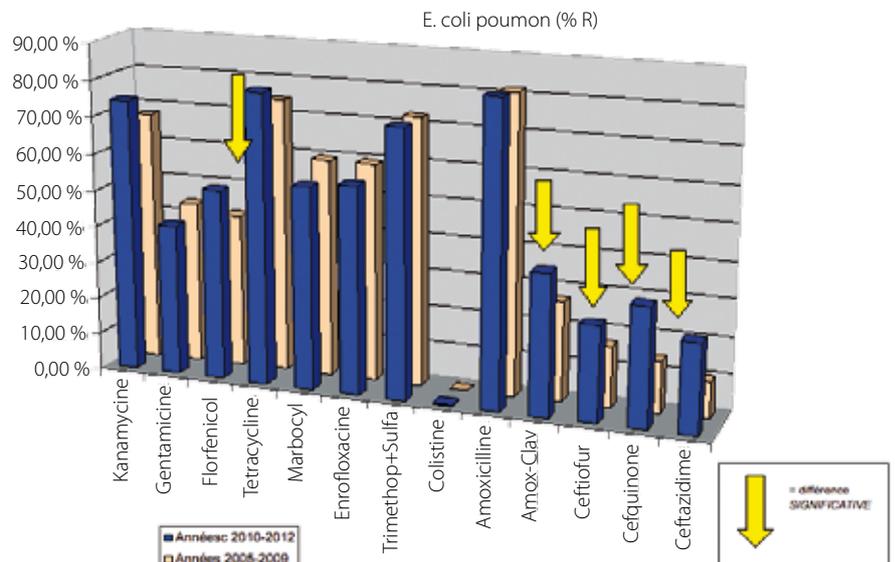
Molécule	mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009		
TÉTRACYCLINE	29.4	28.8	27.4	26.1	26.7		
MARBOFLOXACINE	33.42	30.86	29.66	29.39	28.05		
ENROFLOXACINE	32.3	29.7	28.3	28.4	27.2		
CEFTIOFUR	26.24	25.88	25.17	25.22	25.17		
CEFQUINOME	31.03	30.03	29.22	27.7	28.1		
Molécule	Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification	Equation	R ²
TÉTRACYCLINE	-0.8107	- 1.458	- 0.1633	0.0283	Significatif	-0.81x +30.08	0.84
MARBOFLOXACINE	- 1.219	- 1.916	- 0.522	0.0114	Significatif	-1.22x +33.93	0.91
ENROFLOXACINE	- 1.158	- 1.988	- 0.3272	0.0213	Significatif	-1.15x +32.68	0.86
CEFTIOFUR	- 0.2803	- 0.5403	- 0.0204	0.0415	Significatif	-0.28x +26.37	0.8
CEFQUINOME	- 0.8184	- 1.334	- 0.3028	0.0150	Significatif	-0.82x +31.67	0.89

b. La méthode qualitative *E. coli pulmonaire* (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

F17	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	328	244	313	213	74,39 %	68,05 %
GENTAMICINE	329	135	313	138	41,03 %	44,09 %
FLORFENICOL	192	100	210	88	52,08 %	41,90 %
TETRACYCLINE	329	261	313	234	79,33 %	74,76 %
MARBOCYL	286	158	313	186	55,24 %	59,42 %
ENROFLOXACINE	329	186	313	186	56,53 %	59,42 %
TRIMETHOP+SULFA	329	240	313	228	72,95 %	72,84 %
COLISTINE	328	1	313	0	0,30 %	0,00 %
AMOXICILLINE	329	272	313	255	82,67 %	81,47 %
AMOX-CLAV	329	127	307	84	38,60 %	27,36 %
CEFTIOFUR	329	86	313	52	26,14 %	16,61 %
CEFQUINOME	246	80	311	44	32,52 %	14,15 %
CEFTAZIDIME	329	81	313	32	34,62 %	10,22 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

- Conditions toutes réunies pour l'utilisation du test
- Différences significatives pour le florfenicol et les bêta-lactamines, excepté l'amoxicilline pour laquelle on répertorie déjà beaucoup de résistances
- Ce graphique culmine à plus de 80 % de R



5. LES *E. COLI* DES INFECTIONS MAMMAIRES

Cette partie de l'étude nous semble très importante, puisqu'elle s'adresse essentiellement aux germes de la flore **COMMENSALE** (et non plus seulement aux colibacilles pathogènes), caractéristiques des infections mammaires environnementales.

a. La méthode quantitative *E. coli* mammaires (années 2005 à 2009)

Différences significatives pour gentamycine, tétracycline, fluméquine, marbofloxacin, enrofloxacin, ceftiofur et cefquinome (n = 548)

