

INVESTIGATION STATISTIQUE DES MULTIRÉSISTANCES AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ DES SOUCHES D'*ESCHERICHIA COLI* ISOLEES CHEZ LES BOVINS DE 2002 A 2005 *

*Elise Kayser*¹, *Eric Morignat*¹, *Danièle Meunier*²,
*Jean-Yves Madec*², *Didier Calavas*¹
et *Marie-Anne Botrel*¹

RESUME : La multirésistance aux antibiotiques est une préoccupation croissante en santé humaine et animale pour le maintien de l'efficacité des antibiotiques dans le traitement des maladies infectieuses. Pour autant, cette problématique est peu abordée au travers des résultats publiés des réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques. Une approche quantitative des données de réseaux dédiée à l'étude des multirésistances est proposée. L'objectif était d'identifier les résistances associées aux antibiotiques chez des souches d'*Escherichia coli* isolées de bovins et de déterminer si ces associations évoluaient entre les périodes 2002-2003 et 2004-2005. Le premier aspect a été traité par l'analyse des correspondances multiples et la classification ascendante hiérarchique. L'évolution dans le temps a été abordée par le modèle log-linéaire. Les données sont issues du réseau de surveillance Resapath et neuf antibiotiques ou groupes d'antibiotiques ont été étudiés. Trois groupes de résistances associées ont été identifiés et des hypothèses au niveau bactériologique sont décrites.

Mots-clés : Multirésistance, antibiotiques, *Escherichia coli*, bovins, analyse factorielle des correspondances multiples, Classification ascendante hiérarchique, modèle Log-linéaire.

SUMMARY : Multiresistance to antibiotics is increasingly a matter of concern for human and animal health for the maintenance of antibiotic efficacy in the treatment of infectious diseases. However, this problem is not given the proper attention in the surveys published by the antibiotic resistance networks. A quantitative approach in the treatment of the data on antibiotic multiresistance collected by the networks is proposed. The objective was to identify associated resistance to antibiotics in *Escherichia coli* strains isolated from bovines and to determine if these associations changed between the periods 2002-2003 and 2004-2005. The first aspect was treated by Multiple Correspondence Analysis and Hierarchical Ascending Classification. Changes over time were analyzed using a log-linear model. The data were obtained from the Resapath network. Nine antibiotics or groups of antibiotics were studied. Three groups of multiresistance were identified and bacteriological hypotheses are discussed.

Keywords : Multiresistance, antibiotics, *Escherichia coli*, bovines, multiple correspondence analysis, hierarchical ascending classification, log-linear model.



* Article reçu le 6 juin 2007 ; accepté le 30 octobre 2007

¹ AFSSA-Lyon, Unité Epidémiologie, 31 avenue Tony Garnier, 69364 Lyon Cedex 07, France

² AFSSA-Lyon, Unité Bactériologie, 31 avenue Tony Garnier, 69364 Lyon Cedex 07, France

I - INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques est considérée comme un problème majeur en santé humaine et animale. Les infections, humaines ou animales, par des bactéries ayant acquis un gène de résistance à un ou plusieurs antibiotiques sont susceptibles d'être à l'origine d'échecs thérapeutiques. La mise en place de réseaux de surveillance répond ainsi à l'objectif de suivre l'évolution dans le temps et dans l'espace de la résistance aux antibiotiques et d'apprécier la diffusion de bactéries pathogènes pour l'homme et l'animal.

Le groupe de travail « Antibiorésistance » mis en place par l'Afssa (Agence française de sécurité sanitaire des aliments) a fait un certain nombre de recommandations dans le but d'améliorer les dispositifs de surveillance. Il s'agit notamment de privilégier la surveillance des multirésistances et de développer des travaux statistiques sur les bases de données existantes, afin de détecter des phénomènes nouveaux ou des évolutions dans le temps [AFSSA, 2006].

Les bactéries multirésistantes, qui cumulent des résistances à plusieurs antibiotiques de familles différentes, peuvent conduire à des impasses thérapeutiques. Une résistance simultanée à plusieurs antibiotiques de familles différentes peut provenir d'un seul mécanisme de résistance non spécifique (une pompe d'efflux par exemple) ou de la présence concomitante de plusieurs mécanismes différents. L'utilisation d'un antibiotique pour lequel la bactérie est résistante est susceptible de sélectionner simultanément plusieurs gènes de résistance, notamment si ceux-ci sont proches au plan bio-moléculaire. Ce phénomène, appelé co-sélection, peut donc influencer l'évolution de la résistance à un antibiotique sans que celui-ci ne soit pour autant utilisé massivement.

En France, la surveillance de la résistance chez les bactéries pathogènes des bovins est assurée depuis plus de vingt ans [Botrel *et al.*, 2006] au travers du réseau Resapath (Réseau de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes). Les résultats du réseau sont présentés pour la plupart sous la forme de proportions de résistances par couple bactérie-antibiotique. Le phénomène de multirésistances est abordé différemment :

d'une part, des requêtes informatiques automatisées sur la base de données du réseau permettent de détecter les phénotypes « inhabituels », et d'autre part, les proportions de bactéries présentant certains phénotypes définis au préalable par les animateurs du réseau sont calculées.

Dans les réseaux de surveillance étrangers, des études sont faites sur la prévalence de souches ayant des phénotypes de multirésistance prédéfinis [FINRES-VET, 2004] et sur l'évolution des proportions de souches résistantes à plus de quatre antibiotiques [DANMAP, 2005]. Certaines études utilisent des méthodes d'analyse statistique spécifiques : des techniques d'analyse de « cluster » ont été utilisées pour décrire des profils de sensibilité aux antibiotiques de la bactérie *E. coli* [Berge *et al.*, 2003], des méthodes d'analyse factorielle ont permis d'identifier des groupes d'antibiotiques au travers des concentrations minimales inhibitrices [Wagner *et al.*, 2003].

Une approche statistique quantitative sans *a priori* sur les associations de résistances apparaissait donc comme une façon innovante d'aborder la problématique des résistances associées (multirésistances) à partir des données du réseau de surveillance français, jusqu'à présent analysées de façon intuitive sur des associations spécifiques.

Parmi les données de résistance aux antibiotiques disponibles du Resapath, celles qui concernaient la bactérie *E. coli* ont été choisies pour leur intérêt biologique. Il s'agit d'une bactérie commensale du tube digestif de l'animal et de l'homme dont il est recommandé de suivre l'évolution des résistances [OIE, 2003]. Les Entérobactéries commensales constituent un réservoir potentiel de gènes de résistance pouvant être transmis à d'autres bactéries pathogènes pour l'homme ou l'animal.

L'étude décrite dans cet article a pour objectif l'identification des résistances associées chez *E. coli* par l'utilisation de méthodes statistiques descriptives appropriées, mais aussi la détermination de l'évolution dans le temps des associations ainsi mises en évidence. Cette étude participe à la valorisation des données du réseau Resapath.

II - MATERIEL ET METHODES

1. LES DONNEES

1.1. SOURCE

Les données analysées proviennent du réseau Resapath qui collecte les résultats des antibiogrammes réalisés par les laboratoires de diagnostic vétérinaire sur des isolements de bactéries issues entre autres de bovins malades [Botrel *et al.*, 2006].

