

**Université de Montréal**

**Étude épidémiologique de la résistance de *Salmonella* Dublin,  
*Campylobacter* spp et *Escherichia coli* et l'usage des  
antimicrobiens chez les veaux de lait du Québec**

Par Eyaba TCHAMDJA

Département de pathologie et microbiologie

Faculté de médecine vétérinaire

Mémoire présenté à la Faculté de médecine vétérinaire  
en vue de l'obtention du grade de *Maître ès sciences* (M. Sc.)  
en sciences vétérinaires option épidémiologie

Décembre 2018

© Eyaba Tchamdja, 2018

Université de Montréal  
Faculté de médecine vétérinaire

Ce mémoire intitulé  
Etude épidémiologique de la résistance de *Salmonella* Dublin,  
*Campylobacter* spp et *Escherichia coli* et l'usage des antimicrobiens  
chez les veaux de lait du Québec

Présenté par  
Eyaba TCHAMDJA

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Dre Cécile Aenishaenslin, présidente-rapporteuse

Pre Julie Arsenault, directrice de recherche

Dre Patricia Turgeon, codirectrice

Pr John M. Fairbrother, membre du jury

## Résumé

La résistance aux antimicrobiens est de nos jours une préoccupation mondiale, affectant également le Québec et le Canada. Les productions animales en général, incluant les bovins, participent à ce problème complexe à travers l'usage des antimicrobiens. L'hypothèse de cette étude était que les élevages de veaux de lait constituent une source de *Salmonella* Dublin, *Campylobacter* spp et *Escherichia coli* résistants aux antimicrobiens au Québec. L'étude a été réalisée d'août 2016 à octobre 2017 à partir des échantillons de contenu de caecum prélevés sur les animaux abattus dans deux abattoirs sous inspection fédérale au Québec.

Dans un premier temps, la prévalence et les profils de résistance aux antimicrobiens des trois bactéries ont été évalués. Les résultats ont montré chez les trois bactéries des multirésistances dont certains antimicrobiens, comme l'amoxicilline-acide clavulanique, la ceftriaxone et la ciprofloxacine, sont de haute importance pour la santé humaine.

Par la suite, l'association entre l'usage des antimicrobiens dans les élevages et la résistance chez *E. coli* a également été étudiée. L'usage des polypeptides (bacitracine) était significativement associé à la diminution de la résistance à l'ampicilline et la tétracycline.

Enfin, d'autres facteurs de risque associés à la présence dans les lots de veaux d'isolats d'*E. coli* multirésistants ont été étudiés. Les résultats ont montré que la taille des lots (les lots de petite taille) était un facteur de risque de multirésistance pour *E. coli*.

Les résultats obtenus à partir de cette étude devraient contribuer à orienter les mesures de prévention et de contrôle de la résistance aux antimicrobiens chez les veaux de lait par les décideurs gouvernementaux et de l'industrie du veau de lait.

**Mots clés :** Résistance aux antimicrobiens; *Salmonella* Dublin; *Campylobacter* spp; *Escherichia coli*; usage des antimicrobiens; facteurs de risque; multirésistance; antibiotiques; antibiorésistance; veaux de lait; Québec.

## Summary

Antimicrobial resistance is now a global concern as well as in Canada and Quebec. Animal production in general, including cattle, contributes to this complex problem through antimicrobial drug use. The hypothesis of this study was that milk-fed veal calves are a source of *Salmonella* Dublin, *Campylobacter* spp and *Escherichia coli* resistant to antimicrobials in Quebec. The study was conducted from August 2016 to October 2017 using samples of caecal contents collected from animals slaughtered in two federal inspection abattoirs in Quebec.

Firstly, the antimicrobial resistance prevalence and patterns of the three bacteria were evaluated. The results showed multidrug resistance in the three bacteria. Some of the antimicrobial drugs concerned, such as amoxicillin-clavulanic acid, ceftriaxone and ciprofloxacin, are of high importance for human health.

Next, the association between antimicrobial use in calf batches and resistance in *E. coli* was studied. The use of polypeptides (bacitracin) was significantly associated with a decrease in resistance to ampicillin and tetracycline.

Finally, other risk factors associated with the presence of multidrug-resistant *E. coli* in calf batches were studied. The results showed that the batch size (small batches) was a risk factor for multidrug resistance in *E. coli*.

The results obtained from this study should help to guide government and milk-fed veal industry decision-makers in setting up measures for the prevention and control of antimicrobial resistance in milk-fed veal calves.

**Keywords:** Antimicrobial resistance; *Salmonella* Dublin; *Campylobacter* spp; *Escherichia coli*; milk-fed veal calves; risk factors; multidrug resistance; Quebec.

## Table des matières

Résumé .....	iii
Summary.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	viii
Liste des figures .....	ix
Liste des sigles et abréviations .....	x
Dédicace .....	xii
Remerciements.....	xiii
Introduction .....	1
Objectifs de l'étude .....	3
Hypothèse de recherche.....	3
I. Recension de la littérature .....	4
1 Production du veau de lait au Québec .....	4
1.1 Gestion d'élevage.....	4
1.2 Importance économique .....	4
2 Principaux agent bactériens entériques zoonotiques du veau de lait et d'autres bovins ....	5
2.1 <i>Salmonella</i> spp.....	5
2.1.1 Caractéristiques de la bactérie.....	5
2.1.2 Épidémiologie chez les bovins.....	6
2.1.3 Importance des bovins comme source d'infection humaine.....	19
2.1.4 Importance en santé publique .....	19
2.2 <i>Campylobacter</i> spp .....	20
2.2.1 Caractéristique de la bactérie .....	20
2.2.2 Épidémiologie chez les bovins.....	21
2.2.3 Importance des bovins comme source d'infection humaine.....	26
2.2.4 Importance en santé publique .....	26

2.3	<i>Escherichia coli</i> générique .....	27
3	Résistance aux antimicrobiens .....	28
3.1	Définition.....	28
3.2	Résistance innée.....	30
3.3	Résistance acquise .....	31
3.3.1	Résistance acquise par mutation chromosomique.....	31
3.3.2	Résistance acquise par transfert d'éléments génétiques mobiles.....	31
3.4	Evolution et persistance des résistances acquises.....	32
3.5	Résistances aux antimicrobiens chez les animaux et leur impact pour la santé publique, la santé animale et l'environnement.....	34
3.5.1	Utilisation des antimicrobiens chez les animaux et développement des résistances	34
3.5.2	Conséquences du développement des résistances sur la santé humaine, la santé et les productions animales et l'environnement.....	35
3.6	Interrelations entre la résistance antimicrobienne chez l'humain, l'animal et l'environnement.....	40
3.7	Prévalence des résistances aux antimicrobiens des principaux agents bactériens entériques zoonotiques du veau de lait et autres bovins au Québec, Canada et ailleurs .....	40
3.7.1	Résistance de <i>Salmonella</i> spp .....	46
3.7.2	Résistance de <i>Campylobacter</i> spp.....	49
3.7.3	Résistance d' <i>E. coli</i> générique .....	52
4	Facteurs de risque de développement et de dissémination de la résistance aux antimicrobiens des bactéries entériques zoonotiques chez les veaux de lait.....	55
4.1	Usage d'antimicrobiens.....	55
4.2	Facteurs favorisants.....	57
II.	Article scientifique .....	59
	Prevalence and risk factors for antimicrobial resistance in <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> Dublin and <i>Campylobacter</i> spp in milk-fed veal calves from Quebec, Canada.....	60

Abstract .....	61
Introduction .....	62
1. Materials and methods.....	64
1.1. Sample collection and bacterial isolation.....	64
1.2. Antimicrobial susceptibility testing .....	65
1.3. Data collection on antimicrobial drug use and farm management practices.....	66
1.4. Data analysis.....	66
2. Results .....	68
2.1. Bacterial isolates .....	68
2.2. Antimicrobial susceptibility .....	69
2.3. Antimicrobial drug use and antimicrobial resistance in <i>E. coli</i> .....	70
2.4. Risk factors associated with multidrug resistance in <i>E. coli</i> .....	71
3. Discussion.....	71
3.1. Prevalence and patterns of AMR in <i>E. coli</i> , <i>S. Dublin</i> , and <i>Campylobacter</i> spp .....	71
3.2. Association between antimicrobial drug use and AMR in <i>E. coli</i> .....	74
Conclusion.....	76
Acknowledgment .....	76
Declaration of interest .....	77
Ethical statement.....	77
References .....	77
List of figures.....	85
List of tables .....	88
Supplementary material.....	103
III. Discussion générale.....	110
Conclusion.....	115
Références bibliographiques.....	117
Annexes : distributions des données des variables catégorisées .....	xiv

## Liste des tableaux

Tableau I. Prévalence de bovins positifs pour <i>Salmonella</i> spp au Canada, É.-U. et Danemark	8
Tableau II. Facteurs de risque associés aux infections à <i>Salmonella</i> spp chez les bovins	12
Tableau III. Prévalence de <i>Campylobacter</i> spp chez les bovins au Canada	22
Tableau V. Bactéries entériques zoonotiques et commensales prioritaires sous surveillance de la résistance aux antimicrobiens par le PICRA au Canada (adapté de (140))	41
Tableau VI. Prévalence de résistance aux antimicrobiens de <i>Salmonella</i> chez les bovins au Canada et aux États-Unis	47
Tableau VII. Prévalence de résistance aux antimicrobiens de <i>Campylobacter</i> spp chez les bovins au Canada et aux États-Unis	50
Tableau VIII. Prévalence de résistance aux antimicrobiens de <i>E. coli</i> générique chez les bovins au Canada et aux États-Unis	53
Table 1. Prevalence of antimicrobial resistance of <i>E. coli</i> , <i>Salmonella Dublin</i> and <i>Campylobacter</i> in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017	89
Table 2. Antimicrobial drug use in milk-fed veal calves batches from Quebec, Canada, 2016-2017	90
Table 3. Association between antimicrobial drug use and antimicrobial resistance in <i>E. coli</i> in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017	94
Table 4. Potential risk factors associated with five classes or more multidrug resistance in <i>E. coli</i> in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017	99
Table S 1. Pattern of AMR of <i>E. coli</i> in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017	105
Table S 2. Pattern of AMR of <i>Salmonella Dublin</i> from caecal content in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017	108
Table S 3. Pattern of AMR of <i>Campylobacter</i> spp in milk-fed veal calves of Quebec Canada, 2016-2017	109

## Liste des figures

Figure 1. Facteurs de risque de développement et propagation de la résistance aux antimicrobiens des bactéries entériques zoonotiques chez le veau de lait (adaptée de (138))	59
Figure 2. Individual antimicrobial drug resistance prevalence in <i>E. coli</i> isolated from caecal contents in milk-fed veal calves from Quebec .....	86
Figure 3. Individual antimicrobial resistance prevalence in <i>Salmonella Dublin</i> isolated from caecal contents in milk-fed veal calves from Quebec .....	87
Figure 4. Individual antimicrobial drug resistance prevalence in <i>Campylobacter spp</i> isolated from caecal contents in milk-fed veal calves from Quebec .....	88
Figure S 1. Directed acyclic graph (DAG) for potential risk factors associated with multidrug resistance in <i>E. coli</i> in milk-veal calves from Quebec at batch level (constructed online with Dagitty v2.3) (Textor et al., 2011) .....	103

## Liste des sigles et abréviations

ADD : *Animal Daily Dose* (dose quotidienne recommandée pour traiter un kilogramme de poids vif)

ADN : Acide désoxyribonucléique

AGISAR : *Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance* (Groupe consultatif sur la surveillance intégrée de la résistance aux antimicrobiens)

ANSES : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (France)

ASPC : Agence de la santé publique du Canada (*PHAC : Public Health Agency of Canada*)

CAD: *Canadian Dollar* (Dollar canadien)

CDC : *Centers for Disease Control and Prevention* (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies)

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CMI : Concentration minimale inhibitrice (*MIC : minimum inhibitory concentration*)

CRSV : Chaire de recherche en salubrité des viandes

EHEC : *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (*Escherichia coli* entérohémorragique)

ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay* (test enzymatique par immunoabsorption)

InPEC : *Intestinal pathogenic Escherichia coli* (*Escherichia coli* entéropathogène)

É.-U. : États-Unis d'Amérique

EUCAST: *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* FAO : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

FPBQ : Fédération des Producteurs de Bovins du Québec

g = Gramme

IU : *International unit* (Unité internationale)

kg= Kilogramme

MAPAQ : Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec

MDR : *Multidrug resistance*, (résistance multiple aux antimicrobiens)

mCCDA : *modified charcoal cefoperazone deoxycholate agar* (milieu gélosé modifié au charbon, à la céfoperazone et au désoxycholate)

ml = millilitre

NARMS: *National Antimicrobial Resistance Monitoring System* (système américain de Surveillance de la résistance aux antimicrobiens)

ng/mL: Nanogramme par millilitre

OIE : Organisation mondiale de la santé animale

OMS : Organisation mondiale de la santé

°C: Degré Celsius

PCR : *Polymérase Chain Réaction* (amplification en chaîne par polymérase)

PDR : *Pandrug resistance* (pan-résistance aux antimicrobiens) PICRA : Programme intégré canadien de surveillance aux antimicrobiens

RAM : Résistance aux antimicrobiens (*AMR : Antimicrobial resistance*)

RVS : *Rappaport Vassiliadis Soya*

STEC : *Shiga toxin-producing Escherichia coli* (*Escherichia coli* produisant la shigatoxine)

TBG : *Tetrathionate Brillante Green*

TCV : *Tetrathionate Crystal Violet*

ufc : Unité formant colonie

XDR : *Extensive drug resistance* (résistance extrême aux antimicrobiens)

## **Dédicace**

A mes enfants

Mazabalo Jean Christophe Tchamdja

Essomanda Stanny Tchamdja

Biwèmdéou Cindy Aline Tchamdja

Mana Stephen Tchamdja

Et mon épouse Clémentine

*C'est l'espoir d'une récompense qui adoucit le labeur...*

## Remerciements

A l'issue de ce travail je voudrais remercier :

- Ma directrice de recherche Pre Julie Arsenault pour l'occasion unique qu'elle m'a donnée de pouvoir me spécialiser en épidémiologie et analyse de données à l'université de Montréal. Pre Arsenault, j'ai beaucoup apprécié votre rigueur scientifique, votre recherche constante de travail de qualité mais aussi par la douceur de votre encadrement.
- Ma codirectrice Patricia Turgeon pour son dévouement à la réussite de ce travail. Votre rigueur scientifique et votre promptitude à répondre à mes sollicitations m'ont beaucoup aidé tout le long de cette maîtrise.
- Aux autres membres de mon comité conseil, Philippe Fravalo, Geneviève Côté pour leur contribution à mon encadrement et la qualité scientifique de ce travail;
- L'industrie du veau de lait pour la collaboration sans laquelle cette étude ne pourrait se faire;
- L'Agence de Santé publique du Canada et le MAPAQ pour le financement de l'étude;
- Au groupe de recherche en épidémiologie des zoonoses (GREZOSP) et santé publique pour les bourses dont j'ai été bénéficiaires;
- A la Faculté de médecine vétérinaire de l'université de Montréal pour m'avoir accueilli chaleureusement en son sein pour cette maîtrise.

## Introduction

La résistance aux antimicrobiens (RAM) est devenue au cours de ces dernières décennies une préoccupation de santé publique majeure à l'échelle mondiale. Depuis la découverte de la pénicilline en 1929 et son utilisation dans les années 1940, l'usage des antimicrobiens s'est considérablement accru tant dans le domaine de la santé humaine que dans le domaine de la santé et des productions animales (1, 2). Depuis leur découverte, les antimicrobiens ont servi à traiter et prévenir les infections bactériennes chez les humains et les animaux et aussi comme promoteurs de croissance en productions animales (3). Cet usage généralisé a conduit au développement et à la propagation des résistances avec des conséquences de plus en plus redoutées pour la santé humaine, animale et la sécurité alimentaire (2, 4). Selon la commission O'Neill du Royaume-Uni chargée d'analyser le problème mondial d'augmentation de la RAM, 700 000 personnes meurent annuellement dans le monde du fait de la RAM (5). Les Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estiment pour leur part que chaque année aux États-Unis, au moins deux millions de personnes sont infectées par des bactéries résistantes aux antimicrobiens et au moins 23 000 personnes meurent directement de ces infections (1). Selon la Banque Mondiale, la RAM aura un grand impact sur l'économie mondiale dans une étude simulée pour la période 2017-2050 en prenant en compte les pertes directes et indirectes relatives à la santé humaine et aux productions animales (6). Dans le scénario optimiste de faible impact de la RAM, les pertes simulées pour l'économie mondiale atteindront 2 000 milliards de dollars par an d'ici 2050. Dans le scénario d'impact de RAM élevé, les pertes économiques seront trois fois plus grandes, atteignant les 6 000 milliards de dollars par année d'ici 2050. Au vu de l'importance capitale de la RAM pour la santé humaine, la santé animale et l'économie mondiale, l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) et l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) ont adopté en mai 2015 un plan d'action mondial conjoint pour combattre la RAM (7).

Le rôle des productions animales dans le développement global et la propagation de la RAM est de nos jours encore sujet de discussion (8). Si le passage des gènes de RAM des poulets aux humains a été démontré depuis 1976 par Levy *et al.* chez *Escherichia coli* (9), l'ampleur de la dissémination des gènes de résistance des animaux aux humains restent encore inconnus (2, 3). Certains auteurs pensent que la contribution des gènes de résistance chez les animaux au développement des résistances chez les humains reste marginale. Ce point de vue est supporté par le séquençage des gènes de RAM chez *Salmonella* Typhimurium DT4 en Écosse, montrant

une grande diversité dans les gènes de RAM de *S. Typhimurium* DT4 des humains par rapport à ceux de la même bactérie chez le bétail (10). Même si l'ampleur de la contribution de la RAM chez les animaux dans la RAM chez les humains reste encore inconnue, la certitude demeure sur la possibilité de transmission zoonotique des bactéries (pathogènes ou commensales) résistantes aux antimicrobiens. Dans le contexte des productions animales intensives faisant appel à l'usage de grande quantité d'antimicrobiens soit pour traiter ou prévenir les infections ou pour servir de promoteurs de croissance (2, 3), la possibilité de développement de la RAM chez les entérobactéries zoonotiques des animaux et sa transmission aux humains par la chaîne alimentaire ou par l'environnement doit toujours être considérée selon de principe de précaution pour la santé publique. Ainsi la surveillance épidémiologique chez les animaux des entérobactéries zoonotiques telles que *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp et *E. coli* demeure essentielle comme recommandée par le groupe consultatif sur la surveillance intégrée de la résistance aux antimicrobiens de l'OMS (*Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance*, AGISAR) (11).

Au Canada, la production de viande bovine représente une importante activité économique. En 2014, le Canada se classait au 11<sup>e</sup> rang des producteurs mondiaux de viande bovine faisant du Canada un pays exportateur de viande bovine (12). Parmi les viandes bovines produites se trouve le veau lourd, comprenant le veau de grain et le veau de lait. En 2014, la province du Québec a produit 80,3 % du cheptel du veau lourd canadien avec 134 000 têtes de veau de lait (13). La production du veau lourd se déroule sur mode intensif avec des contraintes sanitaires pouvant entraîner une utilisation importante d'antimicrobiens. Depuis 2011, le Québec connaît l'émergence de souches multirésistantes de *Salmonella* Dublin dans les élevages de veaux et chez les humains (14). Les infections à *S. Dublin* étant récentes au Québec, les données épidémiologiques permettant d'évaluer la dynamique de l'infection et l'étendue de la RAM chez cette bactérie sont insuffisantes. *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp et *E. coli* générique sont des entérobactéries de bovins sous surveillance prioritaire de la RAM par le Programme intégré canadien de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (PICRA) (15). *Campylobacter* spp est l'une des causes importantes de gastroentérites d'origine bactérienne au Canada et dans le monde (16-18). Les *E. coli* génériques retrouvés en permanence dans le tube digestifs des animaux et des humains sont considérées comme un réservoir de gènes de RAM pouvant être transmis aux autres entérobactéries et donc utilisés comme indicateurs de résistance (19). C'est dans le but de collecter des données et d'élargir les connaissances

épidémiologiques sur la RAM de *S. Dublin*, *Campylobacter* spp et *E. coli* chez les veaux de lait du Québec que la présente étude a été entreprise.

## **Objectifs de l'étude**

Ce travail vise principalement à contribuer à enrichir les connaissances épidémiologiques sur les résistances aux antimicrobiens de *S. Dublin*, *Campylobacter* spp et *E. coli* chez les veaux de lait du Québec afin de fournir des données probantes aux décideurs gouvernementaux et de l'industrie du veau de lait pour orienter les mesures de prévention et de contrôle. Les objectifs spécifiques sont :

- Estimer la prévalence et décrire les profils de résistance aux antimicrobiens pour chacune de ces trois bactéries ;
- Décrire l'usage des antimicrobiens dans les lots de veaux de lait ;
- Étudier l'association entre l'usage des antimicrobiens et la résistance des isolats d'*E. coli*;
- Étudier d'autres facteurs de risque potentiels qui sont peu ou pas investigués dans des études antérieures et associés à la présence dans les élevages d'isolats d'*E. coli* multirésistants.

## **Hypothèse de recherche**

Les objectifs ci-dessus mentionnés sont élaborés dans l'hypothèse que les élevages de veaux de lait constituent une source de *S. Dublin*, *Campylobacter* spp et *E. coli* résistants aux antimicrobiens au Québec.

Le présent mémoire intitulé « **Étude épidémiologique de la résistance de *Salmonella* Dublin, *Campylobacter* spp et *E. coli* et l'usage des antimicrobiens chez les veaux de lait du Québec** » présentera le travail lié aux objectifs énoncés autour de trois parties essentielles. La première partie sera consacrée à une recension des écrits ressortant les connaissances épidémiologiques actuelles sur les résistances aux antimicrobiens de *S. Dublin*, *Campylobacter* spp et *E. coli* chez les bovins au Québec, Canada et ailleurs dans le monde. La seconde partie présentera les profils et la prévalence de la RAM pour ces trois bactéries, ainsi que les facteurs de risques associés à la présence d'*E. coli* résistantes aux antimicrobiens chez les veaux de lait du Québec. En fin une discussion générale des résultats sera abordée dans la troisième partie.

## **I. Recension de la littérature**

### **1 Production du veau de lait au Québec**

#### **1.1 Gestion d'élevage**

La production du veau de lait fait partie de production de viande bovine dite production de « veaux lourds », comprenant les veaux de lait et les veaux de grain. Les veaux lourds sont souvent des veaux mâles de sept à dix jours d'âge achetés sur les marchés publics d'animaux vivants (encans) et regroupés pour être élevés sur une période d'environ 20 semaines (20). Les veaux de lait sont nourris pendant toute la période de production exclusivement avec de l'alimentation lactée et une quantité limitée d'aliment fibreux, tandis que les veaux de grains sont quant à eux nourris sur les six à huit premières semaines exclusivement avec de l'aliment lacté et ensuite avec une ration constituée de maïs-grain et d'un supplément protéique jusqu'à la fin de la période de production (13, 20). Au Québec, la principale race exploitée est la Holstein, dont les produits à maturité pèsent environ 210 kg de poids vif pour le veau de lait et 272 kg de poids vif pour le veau de grain. Un élevage type spécialisé produit environ 777 veaux de lait par année (13).

#### **1.2 Importance économique**

En 2014, le Canada se classait au 11<sup>e</sup> rang des producteurs mondiaux de viande bovine avec 2% de la production mondiale totale et une balance commerciale de +1,94 milliards de dollars (CAD), faisant du Canada un pays exportateur de viande bovine (12). Pendant la même année, les Producteurs de Bovins du Québec a estimé que la production québécoise du veau lourd représentait 80,3 % du cheptel du veau lourd canadien avec 134 000 têtes de veau de lait et 70 000 têtes de veau de grain (13). Les veaux lourds produits au Québec proviennent essentiellement du cheptel de vache laitière du Québec. Ils sont élevés dans environ 345 élevages de veaux de grain et 250 élevages de veaux de lait (21). En termes de retombée économique, le circuit du veau lourd génèrait en 2014 pour le Québec une valeur ajoutée de 174 millions de dollars CAD, représentant 49 % des 356 millions de dollars des ventes de l'industrie du bœuf et du veau et 54 emplois par tranche de 10 millions de dollars de vente, soit près de 1922 emplois (21). La production du veau lourd a donc une bonne importance économique pour le Québec.