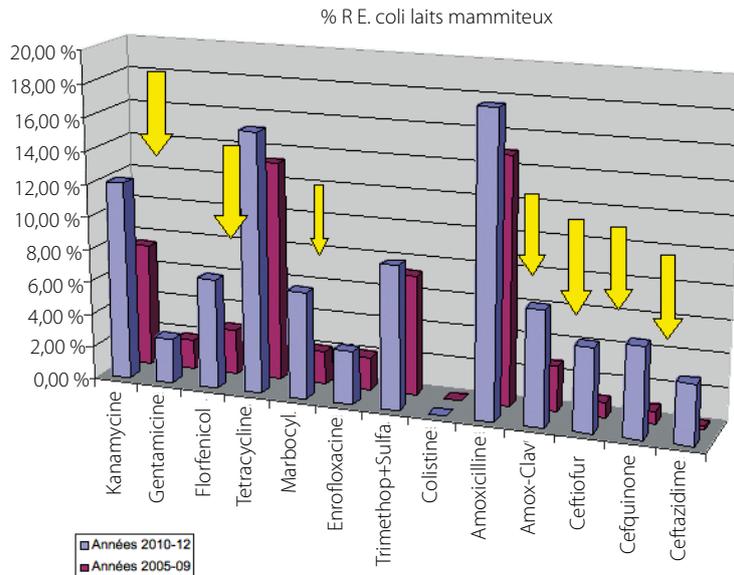
Molécule	mm 2005	mm 2006	mm 2007	mm 2008	mm 2009		
GENTAMYCINE	29.603	29.282	29.33	29.218	28.959		
TÉTRACYCLINE	29.867	29.368	29.287	26.793	26.836		
FLUMÉQUINE	31.68	30.767	30.179	29.364	29.157		
MARBOFLOXACINE	33.686	33.232	32.196	31.467	31.473		
ENROFLOXACINE	32.54	31.779	30.934	30.045	30.094		
CEFTIOFUR	29.145	27.574	26.777	26.62	26.434		
CEFQUINOME	33.544	32.448	31.24	30.564	30.457		
Molécule	Pente	Limite inférieure	Limite supérieure	Probabilité	Signification	Equation	R ²
GENTAMYCINE	- 0.1353	- 0.2375	- 0.033	0.0245	Significatif	-0.13x +29.68	0.86
TÉTRACYCLINE	- 0.8637	- 1.285	- 0.4419	0.0073	Significatif	-0.86x +30.82	0.93
FLUMÉQUINE	- 0.645	- 0.8591	- 0.4308	0.0024	Significatif	-0.64x +32.16	0.96
MARBOFLOXACINE	- 0.6191	- 0.9287	- 0.3095	0.0079	Significatif	-0.61x +34.26	0.93
ENROFLOXACINE	- 0.6628	- 0.9782	- 0.3474	0.0068	Significatif	-0.66x +33.06	0.93
CEFTIOFUR	- 0.6376	- 1.189	- 0.0867	0.0347	Significatif	-0.63x +29.22	0.82
CEFQUINOME	- 0.8059	- 1.218	- 0.3943	0.0083	Significatif	-0.80x +34.07	0.93

b. La méthode qualitative *E. coli* mammaires (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

<i>E. COLI</i> LAIT	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
KANAMYCINE	588	71	548	41	12,07 %	7,48 %
GENTAMICINE	586	16	549	10	2,73 %	1,82 %
FLORFENICOL	493	33	401	11	6,69 %	2,74 %
TETRACYCLINE	589	93	549	73	15,79 %	13,30 %
MARBOCYL	553	36	546	11	6,51 %	2,01 %
ENROFLOXACINE	588	19	550	11	3,23 %	2,00 %
TRIMETHOP+SULFA	589	51	548	40	8,66 %	7,30 %
COLISTINE	589	0	548	0	0,00 %	0,00 %
AMOXICILLINE	588	107	549	82	18,20 %	14,94 %
AMOX-CLAV	588	41	546	15	6,97 %	2,75 %
CEFTIOFUR	491	25	549	5	5,09 %	0,91 %
CEFQUINOME	440	24	541	4	5,45 %	0,74 %
CEFTAZIDIME	580	21	549	1	3,62 %	0,18 %

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

- Toutes les conditions sont réunies pour l'utilisation du test
- Différences significatives pour kanamycine, florfenicol, marbofloxacine et les bêta-lactamines
- Notons seulement que l'ordonnée maximale du graphique culmine ici seulement vers 18%, schéma considérablement différent des autres, témoin de l'écologie très différente des systèmes digestif et mammaire, ce dernier n'étant accompagné d'aucune flore résidante
- Il nous semble intéressant de comparer nos résultats avec ceux du Dr P. Butaye, dans le dernier numéro paru du «Report on zoonotic agents in Belgium. Trends and sources 2010-2011», dans sa partie II «Report on antimicrobial resistance». L'auteur y mentionne que les *Escherichia coli* COMMENSAUX représentent d'excellents indicateurs de la résistance des bactéries Gram négatives, eu égard à leur concentration importante chez toutes les espèces animales et leur présence continue dans chaque échantillonnage. Ces caractéristiques les rendent utiles dans le suivi de la résistance microbienne au cours du temps. Chez les bovins, le matériel prélevé consiste en des matières fécales fraîches provenant du sol d'exploitations où résident des animaux viandeux de moins de 7 mois. Les chiffres recensés dans cette partie de son étude sont assez similaires aux nôtres, puisqu'on répertorie 26.6 % de R à l'ampicilline (n = 154), 0.6 % de R à la colistine, 6.5 % de R au florfenicol, 3.9 % de R à la gentamycine, 5.2% de R à la kanamycine, 3.9 % de R à la ceftazidime et 19.5 % de R tant à la tétracycline qu'au triméthoprim.