1.2. NATURE

Les données disponibles sont les diamètres d'inhibition des bactéries isolées des prélèvements envoyés aux laboratoires d'analyses dans le cadre de leur pratique quotidienne. Ces données sont interprétées par rapport aux seuils critiques de chaque antibiotique afin de classer les bactéries en catégories Sensible (« S »), Résistant (« R ») ou Intermédiaire (« I »). Les seuils critiques utilisés sont ceux déterminés par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie [SFM, 2007].

1.3. SELECTION

6 983 souches d'*E. coli* isolées de bovins par les laboratoires de diagnostic vétérinaire du réseau entre 2002 (données plus fiables suite à une restructuration des bases de données) et 2005 (les données 2006 n'étant pas toutes disponibles lors de la réalisation de ce travail) ont été sélectionnées. L'absence de doublons parmi les données a été vérifiée.

Les antibiotiques vis-à-vis desquels *E. coli* présente une résistance naturelle (par exemple, la cloxacilline) n'étaient pas pertinents et ont été exclus des données.

Par ailleurs, les antibiotiques pour lesquels la bactérie était censée avoir le même comportement (profil de résistance) ont été regroupés [SFM, 2007]. Ainsi, lorsqu'une bactérie était résistante à un ou plusieurs antibiotiques du même groupe, elle était considérée comme résistante à l'ensemble du groupe.

L'ensemble des laboratoires de diagnostic vétérinaire ne testant pas les mêmes antibiotiques sur les bactéries, seuls les antibiotiques ou groupes d'antibiotiques utilisés sur au moins 5000 bactéries ont été sélectionnés dans l'analyse.

Les antibiotiques amoxicilline-acide clavulanique (AMC), cefquinome (CEQ), ceftiofur (XNL), colistine (CS), enrofloxacin (ENR), florfenicol (FFC), gentamicine (GM) et streptomycine (S) ont ainsi été retenus. Les groupes suivants ont également été sélectionnés : Quin représentant les quinolones de première et deuxième générations (acide nalidixique, acide oxolinique, acide pipémidique, fluméquine), Cycl représentant les cyclines (doxycycline, oxytétracycline, tétracycline), AmiP représentant les aminopénicillines sans associations avec inhibiteurs de bêta-lactamases (amoxicilline, ampicilline) et Tmp-S représentant les triméthoprime-sulfamides (sulfamides, triméthoprime, association triméthoprime-sulfamides).

Au final, douze antibiotiques ou groupes d'antibiotiques ont été retenus.

Les bactéries à phénotypes Résistant et Intermédiaire ont été regroupées en une même catégorie « R », les bactéries à sensibilité diminuée (Intermédiaire) pouvant posséder un mécanisme de résistance exprimé à faible niveau dans la bactérie. Par ailleurs, une variable « période de temps » à deux modalités (2002-2003 et 2004-2005) a été créée dans le but de pouvoir étudier l'évolution au cours du temps des multirésistances identifiées, tout en disposant d'un nombre de données suffisant par période.

Chaque variable présentait alors deux modalités : R et S pour les antibiotiques, 2002-2003 et 2004-2005 pour la période de temps.

Pour disposer de données complètes, les bactéries pour lesquelles au moins un antibiotique ou groupe d'antibiotiques était non testé par le laboratoire ont été exclues de l'analyse, soit 3520 bactéries. Le fichier final sur lequel a porté l'étude était donc constitué des données relatives à 3 463 souches d'*E. coli*.

Les *E. coli* concernées par l'étude des résistances multiples étaient en très grande majorité (74,6 %) issues de prélèvements de fèces de veaux atteints d'une pathologie digestive. Les autres origines des souches concernées par l'analyse étaient soit non renseignées (environ 12%), soit globalement peu représentées.

2. ANALYSE DES DONNEES

Deux méthodes d'analyse descriptive ont été retenues pour identifier les associations de résistances des bactéries et ainsi définir des groupes de résistances associées : l'analyse des correspondances multiples (ACM) et la classification ascendante hiérarchique (CAH). Dans un second temps, la variation dans le temps de la force d'association entre les antibiotiques pris deux à deux à partir des groupes obtenus a été étudiée à l'aide d'un modèle log-linéaire.

2.1. L'ANALYSE DES CORRESPONDANCES MULTIPLES

L'ACM est une analyse factorielle sur plusieurs variables qualitatives permettant d'observer des proximités entre modalités de variables ou entre individus.

Elle consiste à rechercher un espace de plus faible dimension que celui des individus (ici, les bactéries), tout en conservant une part suffisante de l'information de départ, sur lequel on projette le nuage des modalités de variables (ici, R ou S). Elle permet dans notre étude d'interpréter visuellement les proximités entre profils de résistance aux antibiotiques pour les 3 463 bactéries sélectionnées.

Les taux modifiés de Benzécri [Lebart *et al.*, 2006] ont été utilisés pour déterminer la dimension de l'espace à retenir pour décrire les données de l'étude.

Les contributions absolues des modalités des variables antibiotiques ont été utilisées pour définir la signification des axes, et les contributions relatives pour évaluer la qualité de représentation des modalités dans le sous-espace retenu.

Les modalités d'effectif très faible donnant lieu à des distances parfois très importantes (ce qui est facteur d'instabilité des résultats), seules les variables dont l'effectif de chaque modalité était supérieur à 5% de l'effectif total ont été introduites dans l'ACM [Lebart *et al.*, 2006].

2.2. LA CLASSIFICATION ASCENDANTE HIERARCHIQUE

La CAH produit des groupements (ou classes) d'individus ou de variables similaires. Elle a été utilisée dans l'étude pour classer les modalités « Résistant » des antibiotiques afin de

déterminer quelles résistances pouvaient être considérées comme associées.

La CAH conduit à la construction d'un arbre de classification (dendogramme) par agrégations successives des objets (modalités R des antibiotiques) les plus proches [Lebart *et al.*, 2006]. Elle repose sur le choix d'une stratégie d'agrégation et d'un indice de similarité entre les variables.

L'indice de similarité de Sorensen a été retenu. Il permet de définir des distances entre données binaires, telles que la ressemblance ne soit prise en compte que par la présence commune de résistances, en affectant un poids supérieur à celles-ci. Il était donc adapté à l'objectif de regroupement des résistances associées parmi la population de bactéries de l'étude.

Différents critères d'agrégation ont été testés : la méthode du saut minimal, du saut maximal et de la distance moyenne ainsi que le critère d'agrégation de Ward. Le critère apportant le coefficient d'agglomération le plus élevé a ensuite été retenu afin d'obtenir une bonne structure du dendogramme.

Le choix du nombre de classes à retenir a été réalisé par l'examen de l'histogramme des indices croissants de niveau.

2.3. LE MODELE LOG-LINEAIRE

Le modèle log-linéaire permet l'étude des liaisons entre variables qualitatives d'un tableau de contingence multidimensionnel [Morineau *et al.*, 2000]. Il a été utilisé pour déterminer si les associations de résistances entre les antibiotiques deux à deux variaient au cours des périodes de temps retenues.