## 2 Principaux agent bactériens entériques zoonotiques du veau de lait et d'autres bovins

Les principaux agents bactériens entériques zoonotiques présents chez les bovins en général, incluant les veaux, sont *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp et *Escherichia coli* (22-24). Dans cette revue de la littérature, l'aspect zoonotique d'*E. coli* sera décrit brièvement. Par la suite, *E. coli* sera abordé sous l'aspect d'*E. coli* génériques indicateurs de la résistance aux antimicrobiens (25).

### 2.1 *Salmonella* spp

#### 2.1.1 Caractéristiques de la bactérie

##### Espèces

Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif appartenant la famille des *entérobacteriaceae*. *Salmonella* spp regroupe plus de 2500 sérotypes répartis en deux espèces qui sont *S. enterica* (plus de 2400 sérotypes) et *S. bangori* (20 sérotypes) (26). On les retrouve chez une multitude d'hôtes (22). *S. enterica* comprend six sous-espèces dont *S. enterica* subsp *enterica* qui est associée aux infections chez les animaux à sang chaud. Les sous-espèces sont divisées en sérogroupes basés sur les antigènes de la paroi (antigène O). Les sérogroupes ont subdivisés en sérotypes sur la base des antigènes flagellaires (antigène H). Chez les bovins, les salmonelles les plus fréquentes sont *S. enterica* subsp. *enterica* ser. Dublin (*S. Dublin*, hautement adaptée aux bovins adultes et jeunes) et *S. enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium (*S. Typhimurium*) qu'on retrouve plus chez le veau (22). Le sérotype Dublin appartient au séro groupe D tandis que le sérotype Typhimurium appartient au séro groupe B (27). D'autres sérotypes comme *S. Heidelberg* ont également été isolés chez les bovins, comme le cas des veaux de grain en Ontario (28).

##### Survie dans l'environnement

Une étude réalisée au Royaume-Uni a vérifié la survie de *S. Typhimurium* dans des matières fécales de bovin naturellement contaminées d'une part et d'autre part la survie de *S. Typhimurium* et *S. Dublin* dans des matières fécales expérimentalementensemencées à des charges bactériennes variant de  $10^1$  à  $10^4$  unités formant colonie (ufc)/g (29). Les résultats de cette étude ont montré que dans les matières fécales naturellement contaminées, *S. Typhimurium* survivait environ un mois à la température ambiante (médiane :18,5 °C) et deux mois à une température de 4 °C. Dans les matières fécales expérimentalement

ensemencées, en milieu humide et à température ambiante, *S. Typhimurium* survivait trois mois avec la charge  $10^1$  ufc/g et cinq mois avec la charge de  $10^4$  ufc/g. Dans les mêmes conditions, *S. Dublin* survivait moins d'un mois avec la charge  $10^1$  ufc/g et trois mois avec la charge de  $10^4$  ufc/g. Sur des matières fécales desséchées à la température ambiante, *S. Typhimurium* et *S. Dublin* survivaient au moins six mois avec les charges de  $10^1$  à  $10^4$  ufc/g. Selon cette étude réalisée au Royaume-Uni, il existe des différences de survie entre *S. Dublin* et *S. Typhimurium* selon les conditions de l'environnement (29). Ainsi dans les conditions humides, *S. Typhimurium* persistait mieux dans l'environnement que *S. Dublin*, alors que dans les conditions asséchées, les deux bactéries présentaient la même survie. Certains auteurs ont rapporté que *S. Typhimurium* survivait dans les conditions de terrain pendant 231 jours dans le sol à la charge de  $10^7$  ufc/g (30). D'autres auteurs ont rapporté une survie de *S. Typhimurium* pendant 54 jours à 23 °C dans l'eau de puitsensemencée artificiellement à la concentration de  $10^4$  ufc /ml (31). En Suède il a été démontré que *S. Dublin* pouvait survivre 300 jours dans le sol à une charge de  $9,10^6$  ufc/g à une température moyenne de 6,4 °C (32).

### **2.1.2 Épidémiologie chez les bovins**

#### **Prévalence**

Au Canada, une étude en Alberta a estimé la proportion de troupeaux laitiers infectés de *Salmonella* spp à 8% à partir de l'analyse des échantillons fécaux (33). En 2015, une enquête de séroprévalence réalisée par le Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) a révélé que 6,8% des élevages laitiers du Québec avaient au moins un individu positif à *S. Dublin* (34). Des études réalisées aux États-Unis ont estimé une prévalence de vaches laitières excrétrices de *Salmonella* spp de 4,8 à 8,96% à partir d'échantillons fécaux (35, 36). Une autre étude aux États-Unis a trouvé chez les veaux d'élevages laitiers une prévalence fécale d'animaux excréteurs de *Salmonella* spp de 3,8% (37). Selon une étude réalisée au Danemark, la prévalence apparente de troupeaux de veaux lourds excréteurs de *Salmonella* spp dans les matières fécales au moment de l'abattage était de 18,3% selon la culture bactérienne (38). Au niveau animal la prévalence fécale apparente de *Salmonella* spp était de 1,5% avec une prévalence réelle de 1,3%. Dans cette étude *S. Dublin* et *S. Typhimurium* étaient les deux espèces identifiées, *S. Dublin* comptant pour 95% des isolats. Dans une autre étude au Danemark la prévalence fécale intra-troupeau de bovins laitiers positifs pour *S. Dublin* était de 2,5% avec des variations saisonnières allant de 1,1% au printemps et automne à 5,4% en hivers (39).

Dans les produits animaux, une étude réalisée sur les escalopes de veau de grain vendues au détail en Ontario (Canada) a rapporté une prévalence de *Salmonella* spp de 4,1% dont 50% de *S. Typhimurium*, 44,4% de *S. Heidelberg* et 5,6% de *S. Montevideo* (28). En Alberta (Canada) une étude a trouvé une prévalence de *Salmonella* spp de 1,3 % dans de la viande bovine hachée (40).

Le Tableau I ci-dessous donne la prévalence de *Salmonella* au Canada, aux États-Unis (É.-U.) et ailleurs

**Tableau I. Prévalence de bovins positifs pour *Salmonella* spp au Canada, É.-U. et Danemark**

Type de bovin	Age des bovins	Type d'échantillon	Taille d'échantillon (nombre d'unités épidémiologiques)	Unité épidémiologique	Test de diagnostic	Prévalence (%)	Pays et période	Référence
Veaux lourds	6-14 mois	Fèces	1296	Animal	Culture bactérienne	<i>S. Dublin</i> : 1,46 <i>S. Typhimurium</i> : <1	Danemark 2007-2008	(38)
Bovins laitiers	Veaux et adultes	Fèces et tissus	4976	Animal	Culture bactérienne	<i>S. Dublin</i> : 23 <i>S. Cerro</i> : 16 <i>S. Newport</i> : 14 <i>S. Montevideo</i> : 8 <i>S. Kentucky</i> : 8 <i>S. Typhimurium</i> : 4 Autres <i>Salmonella</i> : 27	Wisconsin/ É.-U. 2006-2015	(41)

Type de bovin	Age des bovins	Type d'échantillon	Taille d'échantillon (nombre d'unités épidémiologiques)	Unité épidémiologique	Test de diagnostic	Prévalence (%)	Pays et période	et Référence
Bovins laitiers	Tout âge	Fèces	22417	Animal	Culture bactérienne	<i>Salmonella spp</i> : 4,8	É.-U. 2000-2001	(35)
Bovins laitier	En lactation	Fèces	960	Animal	Culture bactérienne	<i>Salmonella spp</i> : 9,9	É.-U. 2002	(36)
Bovins laitiers	Tout âge	Fèces	50	Troupeau	Culture bactérienne	<i>Salmonella spp</i> : 8	Alberta/Canada 1999	(33)
Bovins laitier	Veaux et adultes	Sérum de veaux Lait de réservoir	de 169 de	Troupeau	Sérologie troupeau séropositif si au moins 1 animal est positif)	(un <i>S. Dublin</i> : 6,8 est au moins 1 animal est positif)	Québec/Canada 2015	(34)

Type de bovin	Age des bovins	Type d'échantillon	Taille d'échantillon (nombre d'unités épidémiologiques)	Unité épidémiologique	Test de diagnostic	Prévalence (%)	Pays et période	et Référence
Vache-veau	Veaux et adultes	Sérum	94	Troupeau	Sérologie troupeau (un troupeau séropositif si au moins 1 animal est positif)	(un S. Dublin : 1 est au est)	Québec/Canada 2016	(42)

## **Facteurs de risque**

Plusieurs facteurs de risque favorisant la présence de *Salmonella* spp chez les bovins, et particulièrement chez le veau, ont été suggérés. Parmi les principaux facteurs identifiés, on peut citer l'hygiène dans les troupeaux, la taille des troupeaux, l'origine des veaux, la gestion des maternités, la gestion des fumiers, les marchés de veaux, les véhicules de transport, le contact des animaux ou de leur aliment avec les rongeurs, le contact avec le fumier de volaille, le contact avec les oiseaux sauvages, et la non-utilisation d'antimicrobiens dans le lactoreplaceur (Tableau II).

**Tableau II. Facteurs de risque associés aux infections à *Salmonella* spp chez les bovins**

Type de bovins	Unité épidémiologique	Facteurs de risque	<i>Salmonella</i> isolées lors de l'étude	Pays et période	Type d'étude	Référence
Veaux lourds	Troupeau	- Achat des animaux provenant de troupeaux non classifiés comme à faible risque de <i>Salmonella</i>	<i>S. Dublin</i> <i>S. Typhimurium</i>	Danemark 2007-2008	Transversale	(38)
Bovins laitiers (veaux)	Animal	- Situation géographique de la ferme (Etat d'origine de la ferme)  -Non-utilisation d'antimicrobiens dans le lactoreplaceur  - Utilisation des maternités comme salles d'isolement des malades  - Proportion de vaches infectées dans le troupeau	<i>Salmonella</i> spp	É.-U. 2000-2001	Transversale répétée	(37)

Type de bovins	Unité épidémiologique	Facteurs de risque	<i>Salmonella</i> isolées lors de l'étude	Pays et période	Type d'étude	Référence
Tous	Troupeau	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nombre de vaches adultes dans le troupeau</li> <li>- Fumier de volaille épandu en bordure des élevages de bovins</li> <li>- Signes de présence des rongeurs dans l'habitat ou dans l'aire stockage des aliments</li> <li>- Contact des oies sauvages avec les bovins ou leur aliment</li> </ul>	Six sérotypes dont <i>S. Dublin</i> et <i>S. Typhimurium</i>	É.-U. 1994-1995	Cas-témoins	(43)

Type de bovins	Unité épidémiologique	Facteurs de risque	<i>Salmonella</i> isolées lors de l'étude	Pays et période	Type d'étude	Référence
Bovins laitiers (Adulte)	Animal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Vache dans les 14 jours suivant la mise-bas</li> <li>- Vache dans les 14 jours précédant la réforme</li> <li>- Animaux désignés malades par les éleveurs</li> <li>- Taille de la ferme (<math>\geq 100</math> animaux)</li> <li>- Saison (par rapport à l'hiver) : été&gt;automne&gt;printemps</li> <li>- Etat où est située de la ferme</li> </ul>	<i>Salmonella</i> spp	É.-U. 2000-2001	Transversale répétée	(44)

Type de bovins	Unité épidémiologique	Facteurs de risque	<i>Salmonella</i> isolées lors de l'étude	Pays et période	Type d'étude	Référence
Bovins laitiers	Animal	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stabulation libre</li> <li>- Ne pas stocker les concentrés et les aliments protéiques dans un bâtiment fermé</li> <li>- Non-utilisation du monensin dans la diète des veaux sevrés ou des génisses</li> <li>- Accès des vaches aux eaux de surfaces</li> <li>- Élimination du fumier sous forme liquide sur les terres de la ferme</li> <li>- Vaches mangeant du fourrage dans les champs où le fumier a été appliqué sans labour la même saison</li> <li>- Saison</li> </ul>	<i>Salmonella</i> spp	É.-U. 2000-2001	Transversale répétée	(45)

Type de bovins	Unité épidémiologique	Facteurs de risque	<i>Salmonella</i> isolées lors de l'étude	Pays et période	Type d'étude	Référence
	- Marchés de veaux	- Contamination des marchés de veaux	Marché : 9 sérotypes dont <i>S. Typhimurium</i> .	Royaume-Uni	Transversale (descriptive)	(46)
Veau	- Véhicules de transport	- Contamination véhicules de transport des veaux	Véhicules : 12 sérotypes dont <i>S. Dublin</i> et <i>S. Typhimurium</i>			

## **Signes cliniques**

La salmonellose clinique chez les bovins en Amérique du Nord est principalement causée par *S. Dublin* et *S. Typhimurium* (22, 27). Les veaux sont plus sensibles que les adultes (22).

La maladie débute par une forte fièvre suivie d'une entérite. *S. Typhimurium* cause une diarrhée contenant du mucus, parfois teintée de sang, et associée à une entérite nécrotique. En plus de l'entérite semblable à celle de *S. Typhimurium*, *S. Dublin* peut causer chez le veaux des infections systémiques résultant à une pneumonie, une polyarthrite ou une méningoencéphalite (47). Suite à l'infection, certains animaux peuvent devenir des porteurs chroniques continuant d'excréter les bactéries dans les fèces pendant plus de 270 jours (48, 49).

## **Diagnostic**

Le diagnostic de l'infection à *Salmonella* spp chez les bovins peut se faire à travers l'identification de la bactérie par culture bactériologique (49, 50) ou par la PCR (49, 51), et par sérologie pour la détection d'anticorps témoins de l'infection (49, 50).

### **• Identification de la bactérie**

Selon la pathogénie de la bactérie et sa dissémination dans l'organisme de l'hôte, la plupart des tissus peuvent être utilisés pour le diagnostic de laboratoire de *Salmonella* spp chez les bovins. Les spécimens recommandés pour l'identification de la bactérie sont : les matières fécales, le foie, les nœuds lymphatiques, la rate, les muscles (49, 50).

#### **- Culture bactérienne**

C'est la méthode conventionnelle pour l'isolement et l'identification de *Salmonella* spp. La culture bactérienne comprend un pré-enrichissement, un enrichissement sur milieu sélectif, un ensemencement sur milieu sélectif et une confirmation du genre *Salmonella* par des tests biochimiques (49, 50). Le sérogroupage (antigène O) et sérotypage (antigène H) se font à l'aide des antisérums spécifiques à travers les réactions d'agglutination directe (52). Il existe également des méthodes moléculaires permettant de faire le typage de *Salmonella* spp (52). L'avantage de la culture bactérienne est l'identification du type de *Salmonella*, mais présente le désavantage d'une faible sensibilité (49). En effet, dans un modèle de classes latentes utilisant la culture bactérienne fécale et l'ELISA indirect sur sérum de 4531 bovins au Danemark, la sensibilité estimée de la culture bactérienne pour la détection de *S. Dublin* était

de l'ordre de 6-14 % pour une spécificité de 100% (53). Cependant cette sensibilité de 6-14% était pour un pool de matière fécale de 5 animaux. La sensibilité pour la détection de *S. Dublin* par la culture bactérienne individuelle était estimée à 16-20%. Les raisons qui expliquent cette faible sensibilité de la culture bactérienne fécale seraient l'excrétion intermittente de la bactérie chez les animaux infectés, ou la faible concentration des bactéries chez les animaux réinfectés ou en infection subclinique (49). Cependant, une autre étude a montré que dans certaines conditions, la sensibilité de la culture bactérienne fécale pourrait être plus grande ( $\geq 80\%$ ) en considérant les facteurs tels que la souche de *S. Dublin* en cause, les conditions d'élevages des animaux et l'utilisation de milieu de culture comme le Rappaport Vassiliadis (MRSV) (54).

#### - PCR

La PCR a l'avantage d'être plus sensible que la culture bactérienne, mais présente le désavantage que le sérotypage ultérieur ne soit pas possible si la bactérie ne peut pas être cultivée (49). Il y a deux grands types de PCR : la PCR traditionnelle et la PCR en temps réel. Dans la PCR traditionnelle, le résultat du test est qualitatif (présent/ absent). Dans la PCR en temps réel, la quantité de l'ADN copié est comptée par un ordinateur après chaque cycle par l'utilisation de sondes fluorescentes (49). Une étude au Danemark a montré pour la PCR en temps réel une sensibilité de 100% et une spécificité de 99-100% pour la détection de *S. Dublin* sur une collection de souches bactériennes comprenant 50 sérotypes de *S. Dublin*, 20 autres sérotypes de *Salmonella* et 10 souches non-*Salmonella* (55).

#### • Sérologie

Pour la sérologie, le sang et le lait peuvent être utilisés pour effectuer les tests ELISA (49, 50). Dans un modèle de classes latentes utilisant la culture bactérienne fécale et l'ELISA indirect sur sérum de 4531 bovins au Danemark, la sensibilité estimée de l'ELISA pour la détection de *S. Dublin* était de 65% pour une spécificité de 82% au seuil de positivité de 25 %. Lorsque le seuil de positivité était fixée à 50%, la sensibilité et la spécificité de l'ELISA étaient respectivement de 49% et 93% (53). D'autres études réalisées en faisant l'ELISA sur le lait de vaches individuelles ont donné au seuil de positivité de 25% une sensibilité de l'ordre de 77-78 % et une spécificité de 65-86%. Cette variation des performances de l'ELISA dépendait de la méthode d'évaluation qui était soit un test de référence (culture bactérienne) soit un modèle des classes latentes (49).

### 2.1.3 Importance des bovins comme source d'infection humaine

Les bovins jouent un rôle important en tant que source d'infection humaine par *Salmonella* spp (22). Des sérotypes de *Salmonella* spp fréquemment isolés chez l'homme (*S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Newport*, *S. Heidelberg*, *S. Stanley*, *S. Virchow*) ont été isolés chez des bovins malades ou cliniquement sains (56). Dans une étude d'attribution des sources (bovin, poulet, porc, dindon) réalisée au Minnesota (É.-U.), environ 38 % des 4672 cas humains de *Salmonella* spp étaient attribuables à la source bovine (57). Selon une étude d'attribution des sources au Canada, la viande bovine et les produits laitiers représenteraient 11,4% des infections humaines à *Salmonella* non typhiques d'origine alimentaire (58). L'humain se contamine par l'ingestion d'aliments contaminés comme les viandes et les produits laitiers ou par contact direct avec les bovins infectés ou indirect avec l'environnement contaminé (56). Des cas d'infections à *S. Dublin* ont été rapportés aux États-Unis suite à la consommation de produits laitiers non pasteurisés ou d'extraits de foie cru de veau utilisé comme supplément nutritionnel (59). Certains cas humains ont également été liés à l'exposition directe aux bovins. Par exemple, une étude a rapporté que deux pathologistes ont été infectés par *S. Typhimurium* suite à une nécropsie sur un bovin porteur de la bactérie (60). En 2016, 21 personnes ont été infectées par *S. Heidelberg* dans huit états américains suite à des contacts avec les veaux lourds achetés dans des marchés de bétail du Wisconsin (61). L'environnement contaminé à partir de source bovine peut être un facteur de risque de contamination pour l'humain. En effet, au Canada, une étude a montré que parmi les sérotypes de *Salmonella* spp connus pour causer des salmonelloses chez les humains, 11 sérotypes dont *S. Typhimurium* ont été isolées des eaux de surfaces des zones agricoles à production intensive de bovins, volaille et porcins (62).

### 2.1.4 Importance en santé publique

#### **Incidence**

Les salmonelles d'origine bovine causent chez l'humain des salmonelloses non-typhiques (63). Aux États-Unis, le CDC estime annuellement à environ 1,2 millions de malades et 450 décès associés à *Salmonella* spp de toutes origines avec une incidence en 2015 de 15,82 cas pour 100 000 personne-années (64). Au Canada, selon l'Agence de la santé publique du Canada (ASPC), le taux d'incidence de *Salmonella* spp en 2014 était de 21,45 cas pour 100 000 personnes-années (65). On estime qu'au Canada, *Salmonella* spp occasionne annuellement 87 510 cas avec 925 hospitalisations et 17 décès (16, 17). Entre 2011 et 2012, une étude a relevé

l'émergence de *S. Dublin* chez les humains au Québec avec 12 cas de formes invasives où la bactérie a été isolée du sang des patients (14).

### **Principales répercussions sur la santé publique**

La salmonellose non typhique se manifeste habituellement sous la forme aiguë par une apparition brutale de fièvre, des douleurs abdominales, de la diarrhée, des nausées et parfois de vomissements (63, 66). Les symptômes apparaissent de 6 à 72 heures (généralement de 12 à 36 heures) après l'ingestion de salmonelles, et la maladie clinique dure de 2 à 7 jours. Dans certains cas, l'infection se traduit par le développement de séquelles chroniques telles que les arthrites réactives et l'hypersensibilité au niveau de l'abdomen nécessitant une longue prise en charge médicale (63, 66, 67).

L'infection par les Salmonelles peut aussi être invasive (63, 68). Le sérotype Dublin est connue pour être plus invasif que les autres sérotypes (69). L'infection invasive peut se traduire par le décès du patient en général les jeunes enfants, les personnes âgées et les personnes immunodéficientes suite à une fièvre, une septicémie, une pneumonie et une hépatosplénomégalie (63, 68).

## **2.2 *Campylobacter* spp**

### **2.2.1 Caractéristique de la bactérie**

#### **Espèces**

Les campylobacters sont des petites bactéries à Gram négatif qui ont une forme incurvée, en forme de S ou en spirale. Elles appartiennent à la famille des *Campylobacteracea* (70). Ce sont des bactéries souvent présentes dans le tube digestif des animaux sains (70). Dix-neuf espèces sont actuellement identifiées, dont *C. jejuni*, *C. coli* et *C. fetus* sont les plus rapportées chez les bovins (71).

#### **Survie dans l'environnement**

Une étude menée en Alberta au Canada où la présence de l'ADN des cellules vivantes de *Campylobacter* spp (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. hyointestinalis*) a été détectée par PCR, a montré que *Campylobacter* spp pouvait persister jusqu'à 10 mois dans le fumier de bovins en compostage (72). Cette étude a montré également que l'ADN de *C. jejuni* était détectable pendant toute la phase active du compostage (environ 231 jours). Une précédente étude réalisée en Nouvelle Zélande par culture bactérienne montrait que *Campylobacter* spp ne survivait pas au-delà de 14 jours dans les matières fécales de bovins sur pâturage en été (73). Cette différence

de survie entre les deux études s'expliquerait par la méthode de détection utilisée. Une autre étude conduite en Suède par détection PCR a montré que *C. jejuni* survivait au-delà de 28 jours dans le sol amendé de lisier de bovin (74). Cools *et al.* ont montré que *C. jejuni* pouvait survivre plus de 64 jours dans l'eau stérile à 4 °C (75). Il en ressort donc que *Campylobacter* spp peut survivre longtemps dans l'environnement. Cependant le cycle de *Campylobacter* est complexe impliquant des réservoirs et des vecteurs divers (humain, mammifères domestiques et sauvages, oiseaux domestiques et sauvages, eaux, sol) pouvant jouer un rôle dans la survie et la transmission des campylobacters à l'humain et aux animaux (76).

### 2.2.2 Épidémiologie chez les bovins

#### Prévalence

Au Canada, la prévalence fécale de bovins infectés par *Campylobacter* spp est estimée entre 19 à 87 % par la méthode de culture et entre 21,6 à 90 % par la PCR (71) (Tableau III). C'est donc une bactérie très répandue dans les élevages bovins canadiens. Chez les bovins, les principales espèces répertoriées dépendent de la méthode d'identification utilisée. Par culture fécale, *C. jejuni* et *C. coli* ont été les espèces dominantes rapportées alors que par la PCR, *C. lanienae* a été rapportée comme espèce dominante (71, 77). Au Québec, Guévremont *et al.* ont trouvé que 72,5 % des troupeaux laitiers étaient infectés par *Campylobacter* spp selon la PCR réalisée sur les échantillons fécaux (78). Dans cette étude, la prévalence de vaches laitières excrétaient *Campylobacter* spp dans leur fèces était de 27,6%.

Dans les produits animaux, une étude réalisée au sud de l'Ontario a rapporté que parmi 438 pièces fraîches d'escalope de veau de grain échantillonnées dans les commerces de détail, la prévalence de *Campylobacter* spp était de 1% par culture bactériologique. Les espèces qui y ont été identifiées par PCR étaient *C. jejuni* et *C. coli* (28). Une autre étude réalisée en utilisant la PCR au Saskatchewan sur la viande de bœuf hachée a donné une prévalence de 4,5% pour *C. coli*, 3,6% pour *C. curvus*, 1,9% pour *C. foetus*, 7,8% pour *C. hyointestinalis*, 3,9% pour *C. jejuni*, 1,9% pour *C. rectus*, 2,9% pour *C. upsaliensis* et 8,7% pour les autres *Campylobacter* spp (79).