La comparaison des antibiogrammes des germes gram positifs des mammites bovines au laboratoire de l'Arsia

a. La méthode quantitative (années 2005 à 2009)

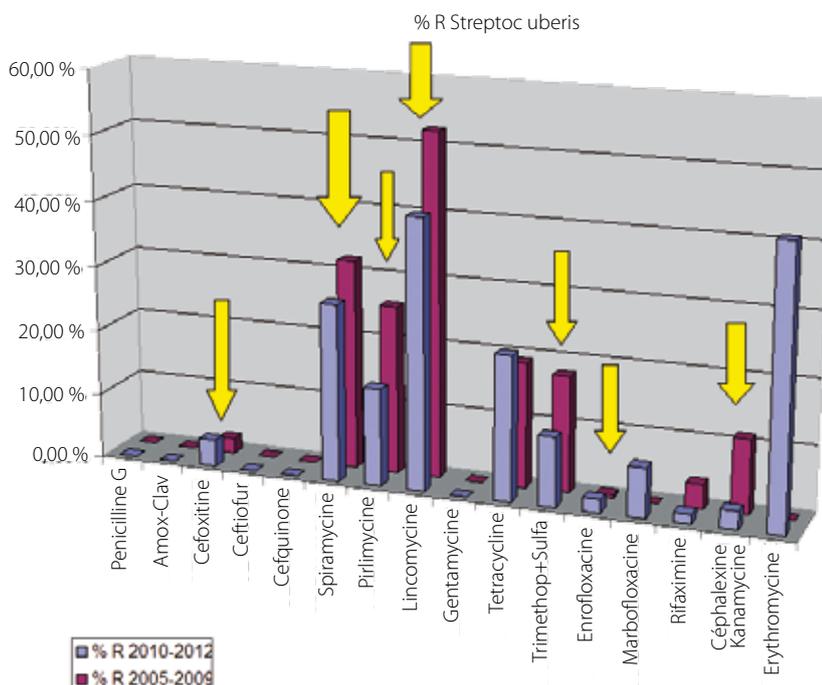
- Pour les trois espèces majeures de streptocoques des mammites (*S.uberis*, *S.dysgalactiae* et *S. agalactiae*), on ne constate aucune évolution négative dans l'antibiorésistance des souches, par la méthode de la régression linéaire appliquée dans les exemples antérieurs.
- Il en était de même pour les toutes les souches de staphylocoques (*S. aureus* ou staphylocoques à coagulase négative).

b. La méthode qualitative (Années 2010 – 2012 versus années 2005 – 2009)

b1. *STREPTOCOCCUS UBERIS*

<i>S. UBERIS</i> LAITS	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
PENICILLINE G	707	0	1302	0	0,00 %	0,00 %
AMOX-CLAV	706	0	1290	0	0,00 %	0,00 %
CEFOXITINE	708	29	1302	29	4,10 %	2,23 %
CEFTIOFUR	707	0	1300	0	0,00 %	0,00 %
CEFQUINOME	468	0	1280	0	0,00 %	0,00 %
SPIRAMYCINE	684	186	1302	418	27,19 %	32,10 %
PIRLIMYCINE	707	106	1289	331	14,99 %	25,68 %
LINCOMYCINE	708	293	1302	685	41,38 %	52,61 %
GENTAMYCINE	354	0	0	0	0,00 %	/
TETRACYCLINECYCLINE	708	157	1302	249	22,18 %	19,12 %
TRIMETOP + SULFA	708	76	1302	232	10,73 %	17,82 %
ENROFLOXACINE	707	15	1303	7	2,12 %	0,54 %
MARBOFLOXACINE	300	23	0	0	7,67 %	/
RIFAXIMINE	706	11	134	5	1,56 %	3,73 %
CÉPHALEXINE-KANAMYCINE	708	20	186	21	2,82 %	11,29 %
ERYTHROMYCINE	353	150	0	0	42,49 %	/

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

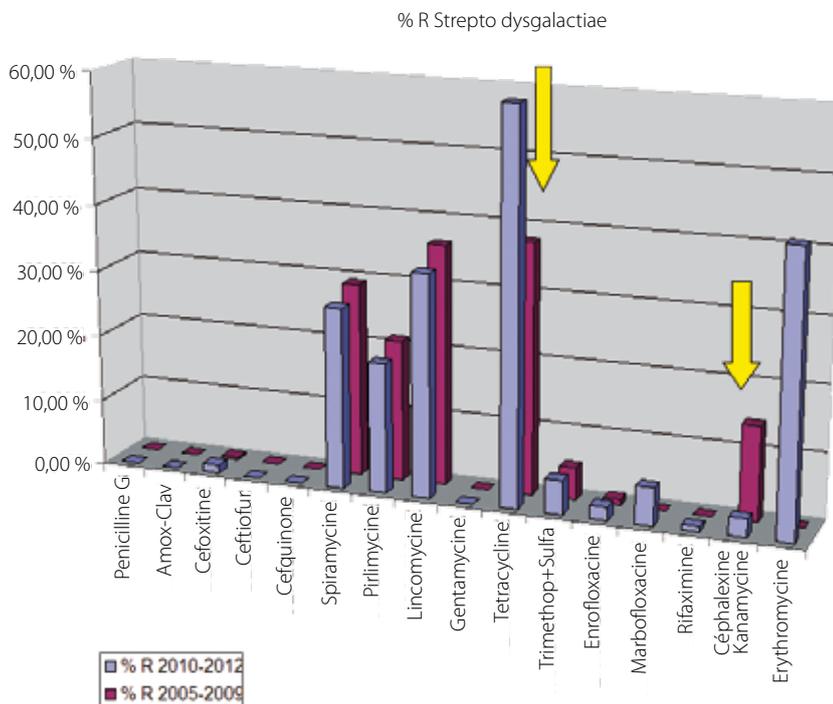


- Les différences significatives vont ici, paradoxalement, plus dans le sens général d'une diminution de résistance au cours du temps que inversement.