Pour chaque groupe d'associations déterminé par les méthodes précédentes, un modèle log-linéaire hiérarchique a été ajusté. Etant donné le nombre potentiellement élevé de variables dans chaque groupe et donc de variables dans chaque modèle, une procédure pas à pas descendante reposant sur le critère d'information d'Akaike (AIC), à partir du modèle complet d'interactions d'ordre 3, a été privilégiée pour sélectionner les modèles explicatifs [Agresti, 1990]. L'ajustement du modèle complet d'interaction d'ordre 3 a été vérifié au préalable par la statistique du rapport de vraisemblance.

L'ajustement du modèle final a également été évalué par la statistique du rapport de vraisemblance.

La significativité des interactions entre deux antibiotiques et le temps, présentes dans ce modèle, a été testée par une comparaison de deux modèles emboîtés au seuil de 5%, à savoir : le modèle final et le modèle final sans l'interaction considérée.

A partir des paramètres du modèle, la force des associations de résistances entre antibiotiques a été quantifiée pour chaque période de temps par les odds-ratios et leurs intervalles de confiance à 95%.

$$\ln(n_{ijk}) = \beta_0 + \beta_1 X + \beta_2 Y + \beta_3 \text{période} + \beta_4 XY + \beta_5 X\text{période} + \beta_6 Y\text{période} + \beta_7 XY\text{période}$$

où le terme général du tableau (n_{ijk}) indique l'effectif de la cellule correspondant au nombre de bactéries présentant une combinaison donnée des modalités des 3 variables (ici, les modalités i, j et k). Ce terme n_{ijk} correspond à la réalisation d'une variable aléatoire qui suit une loi de Poisson.

Pour illustrer, admettons qu'une association entre deux antibiotiques X et Y ait été mise en évidence par les méthodes d'analyse de données. Avec deux modalités (R et S) par antibiotique et pour les périodes de temps (2002-2003 et 2004-2005), les trois variables forment un tableau de contingence multidimensionnel à trois entrées comprenant 2*2*2 cellules.

Le modèle final sera sélectionné par une procédure pas à pas descendante à partir du modèle suivant :

La notation équivalente au modèle précédent [$X*Y*\text{période}$], qui ne fait intervenir que les interactions significatives d'ordre supérieur (les interactions d'ordre inférieur étant obligatoirement incluses dans un modèle hiérarchique), sera utilisée par la suite.

III - RESULTATS

1. DONNEES DE RESISTANCE

Parmi les 3 463 bactéries retenues, les proportions de résistance à chacun des 12 antibiotiques retenus variaient de 2 à 84% (tableau 1). Les trois antibiotiques dont les taux de résistance étaient inférieurs à 5% (la cefquinome, le ceftiofur et la colistine) ont été exclus de l'analyse.

2. ACM

Les taux modifiés de Benzécri conduisent à sélectionner les deux premiers axes factoriels puisque les taux cumulés sont de 98,83% (93,43% pour l'axe 1 et 5,4% pour l'axe 2). L'information de départ est donc restituée de manière satisfaisante.

Les contributions absolues élevées des modalités de variables permettent d'interpréter l'axe 1 qui oppose les modalités R aux

modalités S. *A contrario*, l'axe 2 n'a pas de signification triviale, ce qui est vraisemblablement dû au fait que le premier axe explique à lui seul la quasi totalité de l'information.

La contribution relative des neuf antibiotiques est suffisamment élevée pour analyser les positions des modalités. Ainsi, trois groupes de résistances associées sont mis en évidence par l'ACM (figure 1) :

- Groupe 1 : aminopénicillines - amoxicilline - acide clavulanique - cyclines - streptomycine ;
- Groupe 2 : quinolones - triméthoprim-sulfamides ;
- Groupe 3 : florfenicol - gentamicine - enrofloxacin.

Tableau 1

Effectif (n) et proportion (en pourcentage) des souches d'*E. coli* isolées de bovins entre 2002 et 2005 dans le Resapath par phénotype de résistance pour les douze antibiotiques ou groupes d'antibiotiques sélectionnés

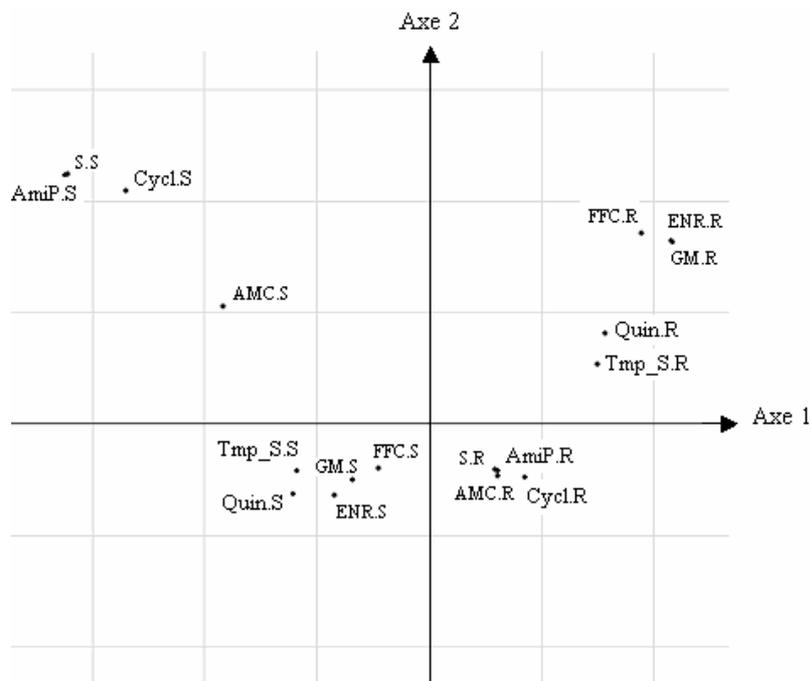
	AMC		CEQ		XNL		CS		ENR		FFC	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Résistant	2 361	68	183	5	77	2	64	2	973	28	663	19
Sensible	1 102	32	3 280	95	3 386	98	3 399	98	2 490	72	2 800	81

	GM		S		Quin		AmiP		Cycl		Tmp-S	
	n	%	n	%	N	%	n	%	n	%	n	%
Résistant	826	24	2 923	84	1 511	44	2 912	84	2 825	82	1 527	44
Sensible	2 637	76	540	16	1 952	56	551	16	638	18	1 936	56

AMC : amoxicilline-acide clavulanique ; CEQ : cefquinome ; XNL : ceftiofur ; CS : colistine ; ENR : enrofloxacin ; FFC : florfenicol ; GM : gentamicine ; S : streptomycine ; Quin : quinolones ; AmiP : aminopénicillines ; Cycl : cyclines ; Tmp-S : triméthoprime-sulfamides ; Résistant : phénotypes Résistant ou Intermédiaire ; Sensible : phénotype Sensible

Figure 1

Plan factoriel de l'ACM sur neuf antibiotiques ou groupes d'antibiotiques testés sur des souches d'*E. coli* isolées de bovins entre 2002 et 2005 dans le Resapath



AMC : amoxicilline-acide clavulanique ; CEQ : cefquinome ; XNL : ceftiofur ; CS : colistine ; ENR : enrofloxacin ; FFC : florfenicol ; GM : gentamicine ; S : streptomycine ; Quin : quinolones ; AmiP : aminopénicillines ; Cycl : cyclines ; Tmp-S : triméthoprime-sulfamides ; S : Sensibles ; R : Résistants (exemple : FFC.R est la modalité « Résistant » de la variable florfenicol)

3. CAH

Afin de pouvoir comparer les résultats de la CAH avec ceux de l'ACM, la cefquinome, le ceftiofur et la colistine n'ont pas été retenus dans l'analyse. Le coefficient d'agglomération le plus élevé parmi tous les critères d'agrégation testés, est obtenu en utilisant le critère de Ward. La valeur de ce coefficient, 0,58, indique que l'arbre est moyennement structuré (figure 2).