**Tableau III. Prévalence de *Campylobacter* spp chez les bovins au Canada**

Type de bovin	Age des bovins	Type d'échantillon	Taille d'échantillon (nombre d'unités épidémiologiques)	Unité épidémiologique	Test diagnostic	de Prévalence (%)	Province et période	et Référence
Tous	Tous	Fèces,	7738	Animal	Culture bactérienne PCR	<i>Campylobacter</i> spp : 19 à 87 (culture) <i>Campylobacter</i> spp : 21,6 à 90 (PCR)	Canada 1980 à 2015	(71)
Laitier	Adultes	Fèces	797 (niveau animal) 40 (niveau ferme)	Animal Ferme	Culture bactérienne	<i>Campylobacter</i> spp : 27,6 (niveau animal) ; 72,5 (niveau ferme)	Québec/Canada 2011	(78)
Veaux de grain	Veau	Viande (escalope)	438	Lot d'escalope	Culture bactérienne	<i>C. jejuni</i> et <i>C. coli</i> : 1	Ontario/Canada 2003-2004	(28)

Type de bovin	Age des bovins	Type d'échantillon	Taille d'échantillon (nombre d'unités épidémiologiques)	Unité épidémiologique	Test diagnostic	de Prévalence (%)	Province et période	Référence
Boucherie	Tous	Viande hachée	309	Lot de viande hachée	PCR	<i>C. coli</i> : 4,5 <i>C. curvus</i> : 3,6 <i>C. fetus</i> : 1,9 <i>C. hyointestinalis</i> : 7,8 <i>C. jejuni</i> : 3,9 <i>C. rectus</i> : 1,9 <i>C. upsaliensis</i> : 2,9 <i>Campylobacter</i> spp : 8,7	Saskatchewan 2011-2012	(79)

## **Facteurs de risque**

Lors d'une étude effectuée dans les élevages de bovins laitiers au Québec, Guévremont *et al.* ont rapporté que la composition de la ration alimentaire et le manque de mesures de biosécurité (nettoyages-désinfection des bottes et/ou des stalles) étaient associés à la prévalence de *C. jejuni* (78). Au Danemark, la présence des oiseaux sauvages sur les fermes, particulièrement à côté des étables des bovins d'élevage, a été mentionnée comme étant un facteur de risque (80). Dans cette étude, une forte corrélation ( $R^2=0,92$ ) a été trouvée entre la prévalence de *C. jejuni* chez les oiseaux sauvages présents sur les fermes et la prévalence de *C. jejuni* dans le fumier des bovins. Cependant, la direction de la transmission n'a pas été définie. L'âge des animaux, l'âge au sevrage, le type d'élevage, la saison, la présence de volaille sur la ferme ont également été rapportés comme principaux facteurs de risque de prévalence de *Campylobacter* chez les bovins (81-83).

## **Signes cliniques**

Chez les bovins, l'infection par les campylobacters est généralement asymptomatique. Toutefois, les campylobacters peuvent être associés à des entérites chez le veau dans le cas des infections par *C. jejuni* et *C. coli*. En effet, dans une étude d'infection expérimentale par *C. jejuni* et *C. coli* chez des veaux nouveaux nés, une entérite bénigne caractérisée par des fèces mucoïdes épaisses a été remarquée (84). Les campylobacters peuvent aussi être associés à des avortements chez les femelles gestantes dans le cas des infections à *C. fetus* (71, 85) et dans certains cas à *C. jejuni* (86).

## **Diagnostic**

Le diagnostic des infections à *Campylobacter* spp se fait généralement à travers l'identification de la bactérie par culture bactérienne ou par PCR (87). Les tests immunologiques pour la détection d'antigènes dans les matières fécales ou des anticorps dans le sérum existent, mais ne sont pas utilisés en diagnostic de routine (87). Les échantillons recommandés pour l'identification de la bactérie sont les matières fécales fraîches, le contenu caecal et les écouvillons rectaux (87).

### **• Culture bactérienne**

La culture bactérienne demeure le test de référence pour confirmer la présence de la bactérie vivante recherchée dans un échantillon contaminé par d'autres bactéries. Trois types approches

de culture bactérienne sont utilisées : l'ensemencement direct, l'enrichissement en bouillon suivi de l'ensemencement sur milieux sélectifs gélosés et la filtration avant ensemencement direct ou avant l'enrichissement en bouillon suivi de l'ensemencement. La sélectivité des milieux de culture repose sur l'utilisation des antibiotiques. La technique la plus fréquemment utilisée au Canada est l'enrichissement en bouillon Bolton suivi de l'ensemencement sur milieu sélectif mCCDA (71). L'inconvénient des milieux sélectifs est qu'en raison des antibiotiques ajoutés dans les milieux sélectifs pour isoler *C. coli* et *C. jejuni*, la croissance des autres campylobacters tels que *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis*, et *C. fetus* est inhibée (88). De plus, les espèces de *Campylobacter* isolées par culture bactérienne dépendent de la température d'incubation. Ainsi, une étude réalisée au Canada sur 759 échantillons d'eaux usées et de matières fécales d'oiseaux a montré que *Campylobacter* spp était détecté dans 60 % des échantillons à la température d'incubation de 37°C, contre 34% à 42°C (89). Dans cette même étude, *C. jejuni* étaient détectés dans 16 % des échantillons à 42°C contre 8% à 37°; *C. lari* étaient détectés dans 12% des échantillons à 42°C contre 5% à 37° tandis que *C. coli* était détecté dans 8% des échantillons à 42°C contre 14% à 37°C (89).

Sur le plan des performances de la culture bactérienne pour la détection de *Campylobacter* chez les bovins, une étude réalisée en Inde par inoculation de *C. jejuni* dans des matières fécales liquides de bovin à une concentration de  $10^6$  bactéries/ml a démontré une sensibilité de la culture bactérienne de 90 % (90).

- **PCR**

La détection de *Campylobacter* spp dans les fèces peut se faire directement par PCR. Par contre, la PCR présente l'inconvénient de détecter les fragments nus d'ADN ou de l'ADN de bactéries non viables (91). Dans une étude réalisée au Canada par inoculation de *Campylobacter* dans les matières fécales de bovin à la charge de  $10^4$  ufc/g, la sensibilité de la PCR a été estimée à 100 % pour la détection de *C. coli*, *C. jejuni*, *C. fetus*, et *C. hyointestinalis*, tandis qu'à la charge de  $10^3$  ufc/g la sensibilité de la PCR a été estimée à 83 % pour *C. coli*, 67 % pour *C. jejuni* et *C. hyointestinalis* et 50 % pour *C. fetus* (92). Lors d'une étude réalisée en Inde par inoculation de *C. jejuni* dans des matières fécales liquides de bovin à une concentration de  $10^6$  ufc/ml, la sensibilité de la PCR a été estimée à 100 %. Cette PCR appliqué sur des isolats de *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria* et *Staphylococcus* a démontré une spécificité de 100% (90).

### **2.2.3 Importance des bovins comme source d'infection humaine**

Les bovins jouent un rôle important comme réservoir pour l'infection des humains (71). Dans une étude d'attribution des sources réalisée à partir de deux modèles par Ravel *et al.*(93) au Canada sur 198 cas humains de campylobactériose, le fumier de bovins venaient en deuxième position avec 14-19% d'attribution des cas derrière la viande de poulet (65-69% d'attribution des cas). Selon une autre étude d'attribution des sources au Canada, la viande bovine et les produits laitiers représenteraient 15,4% des infections humaines de *Campylobacter* d'origine alimentaire (58). Dans un modèle d'attribution des sources réalisé au Danemark, le réservoir bovin représentait 17 % des 246 cas rapportés de campylobactériose humaine (94). Lors d'une étude réalisée au Québec, Arsenault *et al.* ont rapporté qu'une haute densité de ruminants était associée à une augmentation de l'incidence de campylobactériose humaine (95). La corrélation entre la densité des bovins et la campylobactériose humaine a aussi été relevée dans une autre étude menée en Ontario (96). De plus, aux États-Unis, une étude a montré que les régions avec une forte concentration de bovins avaient une plus forte incidence de campylobactériose humaine (97). Dans cette étude, le profil génétique de *C. jejuni* isolé chez les humains était semblable au profil génétique de *C. jejuni* isolé chez les bovins.

La transmission de *Campylobacter* spp des bovins à l'humain peut se faire d'une part par la voie féco-orale à travers les aliments contaminés (viande mal cuite, produits laitiers non pasteurisés), l'eau et l'environnement contaminés et d'autre part par le contact direct entre l'humain et les animaux (71, 97-99).

### **2.2.4 Importance en santé publique**

#### **Incidence**

Sur le plan de la santé publique, *Campylobacter* spp, et plus particulièrement *C. jejuni* et *C. coli*, est l'une des causes les plus courantes de gastroentérite d'origine bactérienne chez l'humain dans le monde (18). Selon les CDC, 1,3 millions de personnes sont affectées annuellement par la campylobactériose aux États-Unis avec un taux d'incidence de 14 cas par 100 000 personnes-années (100). Au Canada, selon l'ASPC, le taux d'incidence de la campylobactériose était en 2014 de 28,44 cas par 100 000 personnes-années (65). On estime qu'au Canada, le nombre de cas annuels de *Campylobacter* spp ajusté pour la sous-déclaration est de 145 350 avec 429 hospitalisations et cinq décès (16, 17).

#### **Principales répercussions sur la santé publique**

Chez l'humain, les symptômes de la campylobactériose se manifestent après une période d'incubation de 2 à 5 jours ; ceux-ci peuvent inclure une fièvre de 40 °C, des nausées et des vomissements, des crampes abdominales, de la diarrhée et des céphalées (18, 66, 101). Le décès dû à la campylobactériose est rare et peut survenir chez les enfants, les personnes âgées et les personnes immunodéficientes. On peut aussi observer des séquelles post infection incluant de l'arthrite réactive (1 à 5% des cas) et des troubles neurologiques comme le syndrome de Guillain-Barré (0,1% des cas) (18, 102, 103).

### **2.3 *Escherichia coli* générique**

Les *E. coli* sont des bactéries à Gram négatif en forme de bâtonnets appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elles sont retrouvées naturellement dans l'intestin des animaux et des humains. Ce sont donc pour la plupart des bactéries commensales mais une petite proportion sont pathogènes pour les animaux et les humains (104).

Lorsque les *E. coli* sont associés aux pathologies intestinales, on parle d'*E. coli* entéropathogènes (Intestinal pathogenic *E. coli* ou InPEC). Un des critères de classification des InPEC est leur mécanisme pathogénique spécifique chez l'humain ou chez l'animal. Sept pathotypes ou pathovars des InPEC ont été décrits (104) . Le pathotype d'importance en santé publique rencontré chez le bovin est le *E. coli* produisant la shigatoxine (shiga toxin-producing *E. coli*, STEC) particulièrement le sous-groupe *E. coli* entérohémorragique (enterohemorrhagic *E. coli*, EHEC). Les EHEC ne sont pas pathogènes chez les ruminants (104). Le sérotype d'EHEC d'importance majeure en santé publique est le *E. coli* O157 : H7 responsable de toxico-infections alimentaires. L'infection humaine se manifeste sous forme d'une diarrhée liquide profuse, des coliques et des vomissements avec ou sans présence de fièvre (22, 66). Des complications sous forme de syndrome hémolytique et urémique potentiellement mortel peuvent survenir, surtout chez les enfants et les personnes âgées (66).

La transmission de l'animal à l'humain est féco-orale par l'intermédiaire des aliments contaminés comme la viande crue ou mal cuite, les produits laitiers, l'eau de surface et aussi par contact direct avec animaux infectés (104). Au Québec, par exemple, une épidémie survenue en 2013 impliquant 4 cas humains d'*E. coli* O157 :H7 a été associée à la consommation de tartare (viande crue finement hachée) de bœuf et de veau (105). Au Canada, le nombre de cas annuels d'*E. coli* O157 :H7 est estimée à 12.827 avec 246 hospitalisations et 8 décès (16, 17).

Les *E. coli* génériques qui font l'objet de la présente étude sont considérés comme de bons indicateurs de la pression de sélection due à l'usage des antimicrobiens, car elles sont retrouvées en permanence dans le tube digestif des animaux et humains (106). Elles peuvent aussi être des réservoirs des gènes de résistance qu'elles transmettent à d'autres bactéries pathogènes (107).

### 3 Résistance aux antimicrobiens

#### 3.1 Définition

Selon le CDC la RAM est la capacité d'un germe (bactérie, virus, champignon, parasite) à résister à l'action d'un médicament antimicrobien (1). La RAM se réfère à des valeurs critiques de susceptibilité antimicrobienne (antibiogramme) définies *in vitro* permettant de catégoriser la bactérie testée en sensible (S), intermédiaire (I) et résistante (R) (19, 108).

L'organisation mondiale de la santé animale (OIE) préconise trois types de méthodes pour la définition de la RAM chez les animaux à savoir la méthode de diffusion par disque, la méthode de dilution en bouillon et la méthode de dilution en gélose (19).

**Diffusion par disque ou diffusion en milieu gélosé ou technique de Kirby-Bauer (19) :** La diffusion par disque se rapporte à la diffusion d'un agent antimicrobien d'une concentration spécifiée à partir de disques dans un milieu de culture solide (gélose) qui a étéensemencé avec l'inoculum de bactérie en culture pure. La diffusion de l'antimicrobien crée une zone d'inhibition dont le diamètre est proportionnel à la susceptibilité bactérienne à l'antimicrobien présent dans le disque. Les valeurs critiques de susceptibilité sont rapportées en diamètre de la zone d'inhibition (en millimètre).

**Dilution en bouillon (19):** La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension de bactérie d'une concentration déterminée est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien (habituellement des dilutions doubles en série) dans un milieu liquide de formulation documentée. La méthode de dilution en bouillon peut être réalisée soit dans des tubes contenant un volume minimum de 2 ml (macrodilution), soit dans de plus petits volumes en utilisant des plaques de microdilution. Les valeurs critiques de susceptibilité sont rapportées en concentration minimale inhibitrice (CMI, en milligramme par litre ou microgramme par millilitre).

**Dilution en gélose (19) :** La dilution en milieu gélosé implique l'incorporation de concentrations variables de l'agent antimicrobien dans un milieu gélosé, en utilisant

habituellement des dilutions doubles en série, suivie par l'application d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose. Les valeurs critiques de susceptibilité sont rapportées en concentration minimale inhibitrice.

La RAM se définit principalement sur le plan clinique et sur le plan épidémiologique.

Sur le plan clinique, on met en corrélation la sensibilité in-vitro d'un germe à un agent antimicrobien (la valeur de CMI) avec la probabilité d'une réaction clinique positive ou non si un animal est infecté par cette bactérie et traité avec la dose normale et recommandée de cet agent antibactérien (109).

**Cut-off clinique** (109): Le point de rupture (*breakpoint*) clinique est une valeur CMI pour une combinaison bactérie-antimicrobien particulière pour laquelle on attend une réussite thérapeutique. Ces points de rupture clinique sont déterminés empiriquement à l'aide d'essais de traitement chez les animaux et en considérant la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de l'antimicrobien. Si la valeur CMI in-vitro d'une souche bactérienne est inférieure au point de rupture clinique, un succès thérapeutique peut être espéré avec l'administration de la dose recommandée et le germe est (cliniquement) sensible. Si la valeur CMI in-vitro d'une souche bactérienne est supérieure au point de rupture clinique, un échec thérapeutique peut être envisagé avec l'administration de la dose recommandée et le germe est (cliniquement) résistant.

Sur le plan épidémiologique la RAM se définit pour une espèce bactérienne donnée par une distribution statistique normale de CMI établie à partir d'un grand nombre de souches analysées pour leur sensibilité individuelle vis-à-vis de l'antimicrobien testé (au moyen de leur valeur CMI individuelle) et ces résultats sont reportés dans un graphique (109). La population des bactéries affichant ce niveau normal de sensibilité est appelée la population « wild type » (« sauvage ») caractérisée par une absence de mécanisme de résistance contre l'antimicrobien testé (108). Dans cette définition une autre population bactérienne dont la distribution statistique se démarque de la distribution statistique des CMI de la souche sauvage est classée comme « non sauvage » c'est-à-dire ayant développé un mécanisme de résistance contre l'antimicrobien testé (19, 108).

**Cut-off épidémiologique** (109): Les bactéries présentant une résistance acquise affichent une valeur CMI augmentée par rapport à la population « wild-type », ce qui peut donner naissance à une autre population de germes résistants. Cette deuxième population peut être clairement distinguée de la population « wild-type » dans un graphique, ce qui induit une répartition bimodale des valeurs de CMI ou un chevauchement (partiel) avec la population sensible

sauvage. La valeur limite distinguant la population sensible (« wild- type ») de la population résistante est appelée « cut-off » épidémiologique. Ce cut-off ne fournit aucune information sur la sensibilité clinique de la souche étudiée. Le traitement d'une souche sensible ou d'une souche résistante selon le critère épidémiologique avec l'agent antimicrobien voulu peut donc déboucher sur la guérison ou non. Le cut-off épidémiologique est un outil de détection précoce de l'acquisition de mécanisme de résistance dans une population bactérienne.

Sur le plan international les cut-offs sont développés soit par le CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute) aux Etats-Unis, soit par l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) en Europe.

**Résistance multiple (multidrug resistance, MDR), résistance extrême (extensive drug resistance, XDR), pan-résistance (Pandrug resistance, PDR) (110):** Le MDR a été défini comme une non-sensibilité acquise à au moins un agent appartenant à trois catégories d'antimicrobiens ou plus. La XDR, à une non-sensibilité à au moins un agent de toutes les catégories d'antimicrobiens sauf deux ou moins (les isolats bactériens restent sensibles seulement une ou deux catégories). La PDR a été définie comme une non-sensibilité à tous les agents dans toutes les catégories d'antimicrobiens

La RAM est un enjeu complexe lié à la capacité des bactéries de s'adapter rapidement à leur environnement (111). On distingue deux types de résistances : la résistance innée et la résistance acquise.

### 3.2 Résistance innée

La résistance innée est due aux propriétés structurales et fonctionnelles naturelles permettant une tolérance à un antimicrobien particulier ou à une classe d'antimicrobien par tous les membres d'un groupe bactérien (112). On parle d'une insensibilité car le phénomène est relatif à une bactérie qui n'a jamais été sensible à l'antimicrobien en question (111, 112). L'insensibilité ou la sensibilité réduite peut être due (112):

- au manque d'affinité du médicament pour le récepteur bactérien (exemple de la faible affinité de l'acide nalidixique pour l'*Enterococcus gyrase*) ;
- à l'inaccessibilité du médicament dans la bactérie (exemple de l'imperméabilité de la membrane externe des bactéries à Gram négatif pour les glycopeptides) ;
- à l'extrusion du médicament par des exportateurs actifs codés chromosomiquement (exemple de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* pour les tétracyclines, le chloramphénicol et les quinolones) ;

- à la production innée des enzymes qui inactivent le médicament (exemple de la production de l'AmpC beta-lactamase chez certains membres de la famille des *Enterobacteriaceae*).

### **3.3 Résistance acquise**

Contrairement à la résistance innée, la résistance acquise est une caractéristique associée seulement à certaines souches d'un genre ou d'une espèce bactérienne particulière (112). L'acquisition de la résistance est due à un changement génétique dans le génome bactérien. Ce changement dans le génome bactérien peut survenir suite à une mutation chromosomique ou suite à une acquisition d'éléments génétiques étrangers (111) ou de la combinaison des deux types de résistance acquise (112).

#### **3.3.1 Résistance acquise par mutation chromosomique**

Une mutation est un changement héritable dans la séquence d'ADN original (113). Par son caractère héritable, la résistance acquise par mutation chromosomique est dite verticale. La mutation occasionne le changement de la cible bactérienne du médicament. A titre d'exemple, ce mécanisme est à la source de la résistance à la streptomycine chez *E. coli* (113). Chez les bactéries non résistantes, la streptomycine se fixe sur la protéine S12 du ribosome bactérien de *E. coli* pour bloquer le mécanisme de translation dans la synthèse de protéines bactériennes. Certaines mutations dans le gène codant pour la protéine S12 modifient les caractéristiques de cette protéine, empêchant alors la streptomycine de se fixer sur le ribosome, occasionnant ainsi la résistance.

#### **3.3.2 Résistance acquise par transfert d'éléments génétiques mobiles**

La résistance acquise par le transfert de l'ADN mobile est dite horizontale. L'ADN mobile se retrouve sous 3 formes : plasmide, transposon, intégron (113). Le plasmide est de l'ADN extrachromosomique en forme circulaire capable de se répliquer seul et permettant aux bactéries de survivre dans des environnements hostiles. Le transposon est une courte séquence d'ADN incapable de se répliquer seul et qui se déplace entre le plasmide et le chromosome. L'intégron est une séquence libre d'ADN pouvant acquérir ou perdre plusieurs cassettes de gènes de résistance aux antimicrobiens (114). Les cassettes de gènes sont des éléments génétiques distincts qui peuvent exister sous forme de molécules d'ADN libres, circulaires et ne se répliquant pas lors du déplacement d'un site génétique à un autre, mais qui se trouvent normalement sous forme de séquences linéaires faisant partie d'une molécule d'ADN plus grande, telle qu'un plasmide ou chromosome bactérien (114). Les cassettes de gènes ne contiennent normalement qu'un seul gène et une séquence courte supplémentaire, appelée

élément de 59 bases, qui fonctionne comme un site de recombinaison spécifique (114, 115). Tout comme le transposon, l'intégron ne peut se répliquer seul. Sa réplication se fera donc dans un chromosome ou un plasmide. Contrairement au transposon, l'intégron ne peut se déplacer que grâce à son incorporation dans un transposon. Le transfert de gènes de résistance contenus dans les cassettes d'intégron se fera à travers son incorporation dans le transposon lui-même véhiculé par un plasmide.

Le transfert horizontal des résistances peut se faire par trois mécanismes : la conjugaison, la transformation et la transduction.

### **Conjugaison**

La conjugaison est le transfert du matériel génétique (en général, le plasmide) d'une bactérie (donneuse) à une autre (receveuse) par contact direct par l'intermédiaire des pilis sexuels (113). La conjugaison a lieu en général entre bactéries apparentées, mais il existe aussi des cas de transfert inter-espèce de plasmides. C'est le cas du transfert de plasmides d' *E. coli* à la plupart des bactéries à Gram négatif (113).

### **Transformation**

La transformation est l'incorporation de l'ADN libre de l'environnement dans une cellule bactérienne dans le but en général de réparer le matériel génétique endommagé (113). La transformation est à l'origine de la construction d'une mosaïque de gènes associés à la résistance à la pénicilline chez certaines bactéries comme *Streptococcus pneumoniae* et *Neisseria* spp (112).

### **Transduction**

La transduction est le transfert de l'ADN d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un phage à travers le processus de lyse bactérienne (113). On pense que la transduction pourrait jouer un rôle dans la dissémination des gènes de résistances aux macrolides chez les streptocoques du groupe A et aussi chez *S. Typhimurium* DT104 (112).

## **3.4 Evolution et persistance des résistances acquises**

La résistance acquise aux antimicrobiens est un phénomène qui se produit sous la pression de sélection due à leur utilisation (3, 116-118). La réversion des résistances acquises est possible quand la pression de sélection diminue (119). Cependant, des observations divergentes ont été faites à ce sujet. Dans certains cas, la réduction de l'utilisation des antimicrobiens a été accompagnée par la diminution de la prévalence de résistance comme ce qui fut observé chez

les humains en Finlande avec la réduction de l'utilisation de certains macrolides sur la résistance de *Streptococcus pyogenes* à l'érythromycine (120). Dans d'autres situations, la diminution n'a pas été accompagnée des effets escomptés comme ce fut le cas entre 1991 et 1999 au Royaume-Uni, où la réduction de la consommation du cotrimoxazole chez les humains ne s'est pas accompagnée de la réduction de la résistance de *E. coli* à la sulfaméthoxazole, mais plutôt par une tendance à l'augmentation de la résistance (121). Dans le cas où la réduction de l'utilisation des antimicrobiens n'a pas été suivie de baisse de la résistance, la co-sélection avec d'autres antibiotiques encore utilisés et aussi le mécanisme de l'évolution compensatrice ont été suggérés comme explications (119). La co-résistance se produit lorsque des gènes de résistance sont localisés ensemble sur un même élément génétique mobile. Le mécanisme de l'évolution compensatrice suggère que les mutants résistants subissent d'autres mutations pour compenser leur désavantage en terme de rapidité de multiplication par rapport aux souches sensibles en compétition (119). Ce désavantage provient du coût énergétique ou valeur adaptative (*fitness cost*) engendré par l'acquisition de la résistance (119). Une fois que la pression de sélection cesse, la réversion va dépendre entre autres facteurs de la classe d'antibiotique (si co-sélection ou pas) et de l'aptitude des mutants bactériens à exprimer le mécanisme d'évolution compensatrice. Une bactérie qui a une valeur adaptative élevée et une évolution compensatrice faible est plus susceptible à la réversion de la résistance à un antimicrobien donné par le biais de la sélection naturelle (119). D'autres auteurs pensent qu'une fois acquise, la résistance aux antibiotiques reste stable dans la population bactérienne à cause de multiples facteurs en faveur de la persistance tels que la présence des antibiotiques dans l'environnement (122). Ceci démontre la complexité du phénomène de la RAM et son inversion. La lutte contre la RAM devrait donc privilégier la prévention au sein des populations bactériennes encore sensibles par les actions telles que l'usage judicieux des antibiotiques (123). L'usage judicieux d'antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation humaine vise à maximiser l'efficacité thérapeutique et à minimiser la sélection de microorganismes résistants en limitant l'usage aux administrations jugées nécessaires pour assurer la santé animale et en utilisant les antimicrobiens sous surveillance vétérinaire (124).