b2. STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE:

S. DYSGALACTIAE LAITS	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
PENICILLINE G	248	0	325	0	0,00 %	0,00 %
AMOX-CLAV	249	0	323	0	0,00 %	0,00 %
CEFOXITINE	249	3	325	1	1,20 %	0,31 %
CEFTIOFUR	249	0	324	0	0,00 %	0,00 %
CEFQUINOME	169	0	314	0	0,00 %	0,00 %
SPIRAMYCINE	245	67	325	95	27,35 %	29,23 %
PIRLIMYCINE	249	49	320	68	19,68 %	21,25 %
LINCOMYCINE	249	84	325	118	33,73 %	36,31 %
GENTAMYCINE	144	0	0	0	0,00 %	/
TETRACYCLINECYCLINE	249	147	325	123	59,04 %	37,85 %
TRIMETOP + SULFA	249	13	325	16	5,22 %	4,92 %
ENROFLOXACINE	249	5	326	3	2,01 %	0,92 %
MARBOFLOXACINE	122	7	0	0	5,74 %	/
RIFAXIMINE	249	2	46	0	0,80 %	0,00 %
CÉPHALEXINE-KANAMYCINE	249	7	63	9	2,81 %	14,29 %
ERYTHROMYCINE	144	61	0	0	42,36 %	/

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

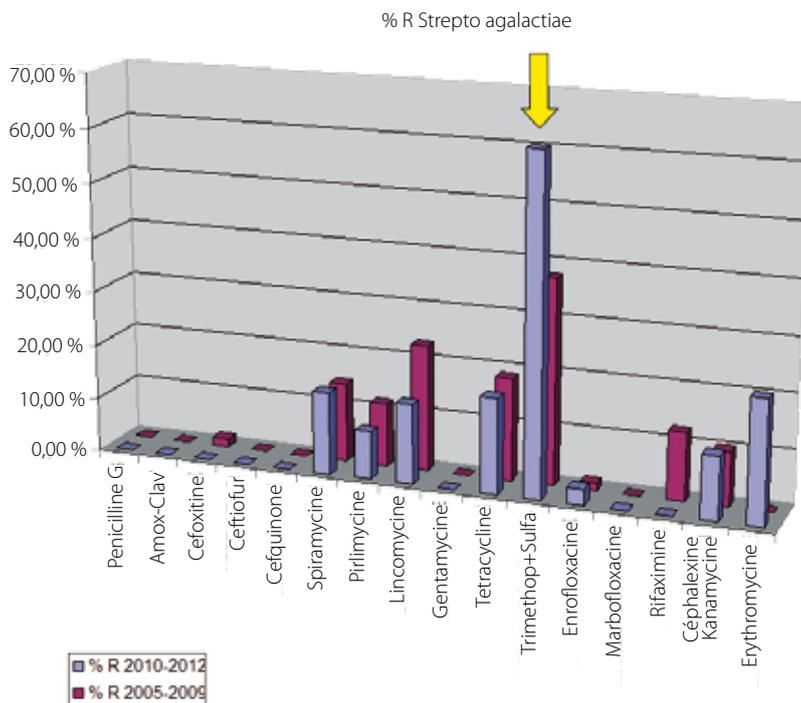


- Seulement deux différences significatives, dans le sens d'une dégradation dans le temps pour la tétracycline, et dans le sens inverse pour Céphalexine-kanamycine ND

6.3. STREPTOCOCCUS AGALACTIAE

S. AGALACTIAE LAITS	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
PENICILLINE G	34	0	69	0	0,00 %	0,00 %
AMOX-CLAV	34	0	38	0	0,00 %	0,00 %
CEFOXITINE	33	3	69	1	0,00 %	1,45 %
CEFTIOFUR	34	0	69	0	0,00 %	0,00 %
CEFQUINOME	20	0	66	0	0,00 %	0,00 %
SPIRAMYCINE	33	5	69	10	15,15 %	14,49 %
PIRLIMYCINE	34	3	69	8	8,82 %	11,59 %
LINCOMYCINE	34	5	69	16	14,71 %	23,19 %
GENTAMYCINE	22	0	0	0	0,00 %	/
TETRACYCLINECYCLINE	34	6	69	13	17,65 %	18,84 %
TRIMETOP + SULFA	34	21	69	26	61,76 %	37,68 %
ENROFLOXACINE	34	1	69	1	2,94 %	1,45 %
MARBOFLOXACINE	18	0	0	0	0,00 %	/
RIFAXIMINE	34	0	8	1	0,00 %	12,50 %
CÉPHALEXINE-KANAMYCINE	34	4	10	1	11,76 %	10,00 %
ERYTHROMYCINE	22	5	0	0	22,73 %	/