L'examen de l'histogramme des indices croissants de niveau (figure 3) suggère une coupure de l'arbre en quatre classes regroupant les antibiotiques ou groupes d'antibiotiques suivants :

- aminopénicillines - amoxicilline-acide clavulanique - streptomycine - cyclines ;
- enrofloxacin - quinolones - triméthoprime-sulfamides ;

- florfénicol ;
- gentamicine.

Sur le plan exploratoire, les associations d'au moins deux résistances étaient recherchées. Ainsi, le groupe supplémentaire florfénicol - gentamicine est considéré ; ces deux antibiotiques sont en effet plus proches l'un de l'autre que des autres antibiotiques.

Au final, trois classes sont donc retenues :

- Classe 1 : aminopénicillines - amoxicilline-acide clavulanique - streptomycine - cyclines ;
- Classe 2 : enrofloxacin - quinolones - triméthoprime-sulfamides ;
- Classe 3 : florfénicol - gentamicine.

Figure 2

Dendrogramme (établi à l'aide de l'indice de similarité de Sorensen et du critère d'agrégation de Ward) représentant le classement de neuf antibiotiques ou groupes d'antibiotiques pour des souches d'*E. coli* isolées de bovins entre 2002 et 2005 dans le Resapath

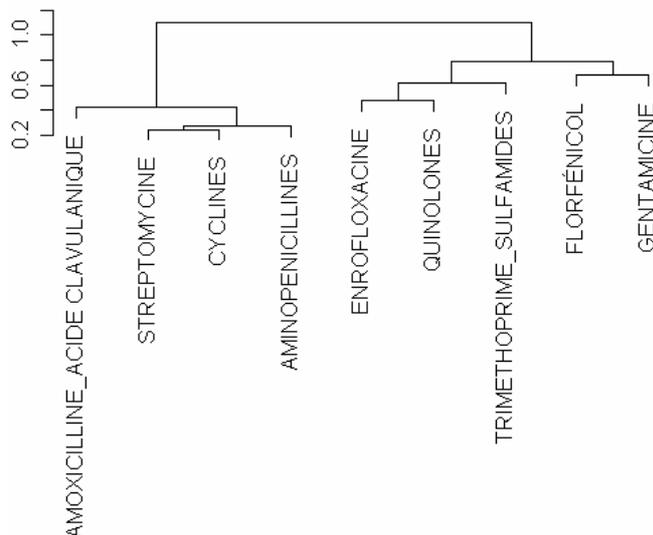
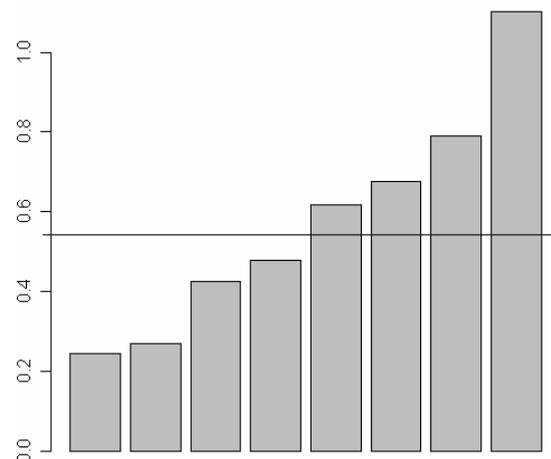


Figure 3

Histogramme des indices croissants de niveau issus de la CAH présentée en figure 2. La ligne horizontale représente la coupure en quatre classes du dendrogramme



4. MODELE LOG-LINEAIRE

Trois modèles log-linéaires ont été créés à partir des associations mises en évidence par la CAH.

Le modèle hiérarchique sélectionné pour expliquer les variations temporelles au sein de la classe 1 est le suivant :

Modèle 1 :

[AMC*S*AmiP, AMC*S*Cycl, S*Cycl*période, AmiP*Cycl*période]

L'ajustement du modèle est satisfaisant avec une déviance de 14,58 pour 13 degrés de liberté (ddl) ($p=0,33$).

La force d'association entre la streptomycine et les cyclines diminue entre les deux périodes de temps étudiées ($p=0,01$). L'interaction AMC*S*Cycl amène à considérer l'odds-ratio entre la streptomycine et les cyclines pour chaque modalité de l'amoxicilline-acide clavulanique (tableau 2) : l'odds-ratio varie de 38,8 à 18,4 pour la modalité S de l'amoxicilline-acide clavulanique et de 17,6 à 8,3 pour la modalité R.

La force d'association entre les cyclines et les aminopénicillines augmente ($p=0,02$) : l'odds-ratio vaut 3,6 en 2002-2003 et 6,6 en 2004-2005.

Les forces d'association entre l'amoxicilline-acide clavulanique et les aminopénicillines, entre l'amoxicilline-acide clavulanique et la streptomycine, entre l'amoxicilline-acide clavulanique et les cyclines, entre les aminopénicillines et la streptomycine ne sont

pas significativement différentes entre les deux périodes.

Le modèle sélectionné pour la classe 2 s'écrit:

Modèle 2 :

[Quin*ENR*Tmp-S, Quin*ENR*période, Quin*Tmp-S*période]

Sa déviance vaut 0,12 pour 2 ddl, l'ajustement est donc satisfaisant ($p=0,94$).

La force d'association entre les quinolones et l'enrofloxacin augmente entre les deux périodes ($p=0,01$) quel que soit le statut (S ou R) du groupe triméthoprime-sulfamides.

A l'inverse, la force d'association entre les quinolones et les triméthoprime-sulfamides diminue ($p=0,04$) quel que soit le profil de résistance (R ou S) de l'enrofloxacin.

La force d'association entre l'enrofloxacin et les triméthoprime-sulfamides n'est pas significativement différente entre les deux périodes.

Le modèle sélectionné pour la classe 3 correspond au modèle saturé, il est donc parfaitement ajusté.

Modèle 3 :

[FFC*GM*période]

L'association entre le florfenicol et la gentamicine diminue entre les deux périodes de temps ($p=0,02$) : l'odds-ratio a varié de 11,5 en 2002-2003 à 7,3 en 2004-2005.

IV - DISCUSSION

L'objectif de l'étude était d'identifier les résistances associées chez des souches d'*E.coli* isolées de bovins et de déterminer si ces associations évoluaient dans le temps. Le premier aspect a été traité par deux méthodes descriptives : l'ACM et la CAH. L'évolution dans le temps a été abordée par le modèle log-linéaire.