### **3.5 Résistances aux antimicrobiens chez les animaux et leur impact pour la santé publique, la santé animale et l'environnement**

#### **3.5.1 Utilisation des antimicrobiens chez les animaux et développement des résistances**

Il est maintenant admis que toute utilisation des antimicrobiens concoure au développement et la propagation des résistances. La santé humaine et la santé animale contribuent chacune au phénomène global (8). Au Canada, l'ASPC a estimé qu'en 2014, 1,4 millions de kg d'antimicrobiens ont été distribués dont 82 % utilisés chez les animaux élevés à des fins alimentaires, 18 % chez les humains, moins de 1% chez les animaux de compagnie et moins de 1% pour les cultures (15). En tenant compte de la population et le poids moyens chez les humains et les animaux on notait 1,7 fois plus d'antimicrobiens distribués pour l'utilisation chez les animaux que chez les humains (15). Aux États-Unis, en 2014, 15,36 millions de kg d'antimicrobiens ont été vendus pour la production animale (125) contre 3,5 millions de kg pour la santé humaine (126). Cette grande consommation d'antimicrobiens pour la production des animaux à des fins alimentaires pose la question du développement des résistances dans le compartiment animal et sa dissémination chez l'homme à travers la chaîne alimentaire, le contact direct avec les animaux et par l'intermédiaire de l'environnement (126, 127). En effet, en 1976, Levy *et al.*, ont montré que des *E. coli* ont développé de la résistance à la tétracycline chez les poulets sous la pression de sélection d'une diète supplémentée à la tétracycline, et que cette résistance a été transférée aux humains travaillant dans la ferme (128). Après plusieurs publications sur l'utilisation des antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation humaine, la plupart des auteurs s'accordent sur le fait que l'utilisation des antimicrobiens dans l'agriculture a un impact sur la RAM chez les humains (126). Le microbiote commensal des animaux jouerait dans ce sens un rôle important dans la dissémination des résistances. Les *E. coli* commensaux, par exemple, peuvent transmettre horizontalement la résistance acquise à d'autres entérobactéries pathogènes pour l'animal et l'humain (129). Ceci est préoccupant quand on sait que la plupart des antimicrobiens utilisés chez les animaux appartiennent aux mêmes classes que ceux utilisés en santé humaine. Au Canada, par exemple, 73 % des antimicrobiens utilisés en 2014 étaient de classes communes aux antimicrobiens utilisés en santé humaine (15). L'utilisation des antimicrobiens en élevage des animaux destinés à l'alimentation se fait pour trois raisons : le traitement (thérapeutique), la prévention (prophylactique et métaphylactique), et la stimulation de la croissance (130). Au sein de l'Union européenne, l'utilisation des antimicrobiens comme promoteurs de croissance des

animaux d'élevage destinés à la consommation humaine est interdite (15). Aux États-Unis et au Canada, des mesures sont en train d'être prises pour retirer « fins de production » sur les étiquettes d'antimicrobiens importants sur le plan médical afin de promouvoir l'usage judicieux des antimicrobiens chez les animaux (15).

### **3.5.2 Conséquences du développement des résistances sur la santé humaine, la santé et les productions animales et l'environnement**

#### **Catégorisation des antimicrobiens à usage vétérinaire selon leur importance en santé humaine au Canada**

La résistance aux antimicrobiens chez les animaux destinés à l'alimentation est inter-liée à la RAM chez les humains (131). Certains antimicrobiens sont essentiels pour le traitement d'infections graves et parfois mortelles chez les humains. S'ils deviennent inefficaces à cause d'un développement de résistances dans la population animale, des antimicrobiens de remplacement pourraient ne pas être disponibles pour traiter des infections causées par ces bactéries résistantes (130). Tout en reconnaissant que tous les médicaments antimicrobiens disponibles sont importants, l'OMS et Santé Canada relèvent que certains antimicrobiens sont jugés plus importants que d'autres dans le traitement des bactérioses graves et que le développement de la résistance à ces antimicrobiens pourrait avoir des conséquences majeures sur la santé humaine (130, 132). Ainsi Santé Canada a catégorisé les classes d'antimicrobiens disponibles au Canada suivant les deux critères (indication et disponibilité de l'antimicrobien) (130) :

- Indication : englobe l'utilisation de médicaments en médecine humaine, le spectre d'activité et l'efficacité.
- Disponibilité de médicaments antimicrobiens de remplacement : les médicaments pour lesquels il n'existe que très peu ou pas de produits de remplacement pour le traitement des infections ou dont les médicaments de remplacement disponibles sont de la même catégorie, sont considérés plus importants que d'autres.

Le Tableau IV ci-dessous présente la catégorisation des antimicrobiens selon leur importance en santé humaine en tenant compte de leur indication en production bovine au Canada.

**Tableau IV. Catégorisation des antimicrobiens selon leur importance en santé humaine en tenant compte de leur indication en production bovine au Canada (adapté de (130, 133))**

<b>Catégorie</b>	<b>Importance</b>	<b>Description</b>	<b>Classe</b>	<b>Exemple d'antimicrobiens</b>
I	Très haute importance	- Essentiels dans le traitement de bactérioses graves - Très peu ou pas d'antimicrobiens de remplacement permettant un traitement efficace en cas d'émergence d'une résistance	Céphalosporines de 3 <sup>e</sup> et 4 <sup>e</sup> génération	Céftiofur
			Fluoroquinolones	Danofloxacine Enrofloxacine
			Polymyxines	Polymyxine B
II	Haute importance	Peuvent être utilisés pour traiter plusieurs types d'infections (infections graves incluses) et pour lesquels des médicaments de remplacement sont généralement disponibles. Les bactéries résistantes aux médicaments de cette catégorie sont en général sensibles aux médicaments de la catégorie I	Aminoglycosides	Gentamycine Néomycine
			Céphalosporines de 1 <sup>ère</sup> et 2 <sup>e</sup> génération	Céphapirine
			Lincomycines	Lincomycine Pirlimycine
			Streptogramines (Synergistines)	Virginiamycine

Catégorie	Importance	Description	Classe	Exemple d'antimicrobiens
			Macrolides	Erythromycine Gamithromycine Tildipirosine Tilmicosine Tulathromycine Tylosine
			Pénicillines	Amoxicilline Ampicilline Cloxacilline Pénicilline
			Triméthoprim- sulfaméthoxazole	Triméthoprim- sulfaméthoxazole
III	Moyenne importance	Sont utilisés pour le traitement de bactérioses pour lesquelles des médicaments de remplacement sont généralement disponibles. Les infections causées par des bactéries résistantes à ces médicaments peuvent, en général, être traitées à l'aide d'antimicrobiens de catégorie I ou II	Phénicols	Florfénicol
			Pleuromutilines	Tiamuline
			Polypeptides	Bacithracine
			Sulfonamides	Sulfaméthazine, Sulfamérazine, Sulfathiazole
			Tétracyclines	Oxytétracycline Tétracycline

<b>Catégorie</b>	<b>Importance</b>	<b>Description</b>	<b>Classe</b>	<b>Exemple d'antimicrobiens</b>
IV	Faible importance	A l'heure actuelle, les antimicrobiens de cette catégorie ne sont pas utilisés en médecine humaine	Ionophores	Lasalocide Monensine

Le développement des résistances liées à l'utilisation des antimicrobiens a des répercussions en santé humaine, en santé et productions animales et sur l'environnement.

### **Conséquences pour la santé humaine**

La RAM est une grande préoccupation pour la santé humaine à l'échelle mondiale. Aux États-Unis, le CDC estime qu'environ 23 000 personnes meurent chaque année suite à une infection par des bactéries résistantes aux antimicrobiens (1). Selon l'OMS, les conséquences de l'antibiorésistance en santé humaine sont (4):

- La réduction de l'efficacité de certaines familles d'antimicrobiens nécessaires au traitement des maladies infectieuses chez l'homme, entraînant des décès ;
- Le risque accru lié à certains actes médicaux, comme les transplantations d'organe, la chimiothérapie anticancéreuse, la prise en charge du diabète et de nombreuses interventions chirurgicales en l'absence d'antimicrobiens efficaces pour la prévention et le traitement des infections,
- L'augmentation des coûts des soins de santé suite à la prolongation de la durée des séjours hospitaliers et par l'imposition de soins plus intensifs.

### **Conséquences pour la santé et les productions animales**

Chez les animaux, le développement des résistances aux antimicrobiens a pour conséquences (134) :

- Les échecs thérapeutiques préjudiciables pour la santé et le bien-être animal ;
- Les mortalités d'animaux ;
- Les pertes de production résultant en des pertes économiques pour les éleveurs.

### **Conséquences pour l'environnement**

Le rejet d'antibiotiques ou de métabolites sous forme active dans le milieu environnant favorise le développement d'antibiorésistance dans l'environnement pouvant constituer un facteur de déséquilibre de l'écosystème bactérien des sols, des végétaux et du milieu aquatique. De même, la contamination des sols par des bactéries déjà résistantes provenant des matières organiques issues de l'agriculture peut amplifier le problème et constituer un risque pour la santé humaine et animale (135).

### **3.6 Interrelations entre la résistance antimicrobienne chez l'humain, l'animal et l'environnement**

Il existe plusieurs liens entre l'humain, l'animal et l'environnement qui permettent non seulement les mouvements des bactéries, mais aussi des éléments génétiques mobiles vecteurs de résistances et les antimicrobiens eux-mêmes (136). Comme chez les humains et les animaux, la RAM apparaît dans la biomasse du sol, mais souvent de façon naturelle car le sol contient des microorganismes qui produisent les antibiotiques (131). Le rejet dans l'environnement des matières organiques humaines et d'origine agricole contenant de bactéries résistantes rend complexe le mouvement de la RAM dans les trois compartiments. La compréhension des liens entre les trois compartiments permet de cibler les endroits de la chaîne pour agir afin de réduire la RAM globale. On pourra par exemple agir sur le compartiment animal par la surveillance, la réduction de l'utilisation des antimicrobiens chez les animaux élevés à des fins alimentaires, et l'utilisation des alternatives aux antimicrobiens telles que les symbiotiques et les vaccins (131).

### **3.7 Prévalence des résistances aux antimicrobiens des principaux agents bactériens entériques zoonotiques du veau de lait et autres bovins au Québec, Canada et ailleurs**

Au Canada, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp et *E coli* génériques sont les bactéries prioritaires d'origine animale surveillées par le Programme intégré canadien de surveillance aux antimicrobiens (PICRA) (15). Aux États-Unis, ces 3 bactéries font également partie des bactéries prioritaires surveillées dans le cadre de *National Antimicrobial Resistance Monitoring System* (NARMS) (137). Au sein de l'Union européenne, il existe depuis 2003 un système harmonisé de surveillance de la résistance aux antimicrobiens pour les bactéries zoonotiques et commensales avec aussi *Salmonella ssp*, *Campylobacter* spp et *E coli* génériques comme bactéries prioritaires (138, 139). Le Tableau IV ci-dessous donne la liste des bactéries zoonotiques et commensales prioritaires sous surveillance de la RAM au Canada ainsi que les antimicrobiens testés

**Tableau IV. Bactéries entériques zoonotiques et commensales prioritaires sous surveillance de la résistance aux antimicrobiens par le PICRA au Canada (adapté de (140))**

Bactérie	Antimicrobien	Classe	Importance en santé humaine	Intervalle de CMI testé (µg/ml)	Valeurs seuil de CMI*		
					S**	I**	R**
<i>Salmonella</i> spp et <i>E. coli</i>	Amoxicilline-acide clavulanique	β-Lactames : Pénicillines	Très haute	1,0/0,5 – 32/16	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16
	Ceftiofur	β-Lactames : Céphalosporines (3 <sup>e</sup> génération)	Très haute	0,12 – 8	≤ 2	4	≥ 8
	Ceftriaxone	β-Lactames : Céphalosporines (3 <sup>e</sup> génération)	Très haute	0,25 – 64	≤ 1	2	≥ 4
	Ciprofloxacine	Quinolones (2 <sup>e</sup> génération)	Très haute	0,015 – 4	≤ 0,06	0,12 – 0,5	≥ 1

Bactérie	Antimicrobien	Classe	Importance en santé humaine	Intervalle de CMI testé (µg/ml)	Valeurs seuil de CMI*		
					S**	I**	R**
<i>Salmonella</i> spp et <i>E. coli</i>	Ampicilline	β-Lactames : Pénicillines	Haute	1 – 32	≤ 8	16	≥ 32
	Azithromycine	Macrolides	Haute	0,12 – 16	≤ 16	N/A	≥ 32
	Céfoxitine	β-Lactames : Céphalosporines (2 <sup>e</sup> génération)	Haute	0,5 – 32	≤ 8	16	≥ 32
	Gentamicine	Aminoglycosides	Haute	0,25 – 16	≤ 4	8	≥ 16
	Kanamycine	Aminoglycosides	Haute	8 – 64	≤ 16	32	≥ 64
	Acide nalidixique	Quinolones (1 <sup>ere</sup> génération)	Haute	0,5 – 32	≤ 16	N/A	≥ 32

Bactérie	Antimicrobien	Classe	Importance en santé humaine	Intervalle de CMI testé (µg/ml)	Valeurs seuil de CMI*		
					S**	I**	R**
<i>Salmonella</i> spp et <i>E. coli</i>	Streptomycine	Aminoglycosides	Haute	32 – 64	≤ 32	N/A	≥ 64
	Triméthoprim- sulfaméthoxazole	Sulfamides	Haute	0,12/2,38 – 4/76	≤ 2/38	N/A	≥ 4/76
	Chloramphénicol	Phénicols	Moyenne	2 – 32	≤ 8	16	≥ 32
	Sulfisoxazole	Sulfamides	Moyenne	16 – 512	≤ 256	N/A	≥ 512
	Tétracycline	Tétracyclines	Moyenne	4 – 32	≤ 4	8	≥ 16

Bactérie	Antimicrobien	Classe	Importance en santé humaine	Intervalle de CMI testé (µg/ml)	Valeurs seuil de CMI*		
					S**	I**	R**
<i>Campylobacter</i> spp	Ciprofloxacine	Quinolones (2 <sup>e</sup> génération)	Très haute	0,015 – 64	≤ 1	2	≥ 4
	Télithromycine	Macrolides	Très haute	0,015 – 8	≤ 4	8	≥ 16
	Azithromycine	Macrolides	Haute	0,015 – 64	≤ 2	4	≥ 8
	Clindamycine	Lincosamides	Haute	0,03 – 16	≤ 2	4	≥ 8
	Érythromycine	Macrolides	Haute	0,03 – 64	≤ 8	16	≥ 32
	Gentamicine	Aminoglycosides	Haute	0,12 – 32	≤ 2	4	≥ 8
	Acide nalidixique	Quinolones (1 <sup>ere</sup> génération)	Haute	4 – 64	≤ 16	32	≥ 64

Bactérie	Antimicrobien	Classe	Importance en santé humaine	Intervalle de CMI testé (µg/ml)	Valeurs seuil de CMI*		
					S**	I**	R**
	Florfénicol	Phénicols	Moyenne	0,03 – 64	≤ 4	N/A	N/A
<i>Campylobacter spp</i>	Tétracycline	Tétracyclines	Moyenne	0,06 – 64	≤ 4	8	≥ 16

\* Valeurs utilisées pour la méthode de dilution en bouillon

\*\* S= sensible ; I= intermédiaire ; R= résistant

### 3.7.1 Résistance de *Salmonella* spp

La prévalence d'isolats de *Salmonella* spp résistants chez les bovins est variable suivant les pays. En 2017 au Québec, la prévalence d'isolats de *Salmonella* spp résistants à plus de trois classes d'antimicrobiens rapportée dans son rapport annuel par le Programme québécois d'antibiosurveillance vétérinaire était de 73% (141). Dans le même rapport 100% des isolats de *S. Dublin* étaient résistants à plus de 3 classes d'antimicrobiens contre 50% pour *S. Typhimurium*. Au Canada, en 2000, une étude rapportait une prévalence de 50 % pour 70 isolats de *S. Newport* d'origine bovine résistants à au moins 11 antimicrobiens (142). En 2014, aux É.-U. la prévalence d'isolats caecaux de *Salmonella* spp multirésistantes ( $\geq 3$  antimicrobiens) était de 18 % chez les bovins de boucheries et de 10,1 % chez les bovins laitiers (137). En Australie, en 2011, une étude a montré une prévalence de *Salmonella* spp multirésistantes de 13,2% (143). De plus, *S. Dublin* n'a montré aucune résistance dans cette étude en Australie, alors que les isolats de ce sérotype sont très résistants en Amérique du Nord et les antimicrobiens concernés sont d'une grande importance en santé humaine (Tableau V). En France, une étude a montré que 77,7 % des isolats bovins de *S. Typhimurium* présentaient une pentarésistance de type ACSSuT (ampicilline, chloramphénicol, streptomycine, sulfonamide, tétracycline) entre 2002-2007 (144)

**Tableau V. Prévalence de résistance aux antimicrobiens de *Salmonella* chez les bovins au Canada et aux États-Unis**

Bactérie	Type de bovins	Type d'échantillons	Nombre d'isolats testés	Prévalence (%)	Antimicrobiens concernés	Pays	Période	Références
<i>Salmonella</i> Dublin	Veaux de lait, veaux de grain, bouvillons et laitiers	Tissus et fèces, isolats	26	88	Au moins 4 classes	Québec/Canada	2011-2012	(14)*
	Tous	Fèces	178	71	<sup>c</sup> AMP, CHL, STR, SUL, TET, AMC	É.-U.	2002-2014	(137)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Laitiers (Adultes et veaux)	Fèces et tissus	3414	100	<sup>b</sup> AMP, AMC, CHL, NEO, TET	É.-U.	1989-1995	(27)
	Veaux de grain	Viande	9	55	<sup>a</sup> AMP, CHL, STR, SMX, TET	Ontario/Canada	2003-2004	(28)
	Tous	Indéterminé	103	55	<sup>a</sup> AMP, CHL, STR, SMX, TET	É.-U.	1995-1997	(145)

Bactérie	Type de bovins	Type d'échantillons	Nombre d'isolats testés	Prévalence (%)	Antimicrobiens concernés	Pays	Période	Références
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Veaux	Fèces	278	33	<sup>a</sup> AMP, AMC, CEP, CFF, STR, GEN, AMI, SUF, SXT, TET, CHL, NAL	USA	2006	(146)
	Veaux de grain	viande	21	29	<sup>a</sup> AMC, AMP, CFT, CFF, CFX, CEP, CHL, KAN, STR, SMX, TET, SXT	Ontario/Canada	2003-2004	(28)

AMP = Ampicilline, AMC = Amoxicilline- Acide clavulanique, CEP = Cephalothine, CFF = Ceftiofur, STR = Streptomycine, GEN = Gentamicine, AMI = Amikacine, SUF = Sulfisoxazole, SXT = Sulfamethoxazole-Trimethoprim, NEO= Néomycine, TET = Tetracycline, CHL = Chloramphenicol, NAL = Acide nalidixique; KAN=Kanamycine, SMX= Sulfamethoxazole, CFT= Céfoxitine, CFX= Ceftriaxone; SUL= Sulfonamide;

<sup>a</sup> : Résistance à au moins 1 des antimicrobiens listés; <sup>b</sup> : Résistance à tous les antimicrobiens listés

<sup>c</sup> : Résistance à la ceftriaxone et à au moins 1 des antimicrobiens listés

\* Informations apportées en complément à la référence : G. Côté, Communication personnelle, MAPAQ, 15-03-201

### 3.7.2 Résistance de *Campylobacter* spp

La prévalence de la résistance de *Campylobacter* spp aux antimicrobiens est variable. Une étude aux États-Unis chez les bovins d'embouche a montré qu'entre 1999-2000, la prévalence de résistance à au moins 1 antimicrobien était de 60% et de 19,6 % pour au moins 2 antimicrobiens (147). Selon la même étude, *C. coli* présentait une plus grande prévalence de résistance que *C. jejuni*. La même tendance a été observée dans d'autres études (Tableau VI).

**Tableau VI. Prévalence de résistance aux antimicrobiens de *Campylobacter* spp chez les bovins au Canada et aux Etats-Unis**

Bactérie	Type de bovins	Type d'échantillons	Nombre d'isolats testés	Prévalence (%)	Antimicrobiens concernés	Pays	Période	Références
<i>Campylobacter jejuni</i>	Embouche	Fèces	1162	38,1	<sup>a</sup> DOX, CIP, ERT, NAL	Alberta/Canada	2004	(148)
	Laitiers et embouche	Fèces	969	12,9	<sup>a</sup> CIP , ERT	É.-U.	2014	(137)
<i>Campylobacter coli</i>	Embouche	Fèces	21	71	DOX	Alberta/Canada	2004	(148)
	Laitiers Et embouche	Fèces	235	58	<sup>a</sup> CIP, ERT	É.-U.	2014	(137)
	Tous	Fèces tissus	123	54	<sup>a</sup> TET, AZT, TLT	Canada	2014	(15)
<i>Campylobacter</i> spp	Veaux de grain	Escalope	6	50	<sup>a</sup> AMP, TET	Ontario/Canada	2003-2004	(28)

---

Laitiers	Feces	532	52,6	<sup>a</sup> AZT, CIP, CHL, CLM, ERT, GEN, NAL, TET	É.-U.	2002	(149)
----------	-------	-----	------	---	-------	------	-------

---

TET = Tétracycline, AZT= azithromycine, TLT =Télithromycine, ERT= Erythromycine, CIP= Ciprofloxacine, CLM= Clindamycine, NAL = Acide nalixique, CHL= Chloramphénicol, GEN= Gentamycine, DOX= Doxycycline

<sup>a</sup> Résistance à au moins 1 des antimicrobiens listés

### **3.7.3 Résistance d'*E. coli* générique**

Dans plusieurs pays les *E. coli* génériques sont utilisés comme indicateurs de résistance pour leur ubiquité et leur capacité à acquérir des gènes de résistances qui peuvent être transmis aux autres bactéries (150). En 2017, au Québec, la prévalence d'isolats d'*E. coli* générique résistants à plus de trois classes d'antimicrobiens rapportée dans le rapport annuel du Programme québécois d'antibiosurveillance vétérinaire était de 31% (141). D'après les systèmes de surveillance canadien et américain, la prévalence de résistance d'*E. coli* générique à au moins un antimicrobien en 2014 variait entre 20 et 40 % chez les bovins (Tableau VII). Chez les veaux de lait, une étude réalisée en Ontario entre 2003-2005 sur des pièces d'escalope vendues au détail a révélé une prévalence d'isolats d'*E. coli* génériques résistants de 70 % pour 392 isolats (151). Dans cette étude, des multiples résistances ont été observées pour au moins 5 antimicrobiens à une prévalence d'isolats d'*E. coli* génériques résistants de 33 %.