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

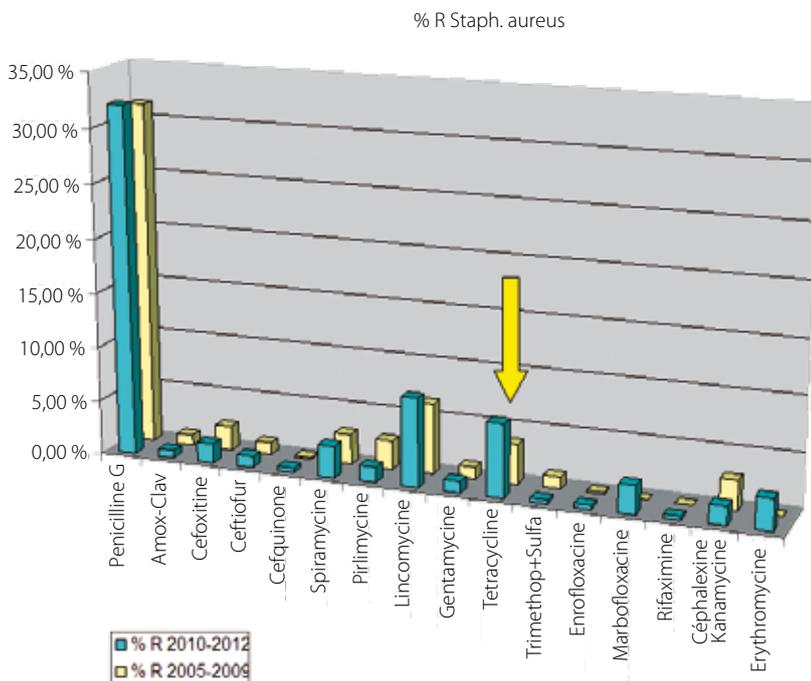


- Une seule différence significative dans le sens dégradation pour triméthoprime + sulfamide.
- Insistons toujours sur la maintien de la sensibilité des trois espèces de streptocoques aux pénicillines, dérivés et céphalosporines.

b4. STAPHYLOCOCCUS AUREUS:

S. AUREUS LAIT	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
PENICILLINE G	281	90	543	171	32,03 %	31,49 %
AMOX-CLAV	281	2	537	5	0,71 %	0,93 %
CEFOXITINE	281	5	543	12	1,78 %	2,21 %
CEFTIOFUR	281	3	543	6	1,07 %	1,10 %
CEFQUINOME	267	1	530	1	0,37 %	0,19 %
SPIRAMYCINE	276	8	543	15	2,90 %	2,76 %
PIRLIMYCINE	281	4	536	14	1,42 %	2,61 %
LINCOMYCINE	281	23	543	35	8,19 %	6,45 %
GENTAMYCINE	281	3	541	6	1,07 %	1,11 %
TETRACYCLINECYCLINE	281	19	543	20	6,76 %	3,68 %
TRIMETOP + SULFA	281	1	543	6	0,36 %	1,10 %
ENROFLOXACINE	281	1	543	1	0,36 %	0,18 %
MARBOFLOXACINE	113	3	0	0	2,65 %	/
RIFAXIMINE	281	1	89	0	0,36 %	0,00 %
CÉPHALEXINE-KANAMYCINE	280	5	109	3	1,79 %	2,75 %
ERYTHROMYCINE	136	4	0	0	2,94 %	/

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009



- Une seule différence significative dans le sens dégradation dans le temps pour la tétracycline.

65. STAPHYLOCOQUES COAGULASE-NEGATIVE

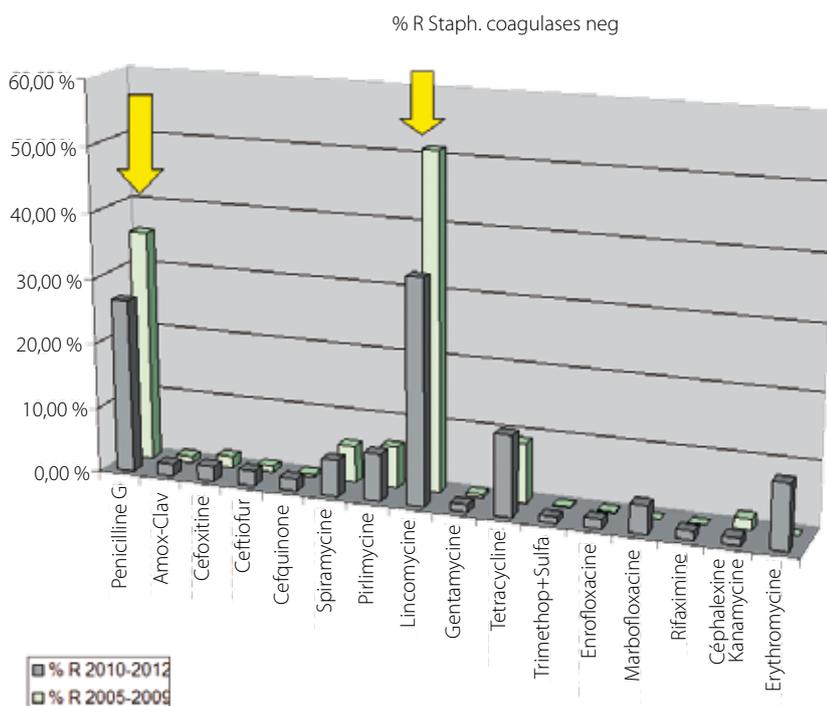
Ces SCN tous confondus (*S. chromogenes*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri*, *S. warneri*, *S. xylosus*, ...) ont longtemps été considérés comme pathogènes mineurs, suite à la fréquente guérison spontanée dont ils font l'objet dans la mamelle. Le praticien se trouve toutefois de plus en plus confronté à ces germes, en présence de vaches infectées ne guérissant pas spontanément.