1. LES DONNEES

Les laboratoires à l'origine de l'envoi des données au Resapath utilisent, pour leur méthode de détermination des diamètres d'inhibition, un référentiel CA-SFM/AFNOR (Comité antibiogramme de la Société Française de microbiologie), ou CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) et participent régulièrement à des essais interlaboratoires. La qualité des données du réseau est jugée satisfaisante pour la conduite d'une telle analyse.

Tableau 2

Evolution entre les périodes 2002-2003 et 2004-2005 des odds-ratio (OR) et intervalles de confiance à 95% (IC 95%) pour les interactions significatives entre deux antibiotiques ajustées sur les autres variables, sur des souches d'*E. coli* isolées de bovins dans le Resapath

Interactions d'ordre 2	Modalités d'un 3 ^{ème} antibiotique	2002-2003		2004-2005	
		OR	IC 95%	OR	IC 95%
S/Cycl	AMC=S	38,8	[23,2 ; 64,8]	18,4	[12,0 ; 28,1]
	AMC=R	17,6	[10,2 ; 30,2]	8,3	[5,2 ; 13,4]
AmiP/Cycl	-	3,6	[2,3 ; 5,8]	6,6	[4,4 ; 0,8]
Quin/ENR	Tmp-S=S	37,9	[17,6 ; 82,0]	136,0	[54,6 ; 338,5]
	Tmp-S=R	145,6	[58,4 ; 363,3]	521,7	[184,4 ; 147,5]
Quin/Tmp-S	ENR=S	2,6	[1,9 ; 3,3]	1,8	[1,4 ; 2,3]
	ENR=R	9,8	[3,5 ; 27,8]	7,0	[2,4 ; 19,8]
FFC/GM	-	11,5	[8,5 ; 15,6]	7,3	[5,8 ; 9,3]

AMC : amoxicilline-acide clavulanique ; CEQ : cefquinome ; XNL : ceftiofur ; CS : colistine ; ENR : enrofloxacin ; FFC : florfenicol ; GM : gentamicine ; S : streptomycine ; Quin : quinolones ; AmiP : aminopénicillines ; Cycl : cyclines ; Tmp-S : triméthoprime-sulfamides ; R : phénotypes Résistant ou Intermédiaire ; S : phénotype Sensible

Lors de la sélection des données, les modalités I et R ont été regroupées en une même modalité R. La proportion des bactéries présentant une diminution de sensibilité (phénotype Intermédiaire) était très faible pour tous les antibiotiques étudiés sauf pour l'association amoxicilline-acide clavulanique. Cette distribution des données ne permettait pas de réaliser une ACM sur les trois modalités de comportement vis-à-vis des antibiotiques ; des regroupements de modalités étaient donc nécessaires.

La proportion de bactéries présentant une diminution de sensibilité est importante en ce qui concerne l'association amoxicilline-acide clavulanique : elle représente 30,4% du nombre de bactéries testées. Ce nombre élevé n'est pas pour autant source de biais du fait du regroupement des modalités I et R : l'amoxicilline est une beta-lactamine et l'acide clavulanique lorsqu'il lui est associé permet d'inhiber l'action des beta-lactamases, enzymes conférant à la bactérie la résistance aux beta-lactamines. Il existe différents groupes de beta-lactamases : ainsi, lorsque l'on détecte une bactérie résistante ou présentant une diminution de sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique, cela signifie que la bactérie produit une beta-lactamase qui est peu ou non inhibée par l'acide clavulanique [AFSSA, 2005]. Cette enzyme peut être une beta-lactamase

résistante à l'acide clavulanique (TRI) ou bien une pénicillinase produite à haut niveau. Pour connaître le phénotype exact, il faudrait cependant analyser les autres classes de beta-lactamines.

Les deux modalités (R ou I) ont donc la même signification et celle-ci est différente de la troisième modalité S, qui signifie alors que l'enzyme est produite à bas niveau et qu'elle est inhibée par l'acide clavulanique. Il n'y aurait pas eu de signification biologique à regrouper les modalités I et S dans le cas de cet antibiotique.

Pour les huit autres antibiotiques ou groupes d'antibiotiques étudiés, la proportion de la modalité I variait de 0 à 5,2% : il n'aurait donc pas été possible d'étudier cette modalité en tant que telle. Ainsi, grouper les modalités I et R semblait le plus pertinent au plan biologique et ne devait *a priori* pas engendrer de biais dans l'analyse des données.

Dans cette étude, une autre source de biais a été identifiée : la moitié des bactéries de la base de données n'a pas été prise en compte du fait du grand nombre de valeurs manquantes. Il était en effet nécessaire de ne conserver que les bactéries sur lesquelles tous les antibiotiques retenus avait été testés simultanément. Cette solution ne constitue pas une perte d'information lorsque le nombre d'individus est très grand et les valeurs

manquantes rares [Escofier *et al.*, 1998] ; l'étude portait ici sur un grand nombre de bactéries mais le nombre de valeurs manquantes était relativement élevé. Cependant, les données étaient représentatives des données de départ car les proportions de résistance, pour chacun des antibiotiques testés, étaient proches entre les bactéries, avec ou sans valeurs manquantes. Le biais représenté par la non prise en compte des bactéries avec valeurs manquantes est donc probablement de faible impact sur les résultats présentés.

2. LES METHODES

Face à de très grands tableaux de données, il est indispensable de disposer d'une vue d'ensemble de l'information. De ce point de vue, les méthodes factorielles sont les techniques exploratoires les mieux adaptées [Lebart *et al.*, 2006].

L'ACM est une méthode factorielle descriptive apportant une représentation graphique des données donc facilement interprétable [Lebart *et al.*, 2006] ; elle n'est pas limitée dans le nombre de variables à inclure et ne nécessite pas d'hypothèses préalables sur les liaisons. Cependant, les représentations graphiques issues des méthodes factorielles présentent certains inconvénients comme la difficulté d'interprétation des axes au-delà d'un plan principal, la compression excessive et la déformation de la réalité ou encore le manque de robustesse dû à des points profils aberrants. Ces inconvénients n'ont pas été rencontrés dans cette étude puisque 98,83% de l'information de départ est restituée et que les antibiotiques à modalités peu fréquentes ont été exclus de l'analyse. Au final, cette méthode a permis l'identification de trois groupes d'associations de résistances parmi les autres antibiotiques ou groupes d'antibiotiques : l'un est composé des antibiotiques florfenicol, gentamicine et enrofloxacin ; un autre, des groupes d'antibiotiques quinolones et triméthoprime-sulfamides ; un troisième, des antibiotiques ou groupes d'antibiotiques cyclines, streptomycine, aminopénicillines et amoxicilline-acide clavulanique.

Pour remédier aux limites habituelles de l'ACM, une classification menée simultanément permet d'effectuer une analyse sur l'espace tout entier ; les classes prennent en compte la dimension réelle du nuage de points et corrigent donc certaines déformations dues à l'opération de projection. Par ailleurs,

les algorithmes de CAH sont localement robustes au sens où les parties basses des dendrogrammes produits sont indépendantes des éventuels points marginaux isolés [Lebart *et al.*, 2006].