**Tableau VII. Prévalence de résistance aux antimicrobiens de *E. coli* générique chez les bovins au Canada et aux Etats-Unis**

Bactérie	Type de bovins	Type d'échantillons	Nombre d'isolats testés	Prévalence (%)	Antimicrobiens concernés	Pays	Période	Références
<i>E. coli</i> générique	Tous	Fèces tissus	605	20	<sup>a</sup> TET, GEN, NAL	Canada	2014	(15)
	Embouche	Fèces	148	60	<sup>a</sup> AMP, AMC, CEP, CFF STR, GEN, AMI, SUZ, SXT, TET, CHL, NAL	Alberta/Canada	2004	(148)
	Veaux de grain	Escalope	1258	54,2	<sup>a</sup> AMC, AMP, CFT, CFF, CFX, CEP, CHL, KAN, STR, SMX, TET, SXT	Ontario/Canada	2003-2004	(28)
	Laitiers	Fèces	177	24	Au moins une classe	É.-U.	2014	(137)
	Embouche	Fèces	326	40	Au moins une classe	É.-U.	2014	(87)
	Embouche	Fèces	2379	98,5	Au moins une classe	Est Canada et É.-U.	2007-2010	(152)

AMP = Ampicilline, AMC = Amoxicilline- Acide clavulanique, CEP = Cephalothine, CFF = Ceftiofur, STR = Streptomycine, GEN = Gentamicine, AMI = Amikacine, SUF = Sulfisoxazole, SXT = Sulfamethoxazole-Trimethoprim, NEO= Néomycine, TET = Tetracycline, CHL = Chloramphenicol, NAL = Acide nalidixique; KAN=Kanamycine, SMX= Sulfamethoxazole, CFT= Céfoxitine, CFX= Ceftriaxone; SUZ= Sulfadiazine

<sup>a</sup> Résistance à au moins 1 des antimicrobiens listés

## **4 Facteurs de risque de développement et de dissémination de la résistance aux antimicrobiens des bactéries entériques zoonotiques chez les veaux de lait**

Selon l’OMS un facteur de risque est tout attribut, caractéristique ou exposition d’un sujet qui augmente la probabilité de développer une condition ou issue (153). Dans le cas de la RAM, les facteurs de risque peuvent être définis comme des facteurs conduisant à une sélection importante de bactéries résistantes (138). Cette définition traduit à la fois le développement d’une résistance chez une bactérie pathogène et le développement des gènes de résistances chez les bactéries commensales non pathogènes pouvant être transmis à des bactéries pathogènes. Selon les facteurs de risques identifiés en France par l’Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail (ANSES) (138), les facteurs de risques de développement des résistances peuvent être subdivisés en facteurs liés à l’usage des antimicrobiens et les facteurs favorisants.

### **4.1 Usage d’antimicrobiens**

Toute utilisation d’antimicrobiens présente le risque de sélectionner, amplifier et disséminer la résistance bactérienne (138). Cependant, certaines pratiques présentent un risque plus élevé. L’usage d’antimicrobiens comme facteur de risque fait intervenir :

- La classe ou famille d’antimicrobiens : les familles d’antimicrobiens qui ont une élimination intestinale (bêtalactames, fluoroquinolones, macrolides) sont susceptibles d’entraîner des résistances chez les entérobactéries. En effet, chez le porc, l’administration par voie intramusculaire de bêtalactamines (amoxicilline, ceftiofur, cefquinome) et de quinolones (fluméquine) aux doses recommandées conduit à amplifier la proportion *E. coli* résistantes chez animaux traités (154, 155) ;
- La voie d’administration (orale, parentérale) : Une étude menée chez le poulet par l’utilisation de l’enrofloxacin par voies orale et parentérale a montré que la résistance de *E.coli* était plus élevée chez les animaux traités par voie orale que par voie parentérale (156).

- Le type de traitement (préventif, métaphylactique, curatif) : Les traitements collectifs préventifs (pour prévenir les infections chez les animaux sains) ou métaphylactiques (ciblant dans un groupe les animaux malades, ceux en potentielle incubation et ceux encore sains) sont plus susceptibles d'entraîner de développement de résistances que le traitement d'un nombre limité d'individus au sein d'un troupeau d'animaux comme l'ont démontré Kanwar *et al.* (157) dans l'étude de la résistance du microbiote intestinale de bouvillons traités au ceftiofur ;
- La posologie (dose et durée de traitement) : le sous-dosage favorise le développement de résistance des bactéries. Dans une étude réalisée au Canada l'administration sub-thérapeutiques de tétracycline (350 mg/kg/j) chez les bouvillons entraînait le développement de résistance chez *Campylobacter hyoinstestinalis* (158). En médecine humaine il a été constaté dans un essai clinique randomisé impliquant l'utilisation de l'amoxicilline chez l'enfant en République Dominicaine que le risque d'isolement de *Streptococcus pneumoniae* résistant était plus important avec une dose de 40 mg/kg pendant 10 jours qu'avec 90 mg/kg pendant 5 jours (159) ;
- La fréquence d'utilisation des antimicrobiens : Une utilisation fréquente d'antimicrobiens favorise le risque de développement de résistances en relation avec la pression de sélection. En effet une étude longitudinale réalisée en Belgique chez les bovins a montré une forte relation entre la fréquence des traitements et les profils de résistances à 12 agents antimicrobiens chez *E. coli* et *Pasteurella* spp (160).

Un indicateur quantitatif pour apprécier l'usage d'antimicrobiens est le *Animal Daily dose* (ADD) qui correspond à la dose journalière (en mg) recommandée pour traiter un kilogramme de poids vif (161, 162). Ainsi le nombre d'ADDs correspond au nombre de doses journalières recommandées qui ont été administrées pendant la durée d'exposition pour traiter un kilogramme de poids vif. On exprime le nombre d'ADDs en multiple ou proportion de l'ADD soit par exemple 1 ADD, 2 ADDs, 10 ADDs, 0,5 ADDs etc (138, 161). Certaines études rapportent aussi cet indicateur en nombre d'ADDs par animal par unité de temps ou par cycle de production (118, 163).

Un autre indicateur utilisé pour évaluer l'usage des antimicrobiens chez les veaux est le nombre de traitement par animal par cycle de production en considérant un traitement comme l'utilisation d'un seul principe actif d'antimicrobien à la dose prescrite pendant toute

la durée d'élevage (164). Le nombre de jours de traitement par animal par an a aussi été utilisé comme indicateur d'exposition des animaux à l'usage des antimicrobiens (165). La quantité d'antimicrobiens consommés (kilogramme ou tonne) ajustée au poids moyen des animaux est aussi utilisée comme indicateur d'usage d'antimicrobiens (15).

## 4.2 Facteurs favorisants

Les facteurs favorisants sont définis comme des facteurs qui favorisent l'introduction et/ou le développement des bactéries dans les élevages, augmentant ainsi le recours aux antimicrobiens (138). Dans certains cas, les bactéries introduites peuvent être déjà porteuses de résistance.

**Régie d'hygiène et de biosécurité dans les élevages :** (nettoyage-désinfection, gestion des fumiers, gestion des rongeurs, contact avec les oiseaux, infections intercurrentes). Bosman *et al.* (118) ont rapporté dans une étude réalisée en Hollande chez les veaux de boucherie que l'utilisation des mêmes vêtements de travail pendant plusieurs jours est associée à l'augmentation de la prévalence de résistance d'*E. coli* à la ciprofloxacine et à la tétracycline. Duse *et al.* (166) ont rapporté que le manque d'hygiène dans les élevages de bovins était associé à une augmentation de la prévalence de *E. coli* résistant aux quinolones.

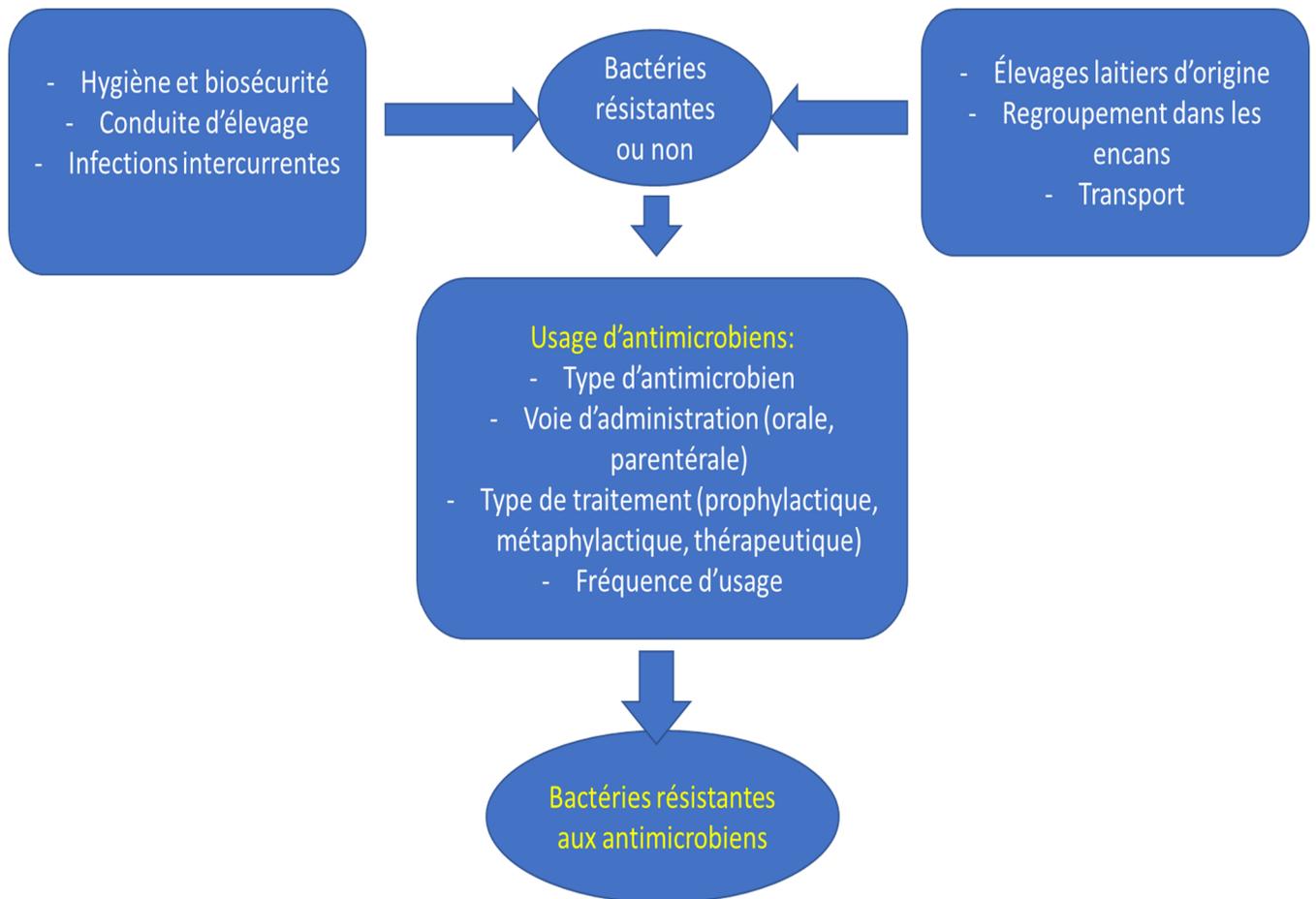
**Régie d'élevage :** (taille des troupeaux, logement individuel ou en parc, alimentation, âge des animaux). Bosman *et al.* ont rapporté que la prévalence de la résistance d'*E. coli* à la ciprofloxacine était plus faible dans les fermes de grande taille (118). Duse *et al.* (167) que la résistance d'*E. coli* à l'acide nalidixique et la streptomycine chez les veaux laitiers était plus faible dans les fermes de petite taille dans une étude en Suède. Pereira *et al.* (168) ont rapporté que la proportion d'*E. coli* résistant à la ciprofloxacine et l'acide nalidixique était plus élevée chez les veaux laitiers en logement collectif que chez les veaux en logement individuel tandis que les veaux en logement individuel présentaient une proportion d'*E. coli* résistant plus élevée à l'ampicilline, le ceftiofur, la gentamycine, la streptomycine, et la tétracycline dans une étude réalisée aux États-Unis. Gow *et al.* (169) rapportent au Canada que l'âge des veaux influence la résistance aux antimicrobiens chez *E. coli*. Les veaux d'âge inférieur ou égal à 3 jours étaient plus susceptibles d'héberger les *E. coli* résistants à la tétracycline que les veaux âgés de plus de 10 jours.

**Origine géographique des veaux (ferme laitière) :** Duse *et al.* (167) ont rapporté dans leur étude en Suède que la résistance d'*E. coli* à l'acide nalidixique chez les veaux laitiers était associée à la situation géographique de la ferme. Berge *et al.* (170) rapporte dans leur étude aux Etats-Unis une association entre la situation géographique des bovins (veaux et adultes) et la multirésistance d'*E. coli*. Dans cette étude la multirésistance d'*E. coli* était plus élevée dans les fermes de Californie comparée aux fermes de Washington ou d'Oregon.

**Regroupement d'animaux dans les encans :** Une analyse de réseau en Grande Bretagne a indiqué que les marchés de bovins constituaient un vecteur de transmission des pathogènes à cause de la promiscuité entre animaux venant de divers horizons (171). Les bactéries porteuses de résistances peuvent alors circuler entre les animaux regroupés dans les marchés. Aussi les marchés sont des lieux souvent contaminés par des bactéries (172) qui peuvent être porteuses de résistances.

**Transport d'animaux :** Duse *et al.* (166) ont rapporté que le partage des véhicules de transport entre les fermes bovines augmentait le risque de résistance de *E. coli* aux quinolones chez les bovins laitiers.

La figure 1 ci-dessous synthétise les différents facteurs de risque possibles pour la résistance aux antimicrobiens des bactéries entériques zoonotiques chez les veaux de lait.



**Figure 1. Facteurs de risque de développement et propagation de la résistance aux antimicrobiens des bactéries entériques zoonotiques chez le veau de lait (adaptée de (138))**

## II. Article scientifique

L'article qui suit est en préparation pour être soumis pour publication chez Preventive Veterinary Medicine. Le 1<sup>er</sup> auteur qui est le candidat de ce mémoire de maîtrise a collecté les données sur le terrain (échantillons et questionnaire), a fait les analyses de données et écrit l'article.

**Prevalence and risk factors for antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Salmonella* Dublin and *Campylobacter* spp in milk-fed veal calves from Quebec, Canada**

E Tchamdja<sup>a\*</sup>, P Turgeon<sup>a,b</sup>, G Côté<sup>c</sup>, P Fravallo<sup>a</sup>, S Buczinski<sup>d</sup>, W P Thériault<sup>a</sup>, E J Parmley<sup>e</sup>, J Arsenault<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Epidemiology of Zoonoses and Public Health Research Unit, Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada*

<sup>b</sup> *Public Health Agency of Canada - National microbiology laboratory, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada*

<sup>c</sup> *Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec – Direction générale des laboratoires et de la santé animale, Quebec city, Quebec, Canada*

<sup>d</sup> *Département des sciences cliniques, Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada*

<sup>e</sup> *Public Health Agency of Canada - Centre for Foodborne, Environmental and Zoonotic Infectious Diseases, Guelph, Ontario, Canada*

\* Corresponding author

Eyaba Tchamdja

3200, rue Sicotte

Saint-Hyacinthe, Québec, Canada, J2S 2M2

*E-mail address:* [eyaba.tchamdja@umontreal.ca](mailto:eyaba.tchamdja@umontreal.ca)

*Abbreviations:* AMR, Antimicrobial resistance; CAD, Canadian dollar; CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute; CRSV, Chair de recherche en salubrité des viandes; IU, International Unit ; MAPAQ, Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec; MIC, minimum inhibitory concentration; NARMS, National Antimicrobial Resistance Monitoring System, United States; OIE, World Organization for Animal Health; PHAC, Public Health Agency of Canada; RVS, Rappaport Vassiliadis Soya; TBG, Tetrathionate Brillante Green; TCV, Tetrathionate Crystal Violet.

## Abstract

Antimicrobial resistance (AMR) is a serious public and animal health concern in Canada. Food animal production such as raising milk-fed calves could contribute to the selection of resistant bacteria through use of antimicrobial drugs. The objectives of this study carried out in milk-fed veal calves raised in Quebec (Canada) were to (i) estimate at the isolate level the prevalence and patterns of AMR in post-mortem fecal isolates of generic *Escherichia coli*, *Salmonella* Dublin and *Campylobacter* spp, and using *E. coli* as indicator of antimicrobial resistance selection pressure (ii) evaluate at the batch level the association between antimicrobial drug use and specific resistance in *E. coli*, and (iii) investigate at the batch level the potential risk factors for multidrug resistance in *E. coli*. The batch was a group of calves reared in one or multiple chambers of the farm at the same time and slaughtered together. Samples were collected from August 2016 to October 2017 and *E. coli*, *S. Dublin*, and *Campylobacter* spp isolates were submitted for antimicrobial susceptibility testing. A questionnaire was administered to evaluate drug use, farm characteristics, production system type, animal movement and biosecurity practices. Among *E. coli* isolates, the prevalence of resistance to one or more antimicrobials ( $\geq 1$ -AMR) was 87.8%. The prevalence of isolates displaying multidrug resistance to 3 or more antimicrobial classes ( $\geq 3$ -MDR) and 5 or more antimicrobial classes ( $\geq 5$ -MDR) was 77.0% and 52.7%, respectively. All *S. Dublin* isolates demonstrated resistance to  $\geq 5$ -MDR. Among *Campylobacter* isolates, 85.7% were  $\geq 1$ -AMR and 7.1% were  $\geq 3$ -MDR. No *Campylobacter* isolate were  $\geq 5$ -MDR. Taking into consideration the three bacteria examined, resistance to tetracycline was from 78.6 to 100%. The use of polypeptides (bacitracin) was protective for *E. coli* resistance to ampicillin (OR=0.08, 95% CI: 0 - 0.07, p=0.02) and tetracycline (OR=0.2, 95% CI: 0.04 - 0.9, p=0.05). The small batches ( $\leq 300$ ) was significantly associated with increased odds of  $\geq 5$ -MDR in *E. coli* (OR=3.3, 95% CI: 1.2 - 8.5, p=0.02) compared to large batches ( $>300$ ). This study provides insight into the current situation and potential drivers for AMR in *E. coli* from milk-fed veal calves in Quebec and the findings will help guide the setting up of AMR control measures in the industry.

*Keywords:* Antimicrobial resistance; *Salmonella* Dublin; *Campylobacter* spp; *Escherichia coli*; milk-fed veal; antimicrobial drug use.

## **Introduction**

The production of milk-fed veal calves is an important economic activity in Québec, Canada; 147 000 veal calves are produced annually with a farm gate value of CAD 135 million (Gouvernement du Québec, 2015; Les Producteurs de bovins du Québec, 2018b). Milk-fed calves are mostly Holstein males, initially purchased directly from dairy farms or livestock auction markets at 1-10 days of age (Les Producteurs de bovins du Québec, 2018b). They are reared on veal farms for an average of 20 weeks and fed a milk based and limited fiber diet (Les Producteurs de bovins du Québec, 2018b). The production of milk-fed veal is intensive and because of infection constraints antimicrobials are used for preventive and therapeutic purposes possibly leading to resistance, particularly in enteric bacteria (Cameron and McAllister, 2016). In Canada antimicrobial drugs are used in milk-fed veal calves generally to treat and prevent enteric, respiratory and navel infections (Renaud et al., 2018).

Milk-fed veal calves can be carriers of zoonotic *Salmonella enterica* serotype Dublin (*S. Dublin*) and *Campylobacter* spp in addition to commensal *Escherichia coli*. Humans can be exposed to these zoonotic bacteria through consumption or handling of contaminated food, or through direct contact with animals or their environment (Croxen et al., 2013; Woolhouse et al., 2015). Commensal *E. coli* resides naturally in the intestinal tracts of animals and humans. They can serve as indicators of antimicrobial resistance selection pressure due to their ability to readily acquire resistant genes which can be horizontally transferred to other enteric bacteria (Sørum and Sunde, 2001; Cameron and McAllister, 2016). In addition, resistance acquired by commensal *E. coli* in animals can be transferred to humans (Grasselli et al., 2008). *S. Dublin* serotype is known to be more invasive than other serotypes of *Salmonella* (Helms et al., 2003). In calves, *S. Dublin* causes severe enteritis and systemic infections resulting in pneumonia, polyarthritis and mortality (McDonough et al., 1999; Costa et al., 2012). In humans, although *S. Dublin* infection can present as a self-limiting gastrointestinal illness, some individuals will manifest septicemia which may lead to death (Crump et al., 2015; Harvey et al., 2017). *Campylobacter* causes

a self-limiting acute gastroenteritis in humans (Bibaht et al., 1984; Bauerfeind et al., 2016). In calves, *Campylobacter* appears to be commensal (Sahin et al., 2017) although it has been associated with a mild, self-limiting enteritis characterized by thick mucoid feces in experimentally infected animals (Warner and Bryner, 1984).

Studies conducted in Ontario (Canada) by Cook *et al.* (2011a; 2011b) showed that veal meat is often contaminated with antimicrobial resistant strains of *E. coli*, *Salmonella* and *Campylobacter*. Since 2011, the milk-fed veal industry and public health organisations in Quebec have been faced with the emergence of multidrug-resistant strains of *S. Dublin* in calves and humans, underlining the public health importance of these bacteria (Bekal et al., 2014). A better knowledge of the risk factors associated with resistant bacteria in milk-fed veal calves could help to guide AMR prevention and control measures to protect human health and milk-fed veal industry. Little is known of the risk factors associated with AMR in milk-fed veal calves. Studies on prevalence and risk factors associated with AMR in enteric bacteria in calves have been reported for feedlot cattle from Alberta, Canada, (Rao et al., 2010), milk-fed veal calves from the Netherlands (Bosman et al., 2014) and dairy calves from Sweden and United States (Pereira et al., 2014; Duse et al., 2015a, b). Risk factors investigated in these studies included antimicrobial drug use and certain factors such as hygiene and biosecurity, herd size, type of diet, geographic location of farms, housing characteristics, antimicrobial treatments in dairy cows and animal transport sharing. The role of other factors such as auction markets, grouping points that foster direct contact between calves increasing the risk of transmission of pathogens and antimicrobial resistance, and downtime, the time between batches during which barns are empty after cleaning and disinfection, were not examined.

The objectives of this study were to (i) estimate the prevalence and patterns of AMR in *E. coli*, *S. Dublin* and *Campylobacter* spp isolated from milk-fed veal calves slaughtered in Quebec (Canada), and using *E. coli* as indicator of antimicrobial resistance selection pressure (ii) estimate the association between antimicrobial drug use and specific resistance in *E. coli*, and (iii) investigate potential risk factors associated with multidrug resistance (MDR) in *E. coli*.

## 1. Materials and methods

### 1.1. Sample collection and bacterial isolation

Samples from milk-fed calves were collected in two abattoirs in the province of Quebec (Canada) from August 2016 to October 2017. Each abattoir was visited at most once a week on Monday or Tuesday. During each visit, one or two batches were sampled. The batch was a group of calves reared in one or multiples chambers of the farm at the same time and slaughtered together. At the batch level the target sample size was 100 batches according to the budget available. At the animal level the required sample size ( $n= 10$ ) was estimated based on a predicted intra-batch fecal prevalence of *S. Dublin* of 2.5% (Nielsen, 2013) for an expected batch size of 300 calves (Les Producteurs de bovins du Québec, 2018b) with a confidence level of 95% and a precision of 10% . For each batch, the first eleven calves on the slaughter line were selected.

From each selected veal calf, a caecal content sample was collected aseptically from the whole caecum removed and sent to the laboratory. For 10 of the 11 selected calves per batch, one mesenteric lymph node (10 grams) and a carcass swab were also taken. Only caecal samples were collected for the 15 first batches because the laboratory was not ready to receive lymph node and carcass swab samples. Carcass swabbing was done with two 30x30 centimeter pieces of hydrophilic gauze, each moistened with 10 milliliters of saline solution (0.85% NaCl). Each half carcass (inside and outside) was wiped with one piece of the gauze for about 30 seconds. All samples were placed inside stomacher sterile bags (Nasco Whirl-Pak<sup>®</sup>, Canada), kept in a cooler with icepacks and sent to the laboratory within 24 hours.

Ten of the 11 caeca collected per batch, all lymph nodes and all carcass swabs were sent to the laboratory of Chair de recherche en salubrité des viandes (CRSV) at the Faculté de médecine vétérinaire – Université de Montréal (Saint-Hyacinthe, Quebec, Canada) for *Salmonella* isolation. Samples were cultured for isolation of *Salmonella* spp using Tetrathionate Crystal Violet (TCV) broth in addition to the Rappaport Vassiliadis Soya (RVS) and Tetrathionate Brillante Green (TBG) broths. *Salmonella* was identified using biochemical and Poly A-I+Vi antiserum testing. Suspect *Salmonella* isolates were sent to the OIE *Salmonella* Reference Laboratory at the Public Health Agency (PHAC) of

Canada's National Microbiology Laboratory at Guelph, Ontario, Canada, for confirmation and serotyping using established methods (Shipp and Rowe, 1980; Ewing, 1986). The serotypes were named as per the antigenic formulae listed by Grimont (2007). The remaining caecum (one per batch) was sent to the Canada's National Microbiology Laboratory at Saint-Hyacinthe for *E. coli* and *Campylobacter* spp isolation which was performed according to standard protocols described by the Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) (Government of Canada, 2015).