S'il importe au laboratoire de diagnostic d'identifier à minima le genre *Staphylococcus*, il doit en outre préciser si ce dernier pos-

sède ou non une *coagulase*. Or, ces staphylocoques à coagulase négative (CNS) étaient, jusqu'en septembre 2011, différenciés à l'aide de galeries biochimiques (galeries API bio-Mérieux ND). Les méthodes PCR de référence ont toutefois montré que les valeurs prédictives positives variaient trop largement à l'aide de ces techniques. Nous avons alors adopté la politique de différencier *Staphylococcus aureus* (à coagulase positive) des autres staphylocoques, en répondant « *Staphylocoques coagulase négative* » pour ces derniers.

S. COAGULASE - LAITS	2010-12		2005-09		% Ra	% Rb
	Nombre	R	Nombre	R		
PENICILLINE G	428	114	705	251	26,64 %	35,60 %
AMOX-CLAV	426	8	688	7	1,88 %	1,02 %
CEFOXITINE	428	10	705	12	2,34 %	1,70 %
CEFTIOFUR	428	10	705	7	2,34 %	0,99 %
CEFQUINOME	402	8	681	3	1,99 %	0,44 %
SPIRAMYCINE	413	23	705	40	5,57 %	5,67 %
PIRLIMYCINE	428	31	698	44	7,24 %	6,30 %
LINCOMYCINE	428	147	705	363	34,35 %	51,49 %
GENTAMYCINE	428	5	703	3	1,17 %	0,43 %
TETRACYCLINECYCLINE	428	53	704	64	12,38 %	9,09 %
TRIMETOP + SULFA	428	4	705	2	0,93 %	0,28 %
ENROFLOXACINE	428	6	705	2	1,40 %	0,28 %
MARBOFLOXACINE	185	8	0	0	4,32 %	/
RIFAXIMINE	428	6	93	0	1,40 %	0,00 %
CÉPHALEXINE-KANAMYCINE	425	5	115	2	1,18 %	1,74 %
ERYTHROMYCINE	219	22	0	0	10,05 %	/

- R = nombre de souches résistantes
- % Ra = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2010 – 2012
- % Rb = pourcentage de souches résistantes dans l'intervalle 2005 – 2009

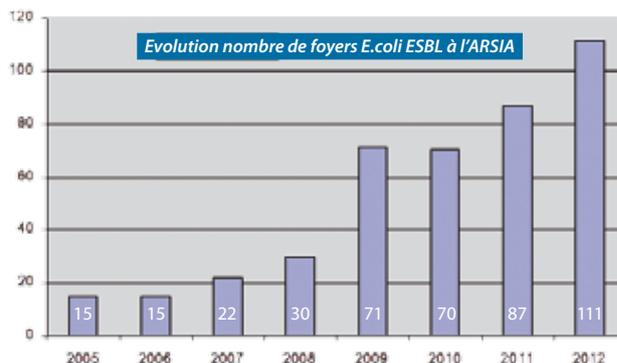


Deux différences significatives, dans le sens d'une amélioration au cours du temps :

- **Pénicilline**: les souches productrices de bêta-lactamases classiques avoisinent toujours les 30%, tant en matière de *S. aureus* que *S. coagulase négative*, avec un retour sous ce seuil pour les derniers entre 2010 et 2012. Quant aux souches MRSA (détectées phénotypiquement par la résistance à la céfoxitine), nous en répertorions 1,78% (*S. aureus*) et 2,34% (SCN). L'identification de bovins porteurs de telles souches nous semble indispensable, afin d'en assurer la réforme, eu égard à la difficulté de traitement et à leur potentiel zoonotique.
- **Lincomycine**: il s'agit plus probablement ici d'un biais lié au regroupement de tous ces staphylocoques mineurs en une seule catégorie, à savoir les staphylocoques à coagulase négative. En effet, lorsque l'identification antérieure par espèce concluait à *Staphylococcus xylosus*, le module expert couplé au SIRSCAN rendait toujours un résultat INTERPRETE « R » vis-à-vis de cette molécule, puisque *S. xylosus* est naturellement résistant.

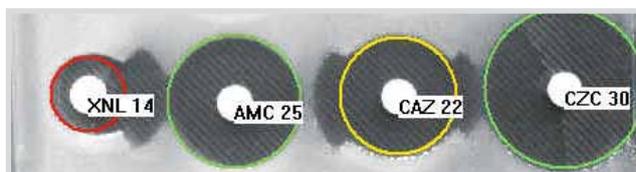
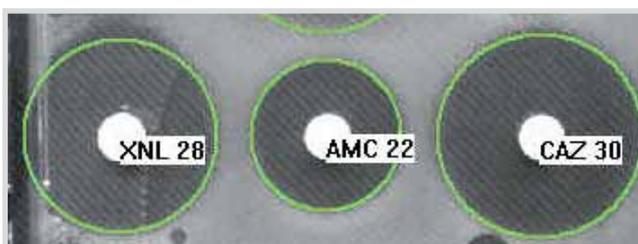
Ces deux techniques différentes ne mesurant pas les mêmes paramètres et axées sur des intervalles de temps différents, aboutissent toutefois, à de rares exceptions près, à des conclusions similaires : peu d'évolution tant pour les germes GRAM-positifs des infections mammaires que pour les pasteurelles et salmonelles, mais rendant parfaitement compte de la notion d'**ANTIBIOTIQUE CRITIQUE** assignée aux céphalosporines de 3^e et 4^e génération essentiellement et des fluoroquinolones dans une moindre mesure, vis-à-vis des germes de l'écosystème digestif.