Comme l'ACM, la CAH est une méthode descriptive avec représentation visuelle (le dendrogramme) et donc d'interprétation simple. Elle dépend entièrement du critère d'agrégation et de l'indice de similarité de départ : il est donc indispensable de bien connaître les données et le type de ressemblance que l'on cherche à mettre en évidence entre les objets.

Dans cette étude, le choix de ressemblance portait sur le critère de présence commune de résistance (indice de Sorensen), ce qui a permis d'être plus spécifique que l'ACM par rapport aux objectifs définis. La CAH a été utilisée pour détecter des groupes homogènes d'antibiotiques, c'est-à-dire les antibiotiques pour lesquels la bactérie répond de façon identique (R ou S). Une des limites de la CAH est que les nœuds les plus élevés sont peu représentatifs [Lebart *et al.*, 2006] : le groupe florfenicol - gentamicine est donc le moins probable.

Les résultats de la CAH correspondent à ceux de l'ACM, sauf en ce qui concerne l'enrofloxacin classée ici avec les quinolones et les triméthoprime-sulfamides alors qu'elle était associée au florfenicol et à la gentamicine dans l'ACM.

L'utilisation conjointe de l'ACM et de la CAH était utile pour la compréhension de la structure des données et l'interprétation des résultats. Mais la CAH comme l'ACM sont des méthodes non confirmatoires.

Contrairement aux deux méthodes précédentes, le modèle log-linéaire utilisé en complément est une méthode confirmatoire, mais il ne peut être utilisé que lorsque l'on dispose de peu de variables (4 ou 5) [Morineau *et al.*, 2000]. Il n'a donc pas permis d'évaluer les interactions entre les neuf antibiotiques de départ pour confirmer et quantifier les associations identifiées par les méthodes d'ACM et de CAH. Il est cependant applicable lorsque l'on peut sélectionner un nombre réduit de variables au préalable. Il a été utilisé pour tester si la force d'association entre antibiotiques, issus des groupes identifiés par la CAH, variait entre les deux périodes de temps étudiées.

3. LES ASSOCIATIONS DE RESISTANCES MISES EN EVIDENCE

Au préalable, il faut rappeler une évidence : les associations de résistances ne peuvent être identifiées que sur les antibiotiques ou groupes d'antibiotiques inclus dans l'étude. Il n'est pas exclu que d'autres associations toutes aussi pertinentes soient présentes dans la nature.

Avant d'émettre des hypothèses biologiques sur les associations mises en évidence, les principaux mécanismes de résistances d'*E. coli* aux principales familles d'antibiotiques testées sont rappelés (tableau 3).

3.1. ASSOCIATION AMINOPENICILLINES - AMOXICILLINE-ACIDE CLAVULANIQUE - STREPTOMYCINE - CYCLINES

L'association entre l'amoxicilline-acide clavulanique, la streptomycine, les aminopénicillines et les cyclines a été mise en évidence par les deux méthodes descriptives, avec une forte certitude étant donné que les points sur le plan factoriel sont très rapprochés dans l'ACM et que ce groupe est situé en bas du dendrogramme de la CAH. La proportion de résistances associées pour chaque combinaison d'antibiotiques a par ailleurs été calculée : parmi les neuf antibiotiques retenus, 60,7% des souches d'*E. coli* sélectionnées pour l'étude présentaient une résistance au groupe aminopénicillines – amoxicilline-acide clavulanique - streptomycines - cyclines.

Différentes hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette multirésistance. Elle pourrait résulter d'un mécanisme de résistance non spécifique empêchant la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie ou permettant son expulsion (tableau 3). La pénétration des antibiotiques dans la bactérie se fait au travers de porines, protéines enchâssées dans la membrane. Une mutation dans les gènes codant pour les porines peut cependant entraîner la perte de ces dernières et donc empêcher la pénétration de manière indifférenciée des antibiotiques dans la bactérie. La bactérie peut d'autre part acquérir des gènes de résistance codant pour des pompes d'efflux, système permettant l'expulsion de l'antibiotique hors de la bactérie.

Dans le cas de notre association, le mécanisme de type pompe d'efflux connu qui confère la résistance aux cyclines pourrait également permettre l'expulsion non spécifique des aminopénicillines, de l'amoxicilline-acide clavulanique et de la streptomycine.

Cette association pourrait également s'expliquer par la présence au sein de la bactérie, sur le même élément génétique ou sur des éléments génétiques différents, de gènes de résistance spécifiques à tel ou tel groupe d'antibiotiques.

Ces gènes de résistance peuvent conférer une résistance aux antibiotiques appartenant à la même famille. Ainsi, le regroupement entre les aminopénicillines et l'amoxicilline-acide clavulanique, antibiotiques appartenant à la famille des beta-lactamines s'explique par la présence de beta-lactamases. Les beta-lactamases sont nombreuses et leur comportement vis-à-vis des beta-lactamines diffèrent et a évolué en fonction de l'introduction au cours du temps de nouvelles beta-lactamines. La sensibilité de la bactérie à l'acide clavulanique est un indicateur du type de beta-lactamase présent. L'acide clavulanique étant un inhibiteur de beta-lactamases, son association avec les aminopénicillines, dans notre cas, suggère la présence de beta-lactamases actives sur les aminopénicillines et peu ou non inhibée par l'acide clavulanique. Dans le cas d'une beta-lactamase inhibée par l'acide clavulanique, cette association n'aurait pas été observée.

Les gènes codant pour les beta-lactamases sont pour la plupart localisés sur des plasmides chez *E. coli*. L'association de la résistance aux aminopénicillines et à l'amoxicilline-acide clavulanique avec celles des cyclines pourrait s'expliquer par la présence simultanée, sur des plasmides, de gènes codant pour des beta-lactamases et pour une pompe d'efflux spécifique des cyclines. La résistance à la streptomycine est due soit à une mutation dans l'ARN ribosomique 16S de la bactérie soit à un gène codant pour des enzymes qui empêchent l'action de la streptomycine en inactivant l'antibiotique. La présence d'un gène codant pour des enzymes d'inactivation de la streptomycine sur le même plasmide expliquerait l'association entre les aminopénicillines, l'amoxicilline-acide clavulanique, la streptomycine et les cyclines.

La localisation de ces gènes de résistance sur le même support facilite leur diffusion et la co-résistance. Dans le cas où la résistance à la streptomycine serait due à des mutations dans l'ARN ribosomique 16S, l'association sur le même support serait moins probable. De même, les différents gènes de résistance peuvent être situés sur différents éléments génétiques (plasmide ou chromosome).