## **1.2. Antimicrobial susceptibility testing**

For the three bacterial types, one isolate per positive sample was submitted for antimicrobial susceptibility testing using broth microdilution as previously described (Government of Canada, 2015) to the Canada's National Microbiology Laboratory. The panel of antimicrobials tested and their respective minimum inhibitory concentration (MIC in milligrams per milliliter) breakpoints for *E. coli* and *S. Dublin* resistance were the following (with intermediate isolates classified as susceptible): amoxicillin-clavulanic acid (AMC)  $\geq 32$ ; ampicillin (AMP)  $\geq 32$ ; azithromycin (AZT)  $\geq 32$ ; cefoxitin (CFT)  $\geq 32$ ; ceftriaxone (CFX)  $\geq 4$ ; chloramphenicol (CHL)  $\geq 32$ ; ciprofloxacin (CIP)  $\geq 1$ ; gentamicin (GEN)  $\geq 16$ ; meropenem (MER)  $\geq 4$ ; nalidixic acid (NAL)  $\geq 64$ ; streptomycin (STR)  $\geq 32$ ; sulfisoxazole (SUL)  $\geq 512$ ; tetracycline (TET)  $\geq 16$ ; trimethoprim-sulfamethoxazole (TSX)  $\geq 4$ .

The panel of antimicrobials tested and their respective MIC (in milligrams per milliliter) breakpoints for *Campylobacter* spp resistance were the following (with intermediate isolates classified as susceptible): azithromycin (AZT)  $\geq 8$ ; ciprofloxacin (CIP)  $\geq 4$ ; clindamycin (CLI)  $\geq 8$ ; erythromycin (ERY)  $\geq 32$ ; florfenicol (FLO)  $> 4$ ; gentamicin (GEN)  $\geq 8$ ; nalidixic acid (NAL)  $\geq 64$ ; telithromycin (TEL)  $\geq 16$ ; tetracycline (TET)  $\geq 16$ .

The antimicrobial tested are those of importance in human medicine from a public health perspective as ranked by Health Canada (Government of Canada, 2009, 2015). When available for an antimicrobial the MIC breakpoints set by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) were used as reference by the CIPARS laboratories (CLSI, 2012; Government of Canada, 2015). When not available for an antimicrobial the MIC breakpoints were based on the distribution of MICs set by the CIPARS and harmonized

with those of the National Antimicrobial Resistance Monitoring System of United States (NARMS).

### **1.3. Data collection on antimicrobial drug use and farm management practices**

A questionnaire on management practices (biosecurity, housing characteristics, downtime) and antimicrobial drug use for the sampled batches was developed by the project team members and pre-tested for clarity of content, completeness and time of completion by two field veterinarians and two veal farm managers. This questionnaire was completed after slaughter by animal health technicians in charge of the sampled farms.

Data on antimicrobial drug use were retrieved from existing farm records. For each use, the antimicrobial name (brand and active ingredient), the type of treatment (multiple or individual animals), the administration route (in-feed or by injection), the dose, the duration of use, the number of doses per day and the animal identification (in the case of individual treatment) were recorded. The number of treatments in the case of collective treatments and the number of animals treated in the case of individual treatments were reported. The antimicrobial drug use was converted into animal daily doses (ADDs) for each drug according to the recommended daily doses and the typical calf weight at the time of treatment as provided by the farm veterinarian. One ADD represents the recommended daily amount of active ingredient necessary to treat one kilogram of body weight. Full details about ADD calculations are given elsewhere (Jensen et al., 2004; European medicines agency, 2015).

Data on animal movement were obtained from the cattle traceability program (Agri-Traçabilité Québec) of the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). This program assigns a unique identification number to each calf that allows all calf movements, from the farm of origin to the slaughterhouse, to be traced. Data retrieved from the database for each calf included birth place (Quebec, other province of Canada, USA) and the transit through grouping points (auction markets, sorting centers).

### **1.4. Data analysis**

The prevalence with 95% confidence intervals of resistant *E. coli*, *S. Dublin* and *Campylobacter* spp isolates was estimated for each tested antimicrobial. For *S. Dublin*, the

prevalence of resistant isolates was estimated separately for each type of sample (caecal, carcass swabs and lymph node), with adjustment for potential clustering of isolates within batches. An isolate was considered resistant to the antimicrobial class if it was resistant to at least one antimicrobial within that class. An isolate was considered as MDR if it was resistant to at least 3 antimicrobial classes. The MDR prevalence of isolates displaying resistance to  $\geq 3$ ,  $\geq 5$  and  $\geq 7$  classes of antimicrobials was estimated for the three different bacterial genera. As only one *E. coli* isolate was retrieved per batch, the batch was classified as resistant or MDR if the *E. coli* isolate was resistant or MDR. The *surveyfreq* procedure of SAS software version 9.4 was used to calculate prevalence and confidence intervals (SAS Institute Inc, Cary, USA).

Potential associations between antimicrobial drug use and resistance in *E. coli* were investigated with univariable logistic regression models performed at the batch level using *genmod* procedure of SAS software version 9.4. The outcome was batch resistance (yes/no) to the antimicrobial of interest and the predictor was use of an antimicrobial of the same class, with each administration route considered separately. A robust variance estimate was used to take into account the potential clustering of batches within farms. To assess the inhibition of resistance to ampicillin and tetracycline by bacitracin as reported by Mathers et al. (2004), heterologous associations between the use of polypeptides and resistance to ampicillin and tetracycline were also performed. The antimicrobial drugs administered for collective as well as individual treatments were grouped by antimicrobial class according to the administration route (Table 2). For each antimicrobial class, the ADDs were divided by the batch size giving the number of ADDs per animal. The number of ADDs per animal was categorized as follows: if  $\leq 50\%$  of the batches used the antimicrobial drug class, then the ADDs per animal were dichotomized as 0 ADD (not used) and  $>0$  ADDs (used) ; if  $>50\%$  of batches used the antimicrobial drug class, then the ADDs per animal were categorized into 3 groups as 0 ADD (not used), smaller than the median value of batches using the drug class (low use) and higher than or equal to the median value of batches using the drug class (high use).

To evaluate the potential risk factors for  $\geq 5$ -MDR in *E. coli*, a total of 9 factors were considered at the batch level (Table 4). The risk factors were first tested in univariable logistic regression models. Factors with a p-value  $\leq 0.2$  were included in a full multivariable

logistic regression model. A backward selection procedure was used to select the final model using a  $p > 0.05$  as rejection criteria; however, a variable considered as potential confounder based on the Directed Acyclic Graph (Figure S1) was only removed if it did not affect the coefficient of other significant variables present in the model by  $>20\%$ . A robust variance was used to take into account the potential clustering of batches within farms. The *genmod* procedure of SAS version 9.4 was used.

For all analyses performed an alpha value of 0.05 was used to determine statistical significance.

## 2. Results

A total of 67 visits to abattoirs were completed over the study period. These visits yielded samples from 647 veal calves within 74 batches from 52 farms (Table 1). The mean batch size was of 329 (minimum = 87, maximum=747, median=288). A total number of types of sample was respectively of 545 for caecal content, 549 for lymph nodes and 565 for carcass swabs. The questionnaire was filled out by technicians for 71 batches; 41 of these questionnaires (57.7%) were completed fully without missing data. The records on antimicrobial drug use were obtained for 51 batches. For the calves' birth place, 34 239 (98,8%) out of 34 648 calves (those sampled and their congeners of the same batch) were traced. For the calves' transit through the grouping points, all 34 648 calves (those sampled and their congeners of the same batch) were traced.

### 2.1. Bacterial isolates

*E. coli* was recovered from 74 caecal content samples (one for each batch sampled).

A total of 119 *Salmonella* isolates were recovered. *S. Dublin* (n=36) was the most frequently encountered serotype followed by Typhimurium (n=25), Heidelberg (n=18), I:4,5,12:I:- (n=14), Typhimurium var Copenhagen (n=13), Derby (n=5), Thompson (n=3), Agona (n=2), Cerro (n=1), Enteritidis (n=1) and Kentucky (n=1). The 36 isolates of *S. Dublin* included 7 isolates from the caecal samples, 18 isolates from the lymph nodes and 11 isolates from the carcass swabs. *S. Dublin* isolates were found in 4.5% (31/647) of veal calves, 10.8% (8/74) of batches and 11.5% (6/52) of farms.

Fourteen isolates of *Campylobacter* were recovered from 74 caecal samples tested, representing 14 (18.9%) of the 74 batches. The *Campylobacter* isolates included 7 isolates of *C. jejuni*, 6 isolates of *C. coli* and 1 mixed isolate of *C. jejuni/C. coli*.

## 2.2. Antimicrobial susceptibility

The prevalence of antimicrobial resistance in *S. Dublin*, *Campylobacter* spp and *E. coli* isolates is presented in Table 1 and Figures 2, 3 & 4.

In *E. coli* the prevalence of resistance to one or more antimicrobials ( $\geq 1$ -AMR) was 87.8%. The prevalence of 3 classes or more MDR ( $\geq 3$ -MDR) and 5 classes or more MDR ( $\geq 5$ -MDR) was 77% and 52.7%, respectively. Resistance of *E. coli* to category I drugs was observed for amoxicillin-clavulanic acid (5.4%), ceftriaxone (9.5%), ciprofloxacin (12.2%); no resistance was observed for meropenem. Individual antimicrobial resistance was most often observed to tetracycline (79.7%), sulfisoxazole (77%), streptomycin (70.3%), ampicillin (63.5%) and chloramphenicol (62.2%). Forty different unique AMR patterns *E. coli* were observed in *E. coli* (Table S1). The 3 most common AMR patterns were AMP-CHL-STR-SUL-TET-TSX (18.9%) followed by AMC-AMP-CFT-CFX-CHL-NAL-STR-SUL-TET (6.7%) and TET alone (4.1%). The penta-resistance pattern AMP-CHL-STR-SUL-TET (ACSSuT) was observed alone or in combination with other antimicrobials (43.2%).

All *S. Dublin* isolates displayed resistance to  $\geq 5$  classes ( $\geq 5$ -MDR). All isolates were resistant to nalidixic acid, streptomycin, sulfisoxazole and tetracycline. Resistance to Category I antimicrobials, (very high importance in human medicine) was observed in 85.7% of isolates for amoxicillin-clavulanic acid and ceftriaxone and 14.3% of isolates were resistant to ciprofloxacin. There was a high prevalence in *S. Dublin* (85.7%) for AMC, AMP, CFX, CFT and CHL (Figure 3). This profile is typical of co-resistance in the presence of the plasmid-mediated beta-lactamase blaCMY-2 gene linked to ceftiofur resistance (Allen and Poppe, 2002; Doublet et al., 2004; Liebana et al., 2004). No isolates were resistant to meropenem (Category I) or to azithromycin, gentamycin and trimethoprim-sulfamethoxazole (all Category II). Three different patterns of AMR were observed in *S. Dublin* isolates (Table S2). The penta-resistance pattern (ACSSuT) was

observed in combination with other antimicrobials (71.4%) and the most common pattern was AMC-AMP-CFT-CFX-CHL-NAL-STR-SUL-TET (71.4%).

Among the *Campylobacter* spp isolates, the prevalence of resistance to  $\geq 1$ -AMR was 85.7%. The prevalence to  $\geq 3$ -MDR was 7.1%, and no isolates showed  $\geq 5$ -MDR. Resistance was most common to tetracycline (78.6%) followed by ciprofloxacin (57.1%) and nalidixic acid (57.1%). Among Category I antimicrobials, 57.1% of *Campylobacter* spp isolates were resistant to ciprofloxacin and 7.1% were resistant to telithromycin. No *Campylobacter* spp resistance was observed to gentamycin (Category II) or florfenicol (Category III). There were 4 different AMR patterns detected among the *Campylobacter* spp isolates recovered (Table S3). The most common patterns were CIP-NAL-TET (42.8%) followed by TET alone (28.6%).

### **2.3. Antimicrobial drug use and antimicrobial resistance in *E. coli***

The antimicrobial drug use is presented in Table 2. The three antimicrobial drug classes most frequently used were sulfonamides by in-feed route (80.8% of batches) followed by aminoglycosides (78.7% of batches) and tetracyclines (76.6% of batches). The least frequently reported antimicrobial drug class was synergistins (4.3% of batches). The antimicrobial drug classes that were used in-feed presented mean ADDs/animal ranged from 0.9 (pleuromutilins) to 211.2 (polypeptides) for the batches that reported using the drug class. The sulfonamides were administered in-feed at 26.6 ADDs/animal, aminoglycosides at 21.7 ADDs/animal, and tetracyclines at 16.2 ADDs/animal. The antimicrobial drug classes that were used by injection presented mean ADDs/animal ranging from 0.1 (phenicols and penicillins) to 1.9 (lincosamides-aminoglycosides) for the batches that reported using the drug class.

Results of associations between antimicrobial drug use and resistance in *E. coli* are presented in Table 3. Significant negative associations were observed between the use of polypeptides and resistance to ampicillin (OR=0.08) and resistance to tetracycline (OR=0.2).

#### **2.4. Risk factors associated with multidrug resistance in *E. coli***

The distribution of potential risk factors associated with  $\geq 5$ -MDR in *E. coli* are presented in Table 4. Only batch size was significantly associated with multidrug resistance; small batches ( $\leq 300$ ) were more likely to have  $\geq 5$ -MDR *E. coli* than large batches ( $> 300$ ) (OR=3.3).

### **3. Discussion**

#### **3.1. Prevalence and patterns of AMR in *E. coli*, *S. Dublin*, and *Campylobacter* spp**

In *E. coli* isolates, resistance to  $\geq 1$ -AMR was detected in more than 87% of isolates. This prevalence is higher than that reported in fecal *E. coli* in Alberta feedlots cattle (74.4%) (Rao et al., 2010). It is also higher than previously published results from feedlots cattle (31%) and in cow-calf operations (12%) reported in Ontario for fecal *E. coli* (Carson et al., 2008). The prevalence of MDR in this study ( $\geq 3$ -MDR; 77% of isolates) was also higher than the 31% previously reported in Quebec for *E. coli* of bovine source (Gouvernement du Québec, 2017). The results of the current study are similar to those was observed in Ontario (Canada) where the *E. coli* isolated from milk-fed veal meat tended to carry greater individual and multidrug resistance than grain-fed veal and beef meats (Cook et al., 2011a). The main factor that could explain the high prevalence of AMR and MDR in milk-fed veal calves is their younger age at slaughter (about 20 weeks). At this age milk-fed calves may still have sub-optimal immune and physiological function that results in greater susceptibility to infection and thus contributes to greater antimicrobial drug use than in other bovine production systems (Berge et al., 2005). In addition, the high prevalence of resistance in calves could be explained by presence of young-adapted resistant *E. coli* which display a fitness advantage over non resistant *E. coli* (Khachatryan et al., 2004). Another factor that could explain the higher resistance in veal calves than beef or dairy calves is the system in which the former are raised. Rearing of the milk-fed veal calves is a higher-throughput than that of beef or female dairy calves resulting in a greater occurrence of infections and thus requiring greater antimicrobials use to maintain the animal' health, growth performance and welfare (Cameron and McAllister, 2016).

All *E. coli* isolates were susceptible to meropenem (a carbapenem antimicrobial). In the US, NARMS has not reported any resistance of *E. coli* resistance to carbapenem in bovine

sources (Government of United States, 2014). Resistance of *E. coli* to other category I antimicrobials was observed in this study, but did not exceed 13%. This level of resistance to category I antimicrobials is greater than that we would have expected when taking into consideration the resistance reported in *E. coli* isolated from Ontario milk-fed veal calves (Cook et al., 2011a). In the study conducted in Ontario the prevalence of resistance to amoxicillin-clavulanic acid was 6.1% (almost similar to the 5.4% observed in this study), the prevalence of resistance to ciprofloxacin was 3.8 % (less than the 12.6% observed in this study) and the prevalence of resistance to ceftriaxone was 3.6% (less than the 9.5% observed in this study).

All *S. Dublin* isolates in our study were  $\geq 5$ -MDR. This is similar to the provincial surveillance results recently reported for Québec in 2017 for *S. Dublin* isolated from all bovine types (beef, dairy and veal) (Gouvernement du Québec, 2017) and by Bekal et al. (2014) for *S. Dublin* isolated during the 2011-2012 outbreak. Except for meropenem, azithromycin, gentamycin and trimethoprim-sulfamethoxazole, *S. Dublin* isolates were resistant to all antimicrobials including, fluoroquinolones (ciprofloxacin and nalidixic acid) and third generation cephalosporins (ceftriaxone), tested. This probably limits treatment options for milk-fed veal calves infected with *S. Dublin*. In this study, the prevalence of ceftriaxone resistance in *S. Dublin* was 3 times higher than the prevalence observed in American cattle in 2014 (29%) whereas ciprofloxacin resistance was only slightly higher than the 12% observed (Government of United States, 2014). The difference in *S. Dublin* resistance to ceftriaxone between Canada and US might be due to the difference in the consumption of antimicrobials of this class as reported by Cameron & McAllister (2016), where cephalosporins sales in Canada were higher than in US. The resistance of ceftriaxone and ciprofloxacin observed in the current study is of concern for public health given that these antimicrobials are the first line treatment options in humans infected with *S. Dublin* (Government of United States, 2014).

Comparing the plasmid-mediated beta-lactamase blaCMY-2 gene profile in *S. Dublin* (same prevalence level of 85.7% for amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin, ceftriaxone, cefoxitin and chloramphenicol (Figure 3) we could observe that this profile was absent in *E. coli* (Figure 2). The blaCMY-2 gene was not observed in *E. coli* possibly because only

one animal was sampled per batch for the analysis of *E. coli* resistance. This could result in a loss of sensitivity in the detection of *E. coli* resistance at the batch level.

Among *Campylobacter* spp recovered in this study, more than 85% of isolates showed resistance to at least one antimicrobial but <10% were MDR and none were resistant to more than 3 antimicrobial classes. These proportions are higher than the levels previously seen in fecal *Campylobacter* recovered from US dairy cattle (52.6% were  $\geq 1$  AMR and 3% were MDR) (Englen et al., 2007). These proportions are also higher than those reported in Ontario grain-fed veal meat *Campylobacter* isolates (50% were  $\geq 1$  AMR and none was MDR) (Cook et al., 2011b). In our study the prevalence of *Campylobacter* resistance to ciprofloxacin (57.1%) was higher than that was previously reported in Canada. In 2016 CIPARS reported that the prevalence of *Campylobacter* resistance to ciprofloxacin was 14% in bovine sources (Government of Canada, 2018a) whereas Cook et al. (2011b) reported no *Campylobacter* resistance to ciprofloxacin in grain-fed veal meat. *Campylobacter* resistance to ciprofloxacin observed in this study was also higher than previously reported by the US National Antimicrobial Monitoring System (NARMS) (16%) (Government of United States, 2014). In our study the high proportion of *Campylobacter* isolates resistant to ciprofloxacin (category I) is of concern because fluoroquinolones could be used as an alternative to macrolides for the treatment of campylobacteriosis in human adults in case of severe and invasive infection or when the patient is immunocompromised (Government of United States, 2014; Cameron and McAllister, 2016).

Resistance to tetracycline was frequently observed in isolates for all three bacteria. Tetracycline is widely used in cattle production and resistance genes are easily acquired (Englen et al., 2007; Cook et al., 2011a; Cook et al., 2011b; Frye and Jackson, 2013). In *S. Dublin* and *E. coli* isolates, the ACSSuT multidrug resistant pattern observed in this study has been reported in several other studies (Cook et al., 2011a; Cook et al., 2011b; Frye and Jackson, 2013) and is plasmid-mediated. As in this study, *Campylobacter* resistance either to ciprofloxacin and/or nalidixic acid was also observed in a study of *C. jejuni* by Englen et al. (2007). Quinolone cross-resistance is conferred by a mutation in the DNA gyrase (*gyrA*) gene or efflux of drugs (Engberg et al., 2001).

### 3.2. Association between antimicrobial drug use and AMR in *E. coli*

This study demonstrated that many antimicrobial drugs are frequently used in the production of milk-fed veal calves in Québec. Results indicated significant negative associations between resistance to ampicillin and tetracycline and the use of polypeptides (bacitracin). A similar result was also observed in broilers where the use of bacitracin for growth promotion was associated with lower resistance to cephalothin, nalidixic acid and sulfamethoxazole in *E. coli* (Thibodeau, 2007). As reported by Mather et al. (2004), the use of bacitracin could inhibit the transfer of plasmids containing ampicillin, ciprofloxacin, and tetracycline resistance genes. Alternatively, different use practices could also explain these negative associations. For instance, we observed that batches for which bacitracin was used, less penicillin and tetracycline were used than in batches where bacitracin was not used.

It is interesting to note that although there was no reported use of quinolones in milk-fed veal calves in our study, nevertheless resistance to ciprofloxacin and nalidixic acid were observed in the three bacterial genera. Danofloxacin and enrofloxacin are fluoroquinolones approved for use in livestock in Canada, specifically for treating respiratory disease in cattle (Government of Canada, 2016). A previous study reported that fluoroquinolones were used on dairy farms in Canada in 2007-2008 (Saini et al., 2012). The level of resistance to ciprofloxacin and nalidixic acid observed in our study in the absence of recent exposure to these drugs might be explained by the persistence of fluoroquinolone-resistant bacterial clones in dairy farms (where calves originated) where the fluoroquinolone drugs were used previously. This persistence of high-level fluoroquinolone resistant clones might be due to the double-serine fluoroquinolone resistance mutations that confer on them favorable fitness balance to disseminate (Fuzi et al., 2017). Risk factors associated with multidrug resistance in *E. coli*

Among the 9 risk factors analyzed, only batch size was significantly associated with multidrug resistance in *E. coli*. Small batches ( $\leq 300$ ) were more likely to display multidrug drug resistance in *E. coli* than large batches ( $> 300$ ). This finding is contrary to previously observations in preweaned dairy calves in Sweden (Duse et al., 2015a), and in veal calves in Switzerland (Di Labio et al., 2007), where the calves from large herds were more at risk of possessing antimicrobial drug resistant *E. coli* than those from small herds. Nevertheless

our findings are similar to those of a study in the Netherlands (Bosman et al., 2014) . Duse et al. (2015a) proposed that large herds are more likely to have disease problems and hence be subject of more antimicrobial drugs use than small herds. Bosman et al. (2014) did not give any explanation for the association between herd size and AMR. In our study, the farm management practices could explain greater MDR risk observed in small batches. Indeed, we observed in this study that the mean downtime was 25 days in small batches vs 35 days in large batches; 58% of small batches used continuous flow animal replacement vs 100% of large batches which used all in-all out; 92% of small batches used well's water vs 61% of large batches which used well's water. Furthermore, small batches were fivefold more likely to not have complete antimicrobial drug use records compared to large batches supporting the hypothesis that the small batches originate from farms with less rigorous management and biosecurity monitoring. Further investigation with more batches is needed to compare biosecurity and drug use practices between large and small farms of milk-fed veal calves in Quebec to help to identify whether improvement can be made in biosecurity on farms to reduce demand of antimicrobial drugs from the perspective of judicious antimicrobial use (WHO, 2000; CRSV, 2018; Government of Canada, 2018b). Judicious antimicrobial use in food-producing animals which aims to maximize therapeutic efficacy and minimize selection of resistant microorganisms is based on two principles : (1) use should be limited to that considered necessary for assuring animal health, (2) use should be limited to that including veterinary oversight or consultation (Government of United States, 2012).

Although non-significant in the multivariable analysis, water source (wells vs municipal aqueduct, OR=3.1) and the production system (continuous flow vs all-in all out, OR=2) showed multidrug resistance risk tendencies in *E. coli* thus deserving further investigation.

Considering that 80% of the Canadian milk-veal production is in Quebec, and that the farms selected represented 33% of all milk-fed veal calves producers in Quebec (Les Producteurs de bovins du Québec, 2018a), the results of this study provide an indication of the risk of exposure to zoonotic multidrug resistant bacteria to Canadian consumers. However, there are several limitations to consider in this study. Farms from which small batches were examined were often missing data and thus were likely underrepresented in the drug use analysis (selection bias), resulting in a reduced statistical power of the study

for this component. Also, compliance with the biosecurity practices reported in the questionnaire was not evaluated, possibly resulting in an information bias and subsequently an underestimation of the association between biosecurity risk factors and multidrug resistance in *E. coli*. Another limitation is that only one animal was sampled per batch for the analysis of *E. coli* resistance to meet laboratory capacity constraints. This could result in a loss of sensitivity in the detection of resistance at the batch level, particularly if the intra-batch resistance prevalence is low. This may be the case of amoxicillin-clavulanic acid, ceftriaxone and ceftiofur, which showed a resistance prevalence of less than 10% suggesting a low intra-batch resistance for these antimicrobials. The decrease in sensitivity for detecting resistance at the batch level could lead to a misclassification of the outcome (batch resistance) resulting in a non-differential information bias and subsequently an underestimation of the association between antimicrobial drug use and antimicrobial resistance (e.g. the use of ceftiofur and resistance of *E. coli* to ceftriaxone).