L'importance grandissante des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) ou céphalosporinases à haut niveau n'est pas étrangère à cet état de fait.



La détection des BLSE repose sur une mesure qualitative ou quantitative, 2 méthodes non exclusives :

Observation de synergie en bouchon de champagne entre la pastille d'« Amoxicilline + acide clavulanique » (AMC) et celles de céphalosporines de 3^e (XNL) ou 4^e génération (CAZ), en lieu et place d'une inhibition en diamètre régulier :



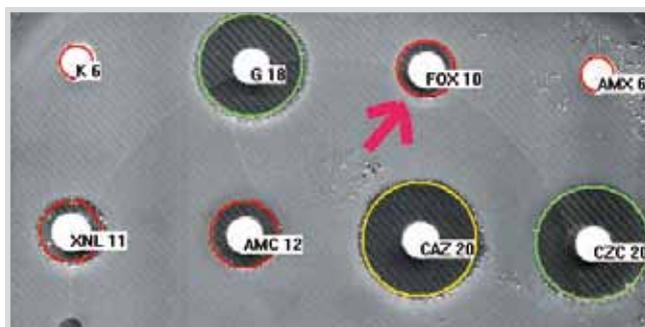
Ou différence d'au moins 5 mm entre les diamètres d'inhibition rencontrés pour « ceftazidime + acide clavulanique » (CZC) par rapport à la ceftazidime seule (CAZ) :



Lors de mise en évidence de telles BLSE, la souche doit être considérée comme résistante à toutes les bêta-lactamines disponibles en médecine vétérinaire, à l'exception de l'association « amoxicilline + acide clavulanique ». Pour cet antibiotique, le résultat brut (S, I,

ou R) n'est pas soumis à cette règle d'interprétation. Néanmoins, l'efficacité in vivo de l'amoxicilline – acide clavulanique sur une souche possédant une BLSE n'est pas documentée en médecine vétérinaire.

La détection des céphalosporinases de haut niveau se réalise, elle, à l'aide de la céfoxitine (FOX), non disponible en médecine vétérinaire. Lors de résistance à cet antibiotique, la souche doit être considérée comme résistante à toutes les bêta-lactamines disponibles en médecine vétérinaire, en ce y compris l'association « amoxicilline + acide clavulanique ».



Ces **ANTIBIOTIQUES CRITIQUES** évoqués ci-haut sont des antibiotiques utilisés en médecine humaine, en dernier recours, en particulier en milieu hospitalier, pour traiter des infections liées à des bactéries multirésistantes nosocomiales ou communautaires (MRSA, bactéries Gram négatif). Il s'agit donc, rappelons-le, de « sanctuariser » la santé humaine.

Deux critères d'appartenance les caractérisent :

- cet antibiotique est le seul recours ou l'une des seules alternatives pour traiter une maladie humaine grave ;
- cet antibiotique est utilisé pour traiter des maladies causées par des organismes transmis par des sources non humaines ou des maladies causées par des organismes pouvant acquérir des gènes de résistance de sources non humaines.



L'EXEMPLE CANADIEN qui suit illustre le lien intime entre nos deux médecines: l'interdiction du ceftiofur en médecine vétérinaire a été suivie par une diminution significative de l'incidence des salmonelles résistantes aux céphalosporines chez l'homme.



L'EXEMPLE HOLLANDAIS range parmi les antibiotiques critiques les céphalosporines de 3^e et 4^e génération, les fluoroquinolones et les macrolides LA (Notons que le statut de la colistine évolue vers ce niveau).

Lors de traitements de groupe d'animaux, ces céphalosporines sont interdites et l'utilisation des fluoroquinolones soumise à antibiogramme.

En traitements individuels, les fluoroquinolones ne sont soumises à aucune condition particulière et les céphalosporines à antibiogramme préalable.



Quant à **L'EXEMPLE FRANÇAIS**, il aboutit au consensus sur l'usage des C3G/C4G en pathologie PORCINE, suite aux prescrits de l'EMEA (agence européenne du médicament vétérinaire): jamais systématiquement, ni en première intention et toujours suite à antibiogramme. La seule dérogation concerne les infections respiratoires suraiguës à *Actinobacillus pleuropneumoniae* en fin d'engraissement, car leur CMI est basse face à ce germe, le délai d'attente de 48 h faible avant abattage, la tolérance excellente au point d'injection, et l'efficacité prime sur l'évolution lésionnelle excessivement rapide.



La **BELGIQUE** enfin vient récemment d'adapter le RCP (résumé des caractéristiques des produits) et la notice des médicaments à base de céphalosporines de 3^e et 4^e génération (cefquinome et/ou ceftiofur) chez les animaux producteurs d'aliments (Voir «*Folia Veterinaria*» 2012, n° 2, pages 7-8). Leur administration est seulement permise lors d'inefficacité d'un médicament de première ligne ou dans les formes aiguës susceptibles d'induire une réponse insuffisante à celui-ci, autant que possible après tests de sensibilité (antibiogramme), dans le traitement d'une infection existante et non en prévention d'une maladie, et dans le traitement d'animaux individuels (limitation des traitements de groupe). Leur administration est interdite aux volailles, y compris *in ovo*, et même pas dans le cadre du système de la cascade. Dans le traitement de la métrite des bovins, on les utilisera seulement en seconde intention ; elles sont donc interdites comme traitement prophylactique en cas de rétention placentaire.