Tableau 3
Description des mécanismes de résistances de la bactérie *E. coli* aux principales familles d'antibiotiques testées
(adaptée du tableau de [Chatellet, 2007])

Familles d'antibiotiques	Mécanismes identifiés	Description
beta-lactamines	efflux actif par des transporteurs non spécifiques diminution de la perméabilité membranaire inactivation enzymatique	diminution de l'expresssion, altération ou absence de porines hydrolyse par des beta-lactamases
quinolones/ fluoroquinolones	efflux actif par des transporteurs non spécifiques diminution de la perméabilité membranaire inactivation enzymatique protection de la cible des antibiotiques modification mutationnelle de la cible de l'antibiotique	diminution de l'expresssion, altération ou absence de porines modification chimique des quinolones ou fluoroquinolones production d'une protéine (Qnr) protégeant l'ADN gyrase mutation d'un nucléotide dans une région de l'ADN gyrase ou de la topoisomérase IV
sulfamides	efflux actif par des transporteurs non spécifiques diminution de la perméabilité membranaire remplacement de la cible de l'antibiotique	diminution de l'expresssion, altération ou absence de porines production d'une synthétase résistante de l'acide dihydroptéroïque
triméthoprime	efflux actif par des transporteurs non spécifiques diminution de la perméabilité membranaire remplacement de la cible de l'antibiotique	diminution de l'expresssion, altération ou absence de porines production d'une dihydrofolate réductase résistante
cyclines	efflux actif par des transporteurs spécifiques ou non diminution de la perméabilité membranaire protection de la cible des antibiotiques	diminution de la synthèse des porines protection des ribosomes
aminosides	efflux actif par des transporteurs non spécifiques diminution de la perméabilité membranaire inactivation enzymatique modification mutationnelle de la cible de l'antibiotique	mutation du Lipopolysaccharide (LPS) ou changement de sa charge modification chimique par une acétyl-, adényl- ou une phosphotransférase mutation de l'ARNr 16S ou dans le gène codant pour la protéine ribosomale S12
phénicolés (florfénicol)	efflux actif par des transporteurs spécifiques ou non diminution de la perméabilité membranaire	diminution de l'expresssion, altération ou absence de porines

L'association résulte alors de la juxtaposition des gènes de résistance au sein de la bactérie. Dans ce cas, le risque de co-sélection est moindre.

L'association amoxicilline-acide clavulanique est souvent utilisée en traitements de première intention des entérites néo-natales. L'utilisation fréquente de cet antibiotique peut conduire à une pression de sélection importante vis-à-vis des résistances d'*E. coli* aux aminopénicillines, mais peut également correspondre à la sélection concomitante des résistances aux cyclines et à la streptomycine, notamment si le mécanisme de résistance sous-jacent est commun ou si les gènes de résistances sont proches, sur le même élément génétique, et donc plus facilement transmis simultanément. Une investigation moléculaire plus poussée serait nécessaire pour confirmer ou non l'une de ces hypothèses engendrée par l'analyse de ces données.

La force de l'association entre la streptomycine et les cyclines a significativement diminué entre 2002-2003 et 2004-2005 quel que soit le statut, Sensible ou Résistant, par rapport à l'amoxicilline-acide clavulanique. *A contrario*, la force d'association entre les aminopénicillines et les cyclines a augmenté. Il ne semble pas y avoir de signification biologique particulière à ces variations.

3.2. ASSOCIATION QUINOLONES - ENROFLOXACINE - TRIMETHOPRIME-SULFAMIDES

L'association entre les quinolones et les triméthoprime-sulfamides est retrouvée dans l'ACM et la CAH. Cependant, la position de l'enrofloxacin varie : elle est associée avec le florfenicol et la gentamicine dans l'ACM et avec les quinolones et les triméthoprime-sulfamides dans la CAH.

Les mécanismes de résistance étant identiques pour les quinolones et les fluoroquinolones (enrofloxacin), il est pertinent que ces deux antibiotiques soient associés. En effet, la résistance aux quinolones est principalement due à des mutations sur le chromosome altérant les cibles constituées par l'ADN gyrase et la topoisomérase IV [Quentin, 2006]. Une première mutation sur la sous-unité A de l'ADN gyrase, confère la résistance aux quinolones alors que les fluoroquinolones restent actives. Des mutations additionnelles sur cette même sous-unité et/ou sur les sous-unités B et C de la topoisomérase IV engendrent une résistance

aux fluoroquinolones, à un degré variable suivant les mutations et les molécules.

Par ailleurs, la proportion de résistances associées est de 22,8% pour le groupe enrofloxacin - quinolones - triméthoprime-sulfamides et de 8,66% pour le groupe enrofloxacin - florfenicol - gentamicine. Les données confirment donc qu'il était plus approprié de retenir le groupe composé des quinolones, de l'enrofloxacin et des triméthoprime-sulfamides.

Cette association pourrait s'expliquer par des mécanismes de résistance non spécifiques conférés par une perte de porines ou par une pompe d'efflux. Un système d'efflux de type AcrABToIC permettant l'expulsion des quinolones ou des fluoroquinolones a été décrit chez *E. coli*. Ce système d'efflux pourrait permettre l'expulsion non spécifique des triméthoprime-sulfamides.

L'association entre les quinolones (ou fluoroquinolones) et les triméthoprime-sulfamides peut s'expliquer par la présence sur le chromosome de mutations conférant la résistance aux quinolones (ou fluoroquinolones) et de gènes de résistance aux triméthoprime-sulfamides. Il est également possible que les gènes de résistance aux triméthoprime-sulfamides se trouvent sur un plasmide [Kern *et al.*, 1994] ou même que le gène de résistance aux sulfamides soit sur un élément génétique autre que le gène de résistance au triméthoprime.

La résistance aux sulfamides peut être un indicateur de la présence d'un intégron de classe 1. Un intégron est un élément mobile pouvant être localisé sur le chromosome ou sur le plasmide et qui possède la capacité d'intégrer des gènes de résistance aux antibiotiques. Cet intégron possède au niveau d'une de ses extrémités conservées, un gène de résistance aux sulfamides. Dans le cas de notre association, cet intégron pourrait avoir intégré le gène de résistance au triméthoprime et être alors localisé sur le chromosome à proximité des mutations conférant la résistance aux quinolones (ou fluoroquinolones) ou alors sur un plasmide.

La résistance aux fluoroquinolones était principalement due à une imperméabilité membranaire, à un système d'efflux, et à la présence de mutations dans les cibles. Cependant, récemment, un gène conférant la résistance aux fluoroquinolones a été localisé sur un plasmide [Hopkins *et al.*, 2005]. Ce gène code pour une protéine protégeant l'ADN gyrase de l'action des fluoroquinolones. Sur ce

plasmide, à côté du gène de résistance aux fluoroquinolones, peuvent également se trouver des gènes de résistances à d'autres antibiotiques tels que les sulfamides et le triméthoprimé entraînant un risque de co-sélection de résistances. Dans ce cas, l'utilisation d'antibiotiques tels que les sulfamides et le triméthoprimé pourrait favoriser la diffusion de la résistance plasmidique aux fluoroquinolones et inversement. Cependant, cette résistance plasmidique aux fluoroquinolones est peu décrite en filière animale et est peu vraisemblable pour expliquer cette association.