## **Conclusion**

This study provided insights into the situation regarding AMR in *E. coli*, *S. Dublin* and *Campylobacter* in milk-fed veal calves from Quebec. To our knowledge this is a first study on antimicrobial drug use and resistance in *E. coli*, *S. Dublin* and *Campylobacter* in milk-fed veal calves conducted in Quebec. Milk-fed veal calves were shown to be a source of AMR involving several antimicrobials, including some that are of great importance to human health (e.g. ciprofloxacin and ceftriaxone). Multidrug resistance was reported for the three bacterial genera studied and the small batches were shown to be risk factor for multidrug resistance in *E. coli*. Considering the importance of these findings for public health and milk-fed veal calves' production, the milk-fed veal calves' industry might consider the judicious use of antimicrobials as advocated by the World Health Organization while paying attention to the management of small farms.

## **Acknowledgment**

We would like to acknowledge the milk-fed veal calves' companies for their collaboration. We also thank the laboratory of the Chaire de recherche en salubrité des viandes of the Faculté de médecine vétérinaire of Université de Montréal and the National Microbiology Laboratory at Saint-Hyacinthe and at Guelph for bacterial isolation and antimicrobial

susceptibility testing. This study was funded by the Innov'Action program of the Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec, with in-kind support from the Public Health Agency of Canada and from the veal industry. We also thank the Epidemiology of Zoonoses and Public Health Research Unit (GREZOSP) and the Faculté des Études Supérieures et Postdoctorale (FESP) of Université de Montréal for their grant support.

### **Declaration of interest**

None

### **Ethical statement**

No manipulation on live animals was done during this study. Companies engaged in this study on a voluntary basis and were free to leave the study at any time.

### **References**

- Allen, K.J., Poppe, C., 2002. Occurrence and characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins mediated by beta-lactamase CMY-2 in *Salmonella* isolated from food-producing animals in Canada. *Can. J. Vet. Res.* 66, 137-144.
- Bauerfeind, R., von Graevenitz, A., Kimmig, P., Schiefer, H.G., Schwarz, T., Slenczka, W., Zahner, H., 2016. Bacterial Zoonoses. *Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible from Animal to Man*. Washington,DC: ASM Press, 175-291.
- Bekal, S., Côté, G., Nadeau, M., Lefebvre, B., Bharat, A., Mandes, R., Finley, R., Tremblay, C., Mulvey, M., 2014. Emergence of Multidrug-Resistant *Salmonella* Dublin from Human and Animal Sources in Québec. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 25, e27-e28.
- Berge, A.C., Atwill, E.R., Sisco, W.M., 2005. Animal and farm influences on the dynamics of antibiotic resistance in faecal *Escherichia coli* in young dairy calves. *Prev. Vet. Med.* 69, 25-38.
- Berge, A.C., Hancock, D.D., Sisco, W.M., Besser, T.E., 2010. Geographic, farm, and animal factors associated with multiple antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates from cattle in the western United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 236, 1338-1344.

- Bibaht, K., Mandal De Mol, P., Butzler, J.-P., 1984. Clinical aspects of *Campylobacter* infections in humans. In: Butzler, J.-P. (Ed.), *Campylobacter infection in Man and Animals*. United States.
- Bosman, A.B., Wagenaar, J.A., Stegeman, J.A., Vernooij, J.C., Mevius, D.J., 2014. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* in veal calves is associated with antimicrobial drug use. *Epidemiol. Infect.* 142, 1893-1904.
- Cameron, A., McAllister, T.A., 2016. Antimicrobial usage and resistance in beef production. *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 7, 68.
- Carson, C.A., Reid-Smith, R., Irwin, R.J., Martin, W.S., McEwen, S.A., 2008. Antimicrobial resistance in generic fecal *Escherichia coli* from 29 beef farms in Ontario. *Can. J. Vet. Res.* 72, 119-128.
- CLSI, 2012. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-second informational supplement. In: *Clinical and Laboratory Standards Institute (Ed.)*, Pennsylvania, USA.
- Coleman, B.L., Louie, M., Salvadori, M.I., McEwen, S.A., Neumann, N., Sibley, K., Irwin, R.J., Jamieson, F.B., Daignault, D., Majury, A., Braithwaite, S., Crago, B., McGeer, A.J., 2013. Contamination of Canadian private drinking water sources with antimicrobial resistant *Escherichia coli*. *Water Res* 47, 3026-3036.
- Connor, J.T.O., Clegg, T.A., More, S.J., 2017. Efficacy of washing and disinfection in cattle markets in Ireland. *Ir. Vet. J.* 70, 6.
- Cook, A., Reid-Smith, R.J., Irwin, R.J., McEwen, S.A., Young, V., Butt, K., Ribble, C., 2011a. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from retail milk-fed veal meat from Southern Ontario, Canada. *J. Food Prot.* 74, 1328-1333.
- Cook, A., Reid-Smith, R.J., Irwin, R.J., McEwen, S.A., Young, V., Ribble, C., 2011b. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* isolated from retail grain-fed veal meat from Southern Ontario, Canada. *J. Food Prot.* 74, 1245-1251.
- Costa, L.F., Paixao, T.A., Tsolis, R.M., Baumler, A.J., Santos, R.L., 2012. Salmonellosis in cattle: advantages of being an experimental model. *Res. Vet. Sci.* 93, 1-6.

- Croxen, M.A., Law, R.J., Scholz, R., Keeney, K.M., Wlodarska, M., Finlay, B.B., 2013. Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol. Rev.* 26, 822-880.
- CRSV, 2018. Usage judicieux des antibiotiques. In: Chaire de recherche en salubrité des viandes (Ed.), Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal. <http://www.medvet.umontreal.ca/crsv/uja.php><http://www.medvet.umontreal.ca/crsv/uja.php>. 2018-11-21.
- Crump, J.A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M.A., Parry, C.M., 2015. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 28, 901-937.
- Di Labio, E., Regula, G., Steiner, A., Miserez, R., Thomann, A., Ledergerber, U., 2007. Antimicrobial resistance in bacteria from Swiss veal calves at slaughter. *Zoonoses Public Health* 54, 344-352.
- Doublet, B., Carattoli, A., Whichard, J.M., White, D.G., Baucheron, S., Chaslus-Dancla, E., Cloeckert, A., 2004. Plasmid-mediated florfenicol and ceftriaxone resistance encoded by the *floR* and *bla*(CMY-2) genes in *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Newport isolated in the United States. *FEMS Microbiol. Lett.* 233, 301-305.
- Duse, A., Waller, K.P., Emanuelson, U., Unnerstad, H.E., Persson, Y., Bengtsson, B., 2015a. Risk factors for antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from preweaned dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98, 500-516.
- Duse, A., Waller, K.P., Emanuelson, U., Unnerstad, H.E., Persson, Y., Bengtsson, B., 2015b. Risk factors for quinolone-resistant *Escherichia coli* in feces from preweaned dairy calves and postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98, 6387-6398.
- Engberg, J., Aarestrup, F.M., Taylor, D.E., Gerner-Smidt, P., Nachamkin, I., 2001. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg. Infect. Dis.* 7, 24-34.
- Englen, M.D., Hill, A.E., Dargatz, D.A., Ladely, S.R., Fedorka-Cray, P.J., 2007. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* in US dairy cattle. *J. Appl. Microbiol.* 102, 1570-1577.

- European medicines agency, 2015. Principles on assignment of defined daily dose for animals (DDDA) and defined course dose for animals (DCDA). In: Veterinary Medicines Division (Ed.), London, United Kingdom.
- Ewing, W.H., 1986. Edwards and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae. Elsevier Science Publishing Co. Inc New York, NY, USA.
- Fossler, C.P., Wells, S.J., Kaneene, J.B., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Bender, J.B., Eberly, L.E., Godden, S.M., Halbert, L.W., 2005a. Herd-level factors associated with isolation of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms: I. Salmonella shedding in cows. *Prev. Vet. Med.* 70, 257-277.
- Fossler, C.P., Wells, S.J., Kaneene, J.B., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Bender, J.B., Eberly, L.E., Godden, S.M., Halbert, L.W., 2005b. Herd-level factors associated with isolation of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms: II. Salmonella shedding in calves. *Prev. Vet. Med.* 70, 279-291.
- Fossler, C.P., Wells, S.J., Kaneene, J.B., Ruegg, P.L., Warnick, L.D., Eberly, L.E., Godden, S.M., Halbert, L.W., Campbell, A.M., Bolin, C.A., Zwald, A.M.G., 2005c. Cattle and environmental sample-level factors associated with the presence of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms. *Prev. Vet. Med.* 67, 39-53.
- Frye, J.G., Jackson, C.R., 2013. Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in Salmonella enterica, Escherichia coli, and Enterococcus spp. isolated from U.S. food animals. *Front. Microbiol.* 4, 135.
- Fuzi, M., Szabo, D., Cserecsik, R., 2017. Double-Serine Fluoroquinolone Resistance Mutations Advance Major International Clones and Lineages of Various Multi-Drug Resistant Bacteria. *Front. Microbiol.* 8.
- Gouvernement du Québec, 2015. Monographie de l'industrie du boeuf et du veau au Québec. In: Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) (Ed.).  
<https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/monographieveaulourd.pdf>  
<https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/monographieveaulourd.pdf>. 2018-11-22.

- Gouvernement du Québec, 2017. Résultat de la surveillance passive de l'antibiorésistance. Rapport 2017. Programme québécois d'antibiosurveillance vétérinaire, 36.
- Government of Canada, 2009. Categorization of Antimicrobial Drugs Based on Importance in Human Medicine. In: Health Canada (Ed.). <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/veterinary-drugs/antimicrobial-resistance/categorization-antimicrobial-drugs-based-importance-human-medicine.html><https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/veterinary-drugs/antimicrobial-resistance/categorization-antimicrobial-drugs-based-importance-human-medicine.html>. 2018-11-23.
- Government of Canada, 2015. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance. Report 2013. Chapter 1. Design and methods. In: Public Health Agency of Canada (Ed.), Guelph (Ontario).
- Government of Canada, 2016. Canadian Antimicrobial Resistance Surveillance System (CARSS) report 2016. In: Public Health Agency of Canada (Ed.), Ottawa, Canada. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/drugs-health-products/canadian-antimicrobial-resistance-surveillance-system-report-2016.html><https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/drugs-health-products/canadian-antimicrobial-resistance-surveillance-system-report-2016.html>. 2019-03-01.
- Government of Canada, 2018a. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) 2016 annual report [http://publications.gc.ca/collections/collection\\_2018/aspc-phac/HP2-4-2016-eng.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2018/aspc-phac/HP2-4-2016-eng.pdf)[http://publications.gc.ca/collections/collection\\_2018/aspc-phac/HP2-4-2016-eng.pdf](http://publications.gc.ca/collections/collection_2018/aspc-phac/HP2-4-2016-eng.pdf). 2019-03-01.
- Government of Canada, 2018b. Responsible use of Medically Important Antimicrobials in Animals. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/antibiotic-antimicrobial-resistance/animals/actions/responsible-use-antimicrobials.html><https://www.canada.ca/en/public-health/services/antibiotic-antimicrobial-resistance/animals/actions/responsible-use-antimicrobials.html>

- [antimicrobial-resistance/animals/actions/responsible-use-antimicrobials.html](https://www.fda.gov/antimicrobial-resistance/animals/actions/responsible-use-antimicrobials.html).  
2018-11-23.
- Government of United States, 2012. The judicious use of medically important antimicrobial drugs in food-producing animals. In: Food and Drug Administration (Ed.).  
<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM216936.pdf><https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM216936.pdf>. 2018-11-22.
- Government of United States, 2014. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: Enteric Bacteria. NARMS Integrated Report: 2014. In: Food and Drug Administration (Ed.).  
<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM528861.pdf><https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM528861.pdf>. 2018-11-22.
- Grasselli, E., François, P., Gutacker, M., Gettler, B., Benagli, C., Convert, M., Boerlin, P., Schrenzel, J., Piffaretti, J.-C., 2008. Evidence of horizontal gene transfer between human and animal commensal *Escherichia coli* strains identified by microarray. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 53, 351-358.
- Grimont, P.A.D., 2007. Antigenic Formulas of the *Salmonella* serovars. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* Institut Pasteur Paris Cedex, France.
- Harvey, R.R., Friedman, C.R., Crim, S.M., Judd, M., Barrett, K.A., Tolar, B., Folster, J.P., Griffin, P.M., Brown, A.C., 2017. Epidemiology of *Salmonella enterica* Serotype Dublin Infections among Humans, United States, 1968-2013. *Emerg. Infect. Dis.* 23. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2309.170136>.
- Helms, M., Evans, S., Vastrup, P., Gerner-Smidt, P., Molbak, K., 2003. Short and long term mortality associated with foodborne bacterial gastrointestinal infections: registry based study. *B.M.J.* 326, 357.

- Jensen, V.F., Jacobsen, E., Bager, F., 2004. Veterinary antimicrobial-usage statistics based on standardized measures of dosage. *Prev. Vet. Med.* 64, 201-215.
- Johnston, A.M., 1998. Use of antimicrobial drugs in veterinary practice. *B.M.J.* 317, 665-667.
- Khachatryan, A.R., Hancock, D.D., Besser, T.E., Call, D.R., 2004. Role of Calf-Adapted *Escherichia coli* in Maintenance of Antimicrobial Drug Resistance in Dairy Calves. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 752-757.
- Les Producteurs de bovins du Québec, 2018a. La production-Portrait global. <http://bovin.qc.ca/la-production/portrait-global/coup-doeil/>. 2018-11-23.
- Les Producteurs de bovins du Québec, 2018b. Production-veau de lait. <http://bovin.qc.ca/la-production/veau-de-lait/coup-doeil/>. 2018-08-24.
- Liebana, E., Gibbs, M., Clouting, C., Barker, L., Clifton-Hadley, F.A., Pleydell, E., Abdalhamid, B., Hanson, N.D., Martin, L., Poppe, C., Davies, R.H., 2004. Characterization of beta-lactamases responsible for resistance to extended-spectrum cephalosporins in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* strains from food-producing animals in the United Kingdom. *Microb. Drug Resist.* 10, 1-9.
- Mathers, J.J., Clark, S.R., Hausmann, D., Tillman, P., Benning, V.R., Gordon, S.K., 2004. Inhibition of resistance plasmid transfer in *Escherichia coli* by ionophores, chlortetracycline, bacitracin, and ionophore/antimicrobial combinations. *Avian Dis.* 48, 317-323.
- McDonough, P.L., Fogelman, D., Shin, S.J., Brunner, M.A., Lein, D.H., 1999. *Salmonella enterica* serotype Dublin infection: an emerging infectious disease for the northeastern United States. *J. Clin. Microbiol.* 37, 2418-2427.
- Nielsen, L.R., 2013. Within-herd prevalence of *Salmonella* Dublin in endemically infected dairy herds. *Epidemiol. Infect.* 141, 2074-2082.
- Pereira, R.V., Siler, J.D., Ng, J.C., Davis, M.A., Warnick, L.D., 2014. Effect of preweaned dairy calf housing system on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli*. *J. Dairy Sci.* 97, 7633-7643.
- Rao, S., Van Donkersgoed, J., Bohaychuk, V., Besser, T., Song, X.M., Wagner, B., Hancock, D., Renter, D., Dargatz, D., Morley, P.S., 2010. Antimicrobial drug use

- and antimicrobial resistance in enteric bacteria among cattle from Alberta feedlots. *Foodborne Pathog. Dis.* 7, 449-457.
- Renaud, D.L., Duffield, T.F., LeBlanc, S.J., Haley, D.B., Kelton, D.F., 2018. Clinical and metabolic indicators associated with early mortality at a milk-fed veal facility: A prospective case-control study. *J. Dairy Sci.* 101, 2669-2678.
- Robinson, S.E., Christley, R.M., 2007. Exploring the role of auction markets in cattle movements within Great Britain. *Prev. Vet. Med.* 81, 21-37.
- Sahin, O., Yaeger, M., Wu, Z., Zhang, Q., 2017. *Campylobacter*-Associated Diseases in Animals. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 5, 21-42.
- Saini, V., McClure, J.T., Leger, D., Dufour, S., Sheldon, A.G., Scholl, D.T., Barkema, H.W., 2012. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 95, 1209-1221.
- Schuppers, M.E., Stephan, R., Ledergerber, U., Danuser, J., Bissig-Choisat, B., Stark, K.D., Regula, G., 2005. Clinical herd health, farm management and antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* on finishing pig farms in Switzerland. *Prev. Vet. Med.* 69, 189-202.
- Shipp, C.R., Rowe, B., 1980. A mechanised microtechnique for salmonella serotyping. *J. Clin. Pathol.* 33, 595-597.
- Sørum, H., Sunde, M., 2001. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet. Res.* 32, 227-241.
- Textor, J., Hardt, J., Knüppel, S., 2011. DAGitty: A Graphical Tool for Analyzing Causal Diagrams. *Epidemiology* 22, 745.
- Thibodeau, A., 2007. Effet des promoteurs de croissance bacitracine de zinc et virginiamycine sur la résistance aux antibiotiques observée chez les entérobactéries provenant de poulets à griller: étude terrain. Faculté de Médecine Vétérinaire. Université de Montréal.
- Warner, D.P., Bryner, J.H., 1984. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* inoculation of neonatal calves. *Am. J. Vet. Res.* 45, 1822-1824.
- WHO, 2000. WHO global principles for the containment of antimicrobial resistance in animals intended for food : report of a WHO consultation with the participation of the Food and Agriculture Organization of the United Nations and the Office

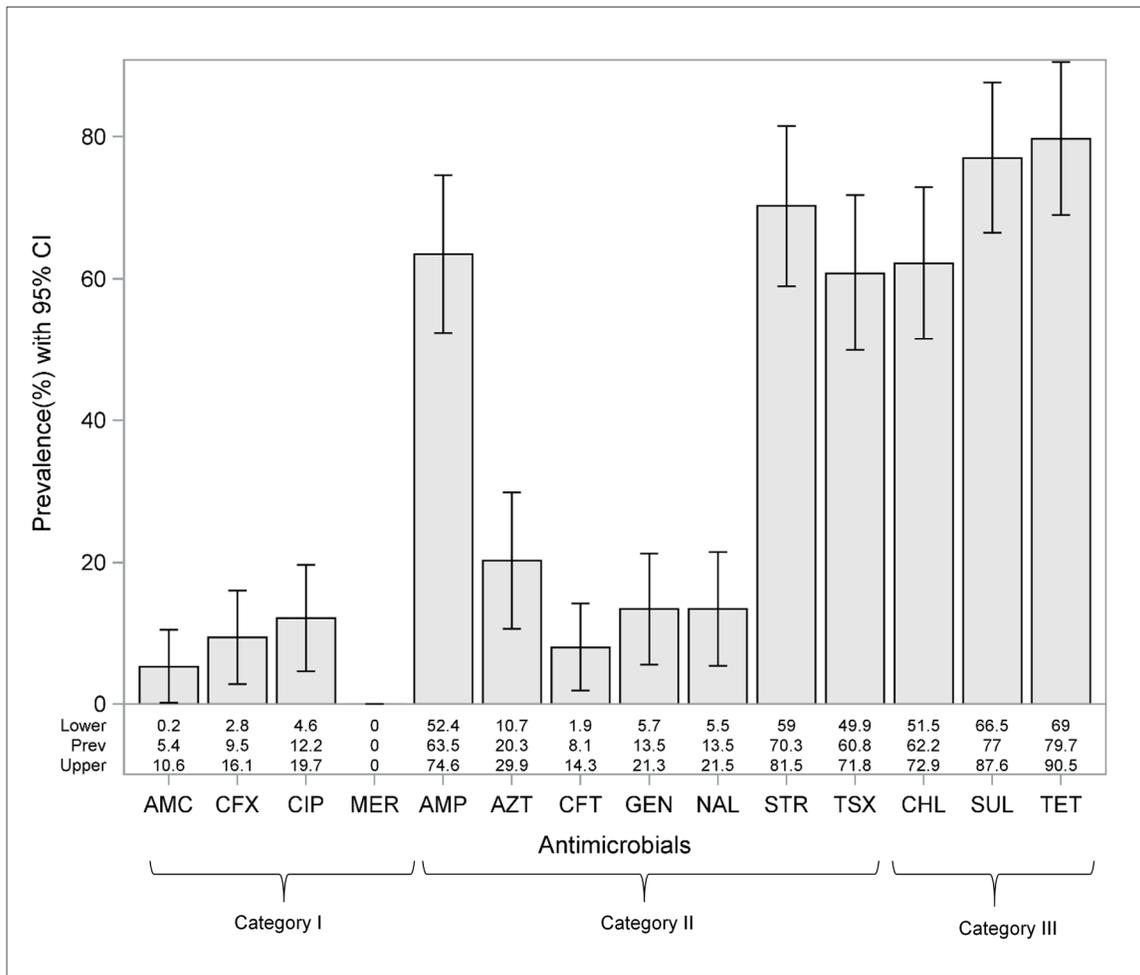
International des Epizooties. In: World Health Organization (Ed.), Geneva, Switzerland.

<http://www.who.int/iris/handle/10665/68931><http://www.who.int/iris/handle/10665/68931>. 2018-11-23.

Woolhouse, M., Ward, M., van Bunnik, B., Farrar, J., 2015. Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 370, 20140083.

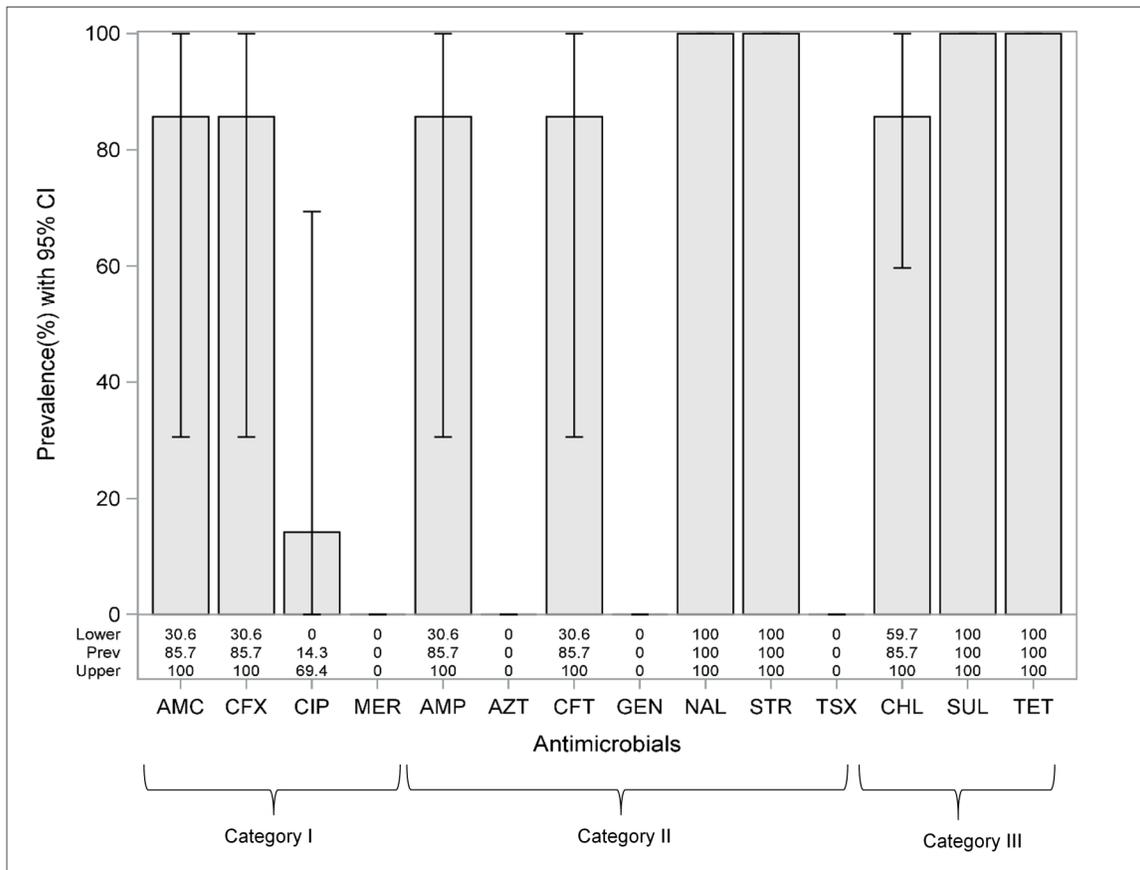
Wray, C., Todd, N., McLaren, I.M., Beedell, Y.E., 1991. The epidemiology of *Salmonella* in calves: the role of markets and vehicles. *Epidemiol. Infect.* 107, 521-525.