L'ARSIA participe ainsi modestement à la surveillance de l'antibiorésistance depuis plus de 10 ans.

Toutefois, au fil de ces 10 années, nous avons constaté:

- qu'en dépit d'une liberté totale de prescription accordée au praticien, les pratiques générales d'antibiothérapie dans notre monde rural conduisent à une relative stabilité générale de l'antibiorésistance, quel que soit le germe considéré à l'exception de ceux concernant le digestif... Cet élément est rassurant quant à la responsabilisation des prescripteurs ;
- que les germes de la sphère digestives constituent les cibles privilégiées de l'antibio-résistance et que le risque d'un transfert de celle-ci à des germes commensaux est une réalité que l'on ne peut nier ;
- que ce sont principalement certaines familles d'antibiotiques qui sont concernées par le phénomène et qu'il faut en tenir compte dans la démarche thérapeutique conduite dans les exploitations ;
- que la prise de conscience et la responsabilisation des prescripteurs vis à vis de ces familles d'antibiotiques pourraient permettre d'éviter des mesures d'utilisation de plus en plus coercitives.

Plus que jamais, le praticien aura toujours intérêt à vérifier les critères d'échec et de succès de son antibiothérapie.

POUR LA CELLULE DE PATHOLOGIE GENERALE DE L'ARSIA :

Dr Jean BUGHIN
Dr Guy CZAPLICKI

ET LA PRECIEUSE AIDE TECHNIQUE DE :

Mr Alexis HENROT, Mme Hafida LIZATI, Melle Ariane MARX, Dr Thierry PETITJEAN,
Dr Christian QUINET, Dr Marc SAULMONT, Mr Benoît SIMON, Mme Anne WINKIN

- « Antibiogrammes 2004, rapport d'activités et résultats de l'ARSIA ».
- « Antibiogrammes. Edition 2007, rapport d'activités et résultats de l'ARSIA ».
- « Antibiogrammes. Edition 2010, rapport d'activités et résultats de l'ARSIA ».
- « Répertoire commenté des médicaments à usage vétérinaire », Edition 2012, Centre belge d'information pharmacothérapeutique.
- « Réalisation des antibiogrammes pour les entérobactéries et staphylocoque spp sur Mueller-Hinton transparentes », version 12. SOP/BAC/ANA/07, ARSIA.
- « Lecture automatisée des antibiogrammes des entérobactéries et staphylocoques spp sur Mueller-Hinton transparentes, à l'aide du SIRSCAN », version 6. SOP/BAC/ANA/08, ARSIA.
- « Contrôle de qualité (QC) dans la réalisation des antibiogrammes pour les entérobactéries et les staphylocoques spp sur Mueller-Hinton transparentes », version 10. SOP/BAC/CON/08, ARSIA.
- « Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie: recommandations 2011».
- « Biostatistique : une approche intuitive » Harvey J. Motulsky, de boeck Editeur.
- « Evolution en Wallonie de l'antibiorésistance de trois germes responsables de mammites : test d'une méthode novatrice », Olivier Crenn, Mémoire de troisième doctorat en médecine vétérinaire, Année académique 2006-2007.
- « Antiothérapie bovine : acquis et consensus ». Pfizer Santé Animale, 2002.
- « BelVet-Sac : national consumption report 2010 ».
- « Les vétérinaires ont mal à leurs antibiotiques ». A.Schonbrodt, Veterinaria, novembre 2011.
- « Antibiogrammes: procédures optimisées ». J.Bughin. rapport d'activités de l'ARSIA 2011.
- « Folia veterinaria », n° 2 , 2012.
- « La résistance des bactéries aux antibiotiques : mécanismes et évolutions récentes ». V.Guérin-Faublée. Bulletin des GTV, n° 49, juin 2009.
- « Le plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire ». JM.Picard. Bulletin des GTV, n° 64, mai 2012.
- « Stratégie thérapeutique et impact sur la résistance ». Y.Millemann, B.Herkia, G.Belbi. Bulletin des GTV, n° 64, mai 2012.
- « De vieux antibiotiques ou des antibiotiques innovants pour la médecine vétérinaire ? » PL.Toutain, A.Bousquet-Mélou, Bulletin des GTV, n° 64, mai 2012.
- « Réduction de la consommation d'antibiotiques en élevage : l'expérience d'un confrère néerlandais ». Bulletin des GTV, n° 64, mai 2012.
- « Consensus sur l'utilisation des céphalosporines de 3^e ou 4^e génération en pathologie porcine ». S.Chouët et al. Bulletin des GTV, n° 64, mai 2012.
- « Limiter en pratique l'utilisation des céphalosporines de 3^e ou 4^e génération en pathologie porcine ». Ph. Le Coz, F.pelenc, M. Ledru. Bulletin des GTV, n° 64, mai 2012.
- « Report on zoonotic agents in Belgium. Trends and sources 2010-2011 ».

Élever, produire, transformer...
l'Arsia vous accompagne !



Ce quatrième rapport à destination des médecins vétérinaires de Wallonie n'aurait pu être édité, ni distribué gracieusement sans la participation financière des partenaires annoncés dans cette brochure. Nous tenons à leur exprimer toute notre gratitude.