En ce qui concerne l'évolution au cours du temps, quel que soit le profil de résistance par rapport aux triméthoprimé-sulfamides, la force d'association entre les quinolones et l'enrofloxaciné a augmenté. De plus en plus de bactéries résistantes aux quinolones le sont également à l'enrofloxaciné : la probabilité observée que la bactérie soit résistante à l'enrofloxaciné sachant qu'elle l'est aux quinolones est passée de 0,59 en 2002-2003 à 0,65 en 2004-2005. Les souches résistantes aux fluoroquinolones le sont obligatoirement aux quinolones du fait de la mutation sur la sous-unité A de l'ADN gyrase. L'utilisation persistante des quinolones favorise l'apparition des mutations successives et donc des résistances aux fluoroquinolones.

Aucune hypothèse biologique n'est faite quant à la diminution de la force d'association entre les quinolones et les triméthoprimé-sulfamides entre ces deux périodes de temps.

3.3. ASSOCIATION FLORFENICOL - GENTAMICINE

L'association entre le florfenicol et la gentamicine est retrouvée dans les deux méthodes descriptives mais elle est la moins probable des trois associations détectées car

elle se trouve à des niveaux élevés des indices de niveau du dendrogramme. De plus, une coupure de celui-ci en quatre classes (comme indiqué par l'histogramme des indices croissants de niveau) n'associe pas ces deux antibiotiques.

A notre connaissance, cette association n'a pas été caractérisée moléculairement. Elle peut cependant s'expliquer par un système d'efflux non spécifique permettant l'expulsion des deux antibiotiques, une diminution de la perméabilité membranaire ou si les deux gènes de résistance se trouvent sur le même élément génétique ou sur des éléments différents.

L'étude des données a montré que la proportion de résistances d'*E. coli* à la gentamicine était de 24%, celle au florfenicol de 19% et la proportion de résistances associées à ces deux antibiotiques de 11,6%. Elle était donc moins fréquente que les deux associations précédentes sans pour autant être négligeable.

Contrairement au florfenicol, la gentamicine est utilisée dans les traitements des entérites néonatales. S'il existait une proximité entre éléments génétiques codant pour la résistance à la gentamicine et au florfenicol, la proportion de résistance d'*E. coli* au florfenicol pourrait trouver une explication via la pression de sélection exercée par l'utilisation de la gentamicine.

La force d'association entre ces deux antibiotiques a diminué entre les deux périodes de temps. La probabilité observée qu'une bactérie soit résistante à la gentamicine sachant qu'elle l'était au florfenicol a variée de 0,67 en 2002-2003 à 0,57 en 2004-2005. Aucune hypothèse biologique n'a pu être émise quant à la diminution de cette association.

V - CONCLUSION

L'étude des résistances associées chez des souches d'*E. coli* isolées de bovins par les méthodes d'ACM et de CAH a permis d'identifier trois groupes de résistances associées. Le modèle log-linéaire a ensuite permis d'analyser l'évolution des associations de résistances entre antibiotiques deux à deux entre 2002-2003 et 2004-2005.

L'utilisation du modèle log-linéaire ouvre des perspectives d'étude de l'évolution de ces associations sur une plus longue période, de manière à préciser le caractère croissant ou non des phénomènes de multirésistance.

Les associations identifiées permettent de formuler des hypothèses qui peuvent être

vérifiées au niveau bactériologique. Il sera notamment nécessaire de vérifier d'où proviennent les associations de résistances identifiées parmi les antibiotiques les plus utilisés en médecine humaine et vétérinaire, tels que les quinolones, les beta-lactamines et les aminopénicillines. Il sera également possible de rechercher des gènes de résistance associés sur le même élément génétique. La recherche d'intégrons pourrait aussi présenter un intérêt majeur car, s'agissant d'éléments mobiles, ils ont une

capacité élevée de diffusion de multirésistances.

Les résultats obtenus par ce type d'étude peuvent potentiellement être exploités pour l'élaboration de recommandations en terme de traitement à mettre en place face à un premier échec thérapeutique sur une infection à agent bactérien connu. Ce type d'étude mérite donc d'être reconduit sur les données de résistances issues de réseaux ou de plans de surveillance portant sur les bactéries pathogènes ou commensales d'intérêt pour la santé animale ou la santé publique.

BIBLIOGRAPHIE

- AFSSA - Beta-lactamines et Beta-lactamases, Détection au laboratoire des *E. coli* et *Salmonella* producteurs de beta-lactamases, Surveillance de la résistance des *E. coli* et *Salmonella* vis-à-vis des beta-lactamines au Danemark et en France. *Bulletin du RESAPATH*, 2005, **8**, 1-3.
- AFSSA - Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine, 213 pages, Maisons-Alfort, 2006.
- Agresti A. - Categorical data analysis, 559 pages, Wiley, J. & Sons, 1990.
- Berge A.C., Atwill E.R., Sisco W.M. - Assessing antibiotic resistance in fecal *Escherichia coli* in young calves using cluster analysis techniques. *Preventive Veterinary Medicine*, 2003, **61**, 2, 91-102.
- Botrel M.A., Chazel M., Meunier D., Jouy E., Kobisch M., Madec J.Y., Calavas D. - Le Resapath : Analyse critique et propositions d'amélioration. *Epidémiologie et Santé Animale*, 2006, **50**, 157-168.
- Chatellet M.C. - Modalités d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : enquête en Anjou (Thèse pour le doctorat vétérinaire), 224 pages, Faculté de Créteil, 2007.
- DANMAP - Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, foods and humans in Denmark, 100 pages, 2005.
- Escofier B., Pagès J. - Analyses factorielles simples et multiples: Objectifs, méthodes et interprétation, 284 pages, Dunod, 1998.
- FINRES-VET - Finnish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring and Consumption of Antimicrobial Agents, 48 pages, Helsinki, 2004.
- Hopkins K.L., Davies R.H., Threlfall E.J. - Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: recent developments. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2005, **25**, 5, 358-373.
- Kern W.V., Andriof E., Oethinger M., Kern P., Hacker J., Marre R. - Emergence of Fluoroquinolone-Resistant *Escherichia coli* at a Cancer Center. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1994, **38**, 4, 681-687.
- Lebart L., Piron M., Morineau A. - Statistique exploratoire multidimensionnelle : visualisation et inférence en fouilles de données, 464 pages, Dunod, 4e édition, 2006.
- Morineau A., Nakache J.P., Krzyzanowski C. - Le modèle Log-Linéaire et ses applications, 220 pages, Decisia, 2000.
- OIE - Terrestrial Animal Health Code. In: OIE International Standards on Antimicrobial Resistance. Organisation Mondiale de la Santé Animale Paris, 2003, 5-12.
- Quentin C. - Les Bacilles à Gram négatif : l'exemple des entérobactéries. RICAI-SFM, 26ème Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse, Palais des

Congrès de Paris, Porte Maillot, Paris-France, 7-8 décembre 2006

Recommandations 2007, 49 pages, Paris, 2007.

SFM - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Groupe de travail : Antibiogramme Vétérinaire. Recommandations 2007, 10 pages, Paris, 2007.

Wagner B.A., Salman M.D., Dargatz D.A., Morley P.S., Wittum T.E., Keefe T.J. - Factor analysis of minimum-inhibitory concentrations for *Escherichia coli* isolated from feedlot cattle to model relationships among antimicrobial-resistance outcomes. *Preventive Veterinary Medicine*, 2003, **57**, 3, 127-139.

SFM - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

