



Université Claude Bernard



# DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **14 décembre 2021**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **Monsieur ROCHEGÜE Tony**

Titre de la thèse : « *Impact de l'amoxicilline sur le microbiote intestinal et sur les résistances aux antibiotiques chez le veau* »

## Résumé



L'utilisation inadéquate d'antibiotiques chez l'homme et l'animal a contribué à l'accélération de l'émergence et la dissémination de bactéries résistantes aux antibiotiques qui, de nos jours, constituent une menace pour la santé mondiale. Les bactéries porteuses de gènes conférant une résistance aux antibiotiques (DRAs) sont souvent retrouvées au sein du microbiote intestinal (MI) chez les mammifères dès la naissance et font partie intégrante du résistome. Les veaux sont particulièrement préoccupants au sujet des DRAs au sein du MI. Le résistome des veaux est constitué via de multiples sources telles que la mère, le colostrum, la nourriture ou plus généralement l'environnement de la ferme.

Les antibiotiques sont considérés comme des perturbateurs majeurs du MI, notamment en impactant les espèces bactériennes bénéfiques principalement appartenant au phylum des Firmicutes mais également favorisant l'émergence de pathogènes potentiels appartenant souvent au phylum des Protéobactéries. La pression de sélection faite par l'antibiotique joue un rôle majeur dans le développement de bactéries résistantes au sein de l'intestin, ce qui augmente le potentiel de dissémination à d'autres hôtes (humains ou animaux) par voie fécal-oral ou par la chaîne alimentaire. L'amoxicilline est un des antibiotiques les plus utilisés à l'échelle mondiale que ce soit dans la médecine humaine ou vétérinaire. De plus, en médecine vétérinaire, il est recommandé d'utiliser l'amoxicilline avec prudence, mais, en traitement de première intention quand cela est possible. L'effet de cet antibiotique a été recherché dans le MI de multiples hôtes et a mis en évidence l'augmentation de DRAs, conférant ainsi une résistance à l'amoxicilline et affectant la composition du MI.

Malgré l'usage prédominant et le rôle important de l'amoxicilline en médecine vétérinaire, les informations provenant d'études longitudinales analysant l'effet du traitement à base d'amoxicilline

sur le MI manquent. Pour compléter cette absence de connaissance sur le sujet, l'effet de l'amoxicilline a été analysé sur un groupe de veaux résidant dans des fermes commerciales et souffrant d'omphalites via trois axes a été analysé.

Dans un premier temps, des tests de qPCR ciblant les DRAs majoritairement retrouvés au sein des Entérobacterales mais également les gènes codants des intégrases propres aux intégrons (*intI1/2/3*), qui sont considérés comme un index de développement de résistance multiples, ont été designées et validées. Ces tests ont servi à quantifier les DRAs contenus dans les fèces des veaux récoltés avant, à la fin et une semaine après le traitement à base d'amoxicilline. Les taux du gène *bla<sub>TEM</sub>*, responsable de la résistance à l'amoxicilline, ont augmenté à la fin du traitement et ont diminué une semaine après l'arrêt de la thérapie chez les veaux traités tandis que dans le groupe contrôle, *bla<sub>TEM</sub>* a diminué tout au long de l'analyse. D'autres DRAs ont également eu la même dynamique que *bla<sub>TEM</sub>*, tels que *tetA*, conférant résistance à la tétracycline, *strA/B* conférant résistance à la streptomycine, *aph(3')*-*Ia* conférant résistance à la kanamycine, et *intI1* codant pour l'intégrase de classe 1 des intégrons. Ces résultats suggèrent un potentiel rôle de co-sélection de l'amoxicilline à des résistances à d'autres classes d'antibiotiques.

Le traitement à base d'amoxicilline a permis la sélection de souches à Gram-négatif résistantes à l'amoxicilline, principalement représentées par *E. coli*. La culture et l'énumération s'est fait sur gélose contenant de l'amoxicilline ou sans cet antibiotique. La proportion de souches à Gram-négatif résistantes à l'amoxicilline a augmenté après la thérapie chez les veaux traités et a ensuite diminué une semaine après l'arrêt de la thérapie. Cent cinquante-deux isolats ont ensuite été analysés pour leur susceptibilité aux antibiotiques. Leur génome a également été séquence. Globalement, le phylogroupe A a été principalement retrouvé dans la collection (n = 57/152), suivi par le phylogroupe B1 (n = 54/152), le phylogroupe D (n = 38/152) et le B2 (n = 3/152). Les STs les plus retrouvés dans les isolats appartenaient au CC10 (ST10/34/48/167), suivi par le CC23 (ST23 et ST88) et le CC155 (ST56 et ST58). Le gène *bla<sub>TEM1A/B</sub>* a été retrouvé dans toute les souches de *E. coli* résistantes à l'amoxicilline (n = 114/152). Ce gène était souvent associé à l'*IS26* et l'*IS91* mais également retrouvé proche de l'opéron *mer*. *bla<sub>TEM-1</sub>* a également été retrouvé proche de gènes de résistance aux aminosides et à la tétracycline. L'intégron de classe 1 a été retrouvé sous dix variants différents dans la plupart des isolats. Les plasmides les plus fréquemment retrouvés dans les isolats sont du type IncFII, IncFIA-IB et IncQ1. Des isolats génétiquement apparentés ont été mis en évidence chez des veaux résidant dans différentes fermes, la similarité de ces souches augmentant avec la diminution de la distance géographique entre les fermes. Les clones d'*E. coli* ont pu persister dans la même ferme pendant de longues périodes.

Les résultats préliminaires de l'analyse de l'ADN extrait des selles par séquençage au shotgun, ont suggéré une diminution, en fin de traitement, des phylums Firmicutes et Verrucomicrobia, alors que ceux des Bacteroidetes, Actinobactéries et Protéobactéries augmentaient. Une semaine après la fin du traitement, les prévalence des Actinobactéries ont diminué et une légère augmentation de la

prévalence des Firmicutes s'est produite, tandis que les Verrucomicrobia ne sont pas revenus à leur état d'avant traitement.

En intégrant plusieurs axes méthodologiques, notre étude ouvre la voie à la compréhension du rôle de l'amoxicilline dans la composition et les résistances aux sein du MI des veaux. Ces approches combinées sont nécessaires à la compréhension de l'effet global de l'antibiothérapie pour améliorer l'utilisation des antibiotiques et trouver des stratégies pour limiter les conséquences néfastes des antibiothérapies sur la santé de l'hôte et pour contrer la sélection des DRAs dans l'intestin.

Keywords : *E. coli*, *bla*<sub>TEM-1</sub>, qPCR, *intI1*, *tetA*, *strA*, *strB*, *aph(3')-Ia* , IncFII, IncQ1, shotgun, injection intra-musculaire.