## **List of figures**



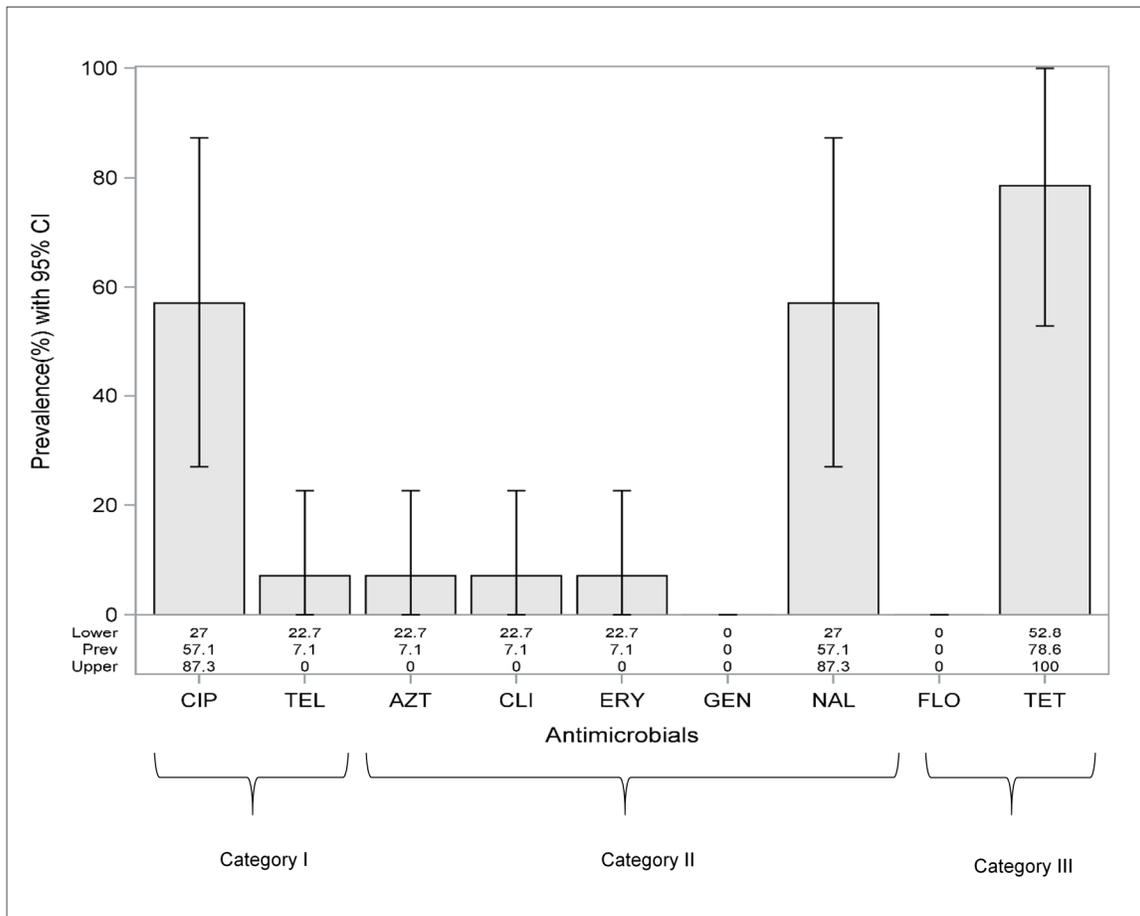
**Figure 2. Individual antimicrobial drug resistance prevalence in *E. coli* isolated from caecal contents in milk-fed veal calves from Quebec**

CI= Confidence Interval; Lower= lower confidence limit; Upper= upper confidence limit; Prev= prevalence; AMC= amoxicillin-clavulanic acid; AMP= ampicillin; AZT= azithromycin; CFT= cefoxitin; CFX= ceftriaxone; CHL= chloramphenicol; CIP= ciprofloxacin; GEN=gentamicin; MER= meropenem; NAL= nalidixic acid; STR= streptomycin; SUL= sulfisoxazole; TET=tetracycline; TSX= trimethoprim-sulfamethoxazole. The categories I (very high), II (high), and III (medium) indicate the ranking of antimicrobials based on importance in human medicine as classified by Health Canada (Government of Canada, 2009, 2015).



**Figure 3. Individual antimicrobial resistance prevalence in *Salmonella Dublin* isolated from caecal contents in milk-fed veal calves from Quebec**

CI= Confidence Interval; Lower= lower confidence limit; Upper= upper confidence limit; Prevalence= prevalence; AMC= amoxicillin-clavulanic acid; AMP= ampicillin; AZT= azithromycin; CFT= cefoxitin; CFX= ceftriaxone; CHL= chloramphenicol; CIP= ciprofloxacin; GEN=gentamicin; MER= meropenem; NAL= nalidixic acid; STR= streptomycin; SUL= sulfisoxazole; TET=tetracycline; TSX= trimethoprim-sulfamethoxazole. The categories I (very high), II (high), and III (medium) indicate the ranking of antimicrobials based on importance in human medicine as classified by Health Canada (Government of Canada, 2009, 2015).



**Figure 4. Individual antimicrobial drug resistance prevalence in *Campylobacter spp* isolated from caecal contents in milk-fed veal calves from Quebec**

CI= Confidence Interval; Lower= lower confidence limit; Upper= upper confidence limit; Prev= prevalence; AZT= azithromycin; CIP= ciprofloxacin; CLI= clindamycin; ERY=erythromycin; FLO= florfenicol; GEN= gentamicin; NAL= nalidixic acid; TEL=telithromycin; TET= tetracycline. The categories I (very high), II (high), and III (medium) indicate the ranking of antimicrobials based on importance in human medicine as classified by Health Canada (Government of Canada, 2009, 2015).

## List of tables

**Table 1. Prevalence of antimicrobial resistance of *E. coli*, *Salmonella Dublin* and *Campylobacter* in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017**

Bacteria and type of sample	Number of isolates	≥1 AMR		≥3 classes-MDR		≥5 classes-MDR		≥7 classes-MDR	
		n <sup>a</sup>	% [95% CI]	n <sup>a</sup>	% [95% CI]	n <sup>a</sup>	% [95% CI]	n <sup>a</sup>	% [95% CI]
<i>E. coli</i>									
Caecal content (n=74)	74	65	87.8 [79.7, 95.9]	57	77 [67.2, 86.9]	39	52.7 [41.1, 64.3]	8	10.8 [3.5, 18.1]
<i>Salmonella Dublin</i>									
Caecal content (n=545)	7	7	100	7	100	7	100	5	71.4 [27.8, 100]
Lymph nodes (n=549)	18	18	100	18	100	18	100	9	50 [0, 100]
Carcass swabs (n=565)	11	11	100	11	100	11	100	7	63.6 [6.6, 100]
<i>Campylobacter</i> spp									
Caecal content (n=74)	14	12	85.7 [63.7, 100]	1	7.1 [0, 22.7]	0	0	0	0

<sup>a</sup> Number of resistant isolates

Table 2. Antimicrobial drug use in milk-fed veal calves batches from Quebec, Canada, 2016-2017

Antimicrobial class administered	Administration route	Antimicrobial administered for collective treatment <sup>a</sup>	Antimicrobial administered for individual treatment <sup>a</sup>	Percentage (%) of batches using the antimicrobial class	Typical calf weight (kilograms) at the time of treatment	ADDs/animal for batches using the antimicrobial drug class			
						Mean	Median	Minimum	Maximum
Aminoglycosides	In-feed	Neomycin	-	78.7	50	21.7	20	14	20
Cephalosporins	Injection	-	Ceftiofur	48.9	50	0.6	0.2	0.007	3.1
Lincosamides	In-feed	Lincomycin	-	42.6	60	31.6	30.2	9	58.3
Lincosamides-aminoglycosides	Injection	-	Lincomycin-spectinomycin	59.6	60	1.9	1.4	0.006	11.3
Macrolides	In-feed	Tylosin	-	53.2	90	7.2	6.4	1.8	15.6

Antimicrobial class administered	Administration route	Antimicrobial administered for collective treatment <sup>a</sup>	Antimicrobial administered for individual treatment <sup>a</sup>	Percentage (%) of batches using the antimicrobial class	Typical calf weight (kilograms) at the time of treatment	ADDs/animal for batches using the antimicrobial drug class			
						Mean	Median	Minimum	Maximum
	Injection	Gamithromycin, Tildipirosin, Tilmicosin, Tulathromycin,	Gamithromycin, Tilmicosin	72.3	90	1	0.4	0.002	12.4
Penicillins	In-feed	Amoxicillin	-	53.2	60	13.4	11.7	0.1	35
	Injection	-	Ampicillin, Penicillin	51	Ampicillin: 200 Penicillin: 175	0.1	0.04	0.001	0.7
Phenicol	Injection	-	Florfenicol	72.3	90	0.1	0.1	0.001	0.7
Pleureumutilins	In-feed	Tiamulin	-	23.4	60	0.9	0.9	0.06	2.2

Antimicrobial class administered	Administration route	Antimicrobial administered for collective treatment <sup>a</sup>	Antimicrobial administered for individual treatment <sup>a</sup>	Percentage (%) of batches using the antimicrobial class	Typical calf weight (kilograms) at the time of treatment	ADDs/animal for batches using the antimicrobial drug class			
						Mean	Median	Minimum	Maximum
Polypeptides	In-feed	Bacitracin	-	21.3	150	211.2	171.3	45.1	531.2
	In-feed	Trimethoprim-sulfadiazine, Trimethoprim-sulfamethoxazole	-	80.6	50	26.6	24	13.5	56
Sulfonamides	Injection	Trimethoprim-sulfadoxine	Trimethoprim-sulfadoxine	57.5	50	1.2	0.3	0.02	10

Antimicrobial class administrated	Administration route	Antimicrobial administrated for collective treatment <sup>a</sup>	Antimicrobial administrated for individual treatment <sup>a</sup>	Percentage (%) of batches using the antimicrobial class	Typical calf weight (kilograms) at the time of treatment	ADDs/animal for batches using the antimicrobial drug class			
						Mean	Median	Minimum	Maximum
Synergistins	In-feed	Virginiamycin	-	4.3	150	176.2	176.2	57.1	259.3
Tetracyclines	In-feed	Oxytetracycline, Tetracycline	-	76.6	Oxytetracycline : 60 Tetracycline: 150	16.2	13.5	4.7	68.2

<sup>a</sup>: Recommended daily dose : amoxicillin , 20 mg/kg; ampicillin, 6 mg/kg; bacitracin, 2.5 mg/kg ; ceftiofur, 1 mg/kg; florfenicol, 40 mg/kg; gamithromycin, 6 mg/kg; lincomycin, 10 mg/kg; lincomycin-spectinomycin, 5/10 mg/kg; neomycin, 10 mg/kg; oxytetracycline, 44 mg/kg; penicillin, 60 000 IU/kg ; tetracycline, 20 mg/kg ; tiamulin, 12.5 mg/kg; tildipirosin, 4 mg/kg; tilmicosin, 10 mg/kg; trimethoprim-sulfadiazine, 40 mg/kg; trimethoprim-sulfadoxine, 24 mg/kg; trimethoprim-sulfamethoxazole, 40 mg/kg ; tulathromycin, 2.5 mg/kg; tylosin, 30 mg/kg ; virginiamycin, 1.25 mg/kg.

**Table 3. Association between antimicrobial drug use and antimicrobial resistance in *E. coli* in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017**

Antimicrobial drug class use vs resistance to antimicrobial agent	Number of batches <sup>b</sup>	% batches resistant to the outcome	Odds Ratio [95% CI]	P-value
<i>Outcome: resistance to gentamycin</i>				
Aminoglycosides use				
0 ADD/animal	10	10	Ref.	
0< ADDs/animal <20	13	7.7	0.8 [0.04, 14.1]	0.85
≥20 ADDs/animal	24	4.2	0.4 [0.02, 7]	0.53
<i>Outcome: resistance to streptomycin</i>				
Aminoglycosides use				
0 ADD/animal	10	90	Ref.	
0< ADDs/animal <20	13	69.2	0.3 [0.02, 2.8]	0.26
≥20 ADDs/animal	24	58.3	0.2 [0.02, 1.5]	0.11
<i>Outcome: resistance to ceftiofur<sup>a</sup></i>				
Cephalosporins use				
0 ADD/animal	24	0	-	
>0 ADD/animal	23	4.4	-	
<i>Outcome: resistance to ceftiofur</i>				
Cephalosporins use				

Antimicrobial drug class use vs resistance to antimicrobial agent	Number of batches <sup>b</sup>	% batches resistant to the outcome	Odds Ratio [95% CI]	P-value
0 ADD/animal	24	4.2	Ref.	
>0 ADD/animal	23	8.7	2.2 [0.2, 26.4]	0.54
<i>Outcome: resistance to azithromycin</i>				
Macrolides by in-feed route use				
0 ADD/animal	22	9.1	Ref.	
0< ADDs/animal <6.4	10	10	1.1 [0.08, 14.5]	0.94
≥6.4 ADDs/animal	15	26.7	3.6 [0.6, 21.8]	0.16
Macrolides by injection route use				
0 ADD/animal	13	23.1	Ref.	
0< ADDs/animal <0.4	17	11.8	0.4 [0.06, 3.2]	0.42
≥0.4 ADDs/animal	17	11.8	0.4 [0.06, 2.8]	0.39
<i>Outcome: resistance to amoxicillin-clavulanic acid<sup>a</sup></i>				
Penicillins by in-feed route use				
0 ADD/animal	22	0	-	
0< ADDs/animal <11.7	13	7.8	-	
≥11.7 ADDs/animal	12	0	-	
Penicillins by injection route use				
0 ADD/animal	23	4.6	-	

<b>Antimicrobial drug class use vs resistance to antimicrobial agent</b>	<b>Number of batches<sup>b</sup></b>	<b>% batches resistant to the outcome</b>	<b>Odds Ratio [95% CI]</b>	<b>P-value</b>
0< ADDs/animal <0.04	12	0	-	
≥0.04 ADDs/animal	12	0	-	
<i>Outcome: resistance to ampicillin</i>				
Penicillins by in-feed route use				
0 ADD/animal	22	59.1	Ref.	
0< ADDs/animal <11.7	13	38.5	0.4 [0.1, 1.8]	0.24
≥11.7 ADDs/animal	12	66.7	1.4 [0.3, 7.3]	0.70
Penicillins by injection route use				
0 ADD/animal	23	69.7	Ref.	
0< ADDs/animal <0.04	12	41.7	0.3 [0.07, 1.4]	0.13
≥0.04 ADDs/animal	12	41.7	0.3 [0.08, 1.2]	0.09
<i>Outcome: resistance to chloramphenicol</i>				
Phenicols use				
0 ADD/animal	13	61.5	Ref.	
0< ADDs/animal <0.1	16	56.3	0.8 [0.2, 4.3]	0.78
≥0.1 ADDs/animal	18	50	0.6 [0.2, 2.5]	0.51
<i>Outcome: resistance to ampicillin</i>				
Polypeptides use				
0 ADD/animal	39	64.1	Ref.	

<b>Antimicrobial drug class use vs resistance to antimicrobial agent</b>	<b>Number of batches<sup>b</sup></b>	<b>% batches resistant to the outcome</b>	<b>Odds Ratio [95% CI]</b>	<b>P-value</b>
>0 ADD/animal	8	12.5	<b>0.08 [0, 0.7]</b>	<b>0.02</b>
<i>Outcome: resistance to tetracycline</i>				
Polypeptides use				
0 ADD/animal	39	82	Ref.	
>0 ADD/animal	8	50	<b>0.2 [0.04, 0.9]</b>	<b>0.05</b>
<i>Outcome: resistance to sulfisoxazole</i>				
Sulfonamides by in-feed route use				
0 ADD/animal	9	88.9	Ref.	
0< ADDs/animal <24	13	61.5	0.2 [0.02, 2.2]	0.18
≥24 ADDs/animal	25	72	0.3 [0.03, 3.2]	0.33
Sulfonamides by injection route				
0 ADD/animal	20	85	Ref.	
0< ADDs/animal <0.3	13	69.2	0.4 [0.06, 2.4]	0.32
≥0.3 ADDs/animal	14	57.1	0.2 [0.04, 1.2]	0.08
<i>Outcome: resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole</i>				
Sulfonamides by in-feed route use				
0 ADD/animal	9	44.4	Ref.	
0< ADDs/animal <24	13	61.5	2 [0.4, 10]	0.39
≥24 ADDs/animal	25	64	2.2 [0.5, 10]	0.31

<b>Antimicrobial drug class use vs resistance to antimicrobial agent</b>	<b>Number of batches<sup>b</sup></b>	<b>% batches resistant to the outcome</b>	<b>Odds Ratio [95% CI]</b>	<b>P-value</b>
<i>Sulfonamides by injection route use</i>				
0 ADD/animal	20	70	Ref.	
0< ADDs/animal <0.3	13	53.8	0.5 [0.1, 2.3]	0.37
≥0.3 ADDs/animal	14	50	0.4 [0.1, 1.8]	0.25
<i>Outcome: resistance to tetracycline</i>				
<i>Tetracyclines use</i>				
0 ADD/animal	11	81.8	Ref.	
0< ADDs/animal <13.5	18	66.7	0.4 [0.07, 2.6]	0.37
≥13.5 ADDs/animal	18	83.3	1.1 [0.2, 7.8]	0.92

Ref = reference

<sup>a</sup>: Model did not converge

<sup>b</sup>: Missing data for antimicrobial drug use reported resulting in a difference in the total number of batches

**Table 4. Potential risk factors associated with five classes or more multidrug resistance in *E. coli* in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017**

Risk factors	Number of batches <sup>c</sup>	% ≥5 classes-MDR	Univariable analysis		Multivariable analysis	
			Odds Ratio [95% CI]	p-value	Odds Ratio [95% CI]	p-value
Origin						
% calves originating from Quebec						
>60%	41	53.6	1 [0.4, 2.6]	0.96	a	
≤60%	32	53.1	Ref.			
Calves from US in the batch						
Yes	15	60	1.4 [0.4, 4.4]	0.56		
No	58	51.7	Ref.		a	
Transit through grouping points (% calves passing through grouping points)						
>80%	52	57.7	2 [0.7, 5.5]	0.19	b	
≤80%	22	40.9	Ref.			

Risk factors	Number of batches <sup>c</sup>	% ≥5 classes-MDR	Univariable analysis		Multivariable analysis	
			Odds Ratio [95% CI]	p-value	Odds Ratio [95% CI]	p-value
Housing						
Collective housing	48	47.9	0.6 [0.2, 1.6]	0.29	a	
Individual housing	23	60.9	Ref.			
Batch size						
>300	35	37.1	0.3 [0.1, 0.8]	0.02	Ref.	
≤300	38	65.8	Ref.		<b>3.3 [1.2, 8.5]</b>	<b>0.02</b>
Biosecurity related to visitors (washing hands)						
No	50	50	0.8 [0.3, 2.1]	0.58	a	
Yes	21	57.1	Ref.			
Biosecurity related to farm workers (wearing coveralls)						
No	29	48.3	0.8 [0.3, 2.2]	0.63	a	

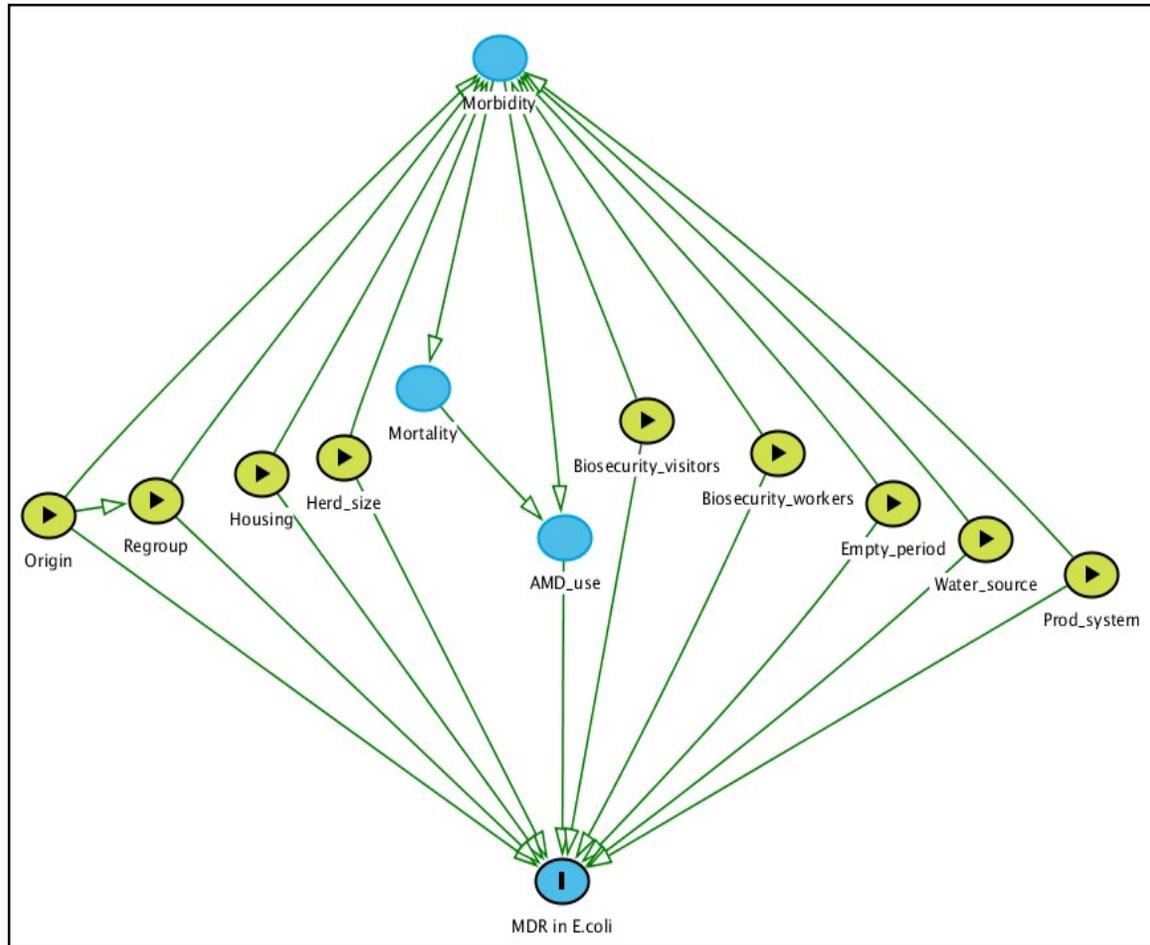
Risk factors	Number of batches <sup>c</sup>	% ≥5 classes-MDR	Univariable analysis		Multivariable analysis	
			Odds Ratio [95% CI]	p-value	Odds Ratio [95% CI]	p-value
Yes	42	54.8	Ref.			
Downtime						
≥30 days	19	47.4	0.7 [0.3, 2.1]	0.56	a	
<30 days	49	55.1	Ref.			
Water source						
Wells	55	58.2	3.1 [0.8, 11.9]	0.11	b	
Municipal aqueduct	16	31.3	Ref.			
Production system						
Continuous flow	22	63.6	2 [0.8, 4.8]	0.13	b	
All in-all out	49	46.9	Ref.			

Ref. = reference

<sup>a</sup>: Variable not significant in the univariable model and not included in the multivariable model.

<sup>b</sup>: Variable included in the full multivariable model but removed during backward selection. <sup>c</sup>: Missing data for certain risk factors resulting in a difference in the total number of batches

## Supplementary material



**Figure S 1. Directed acyclic graph (DAG) for potential risk factors associated with multidrug resistance in *E. coli* in milk-veal calves from Quebec at batch level (constructed online with Dagitty v2.3) (Textor et al., 2011)**

**Outcome:** MDR in *E. coli* (multidrug resistance in *E. coli*).

**Exposures:** Origin (geographical origin : expressed as % of calves originating from Québec in the batches, or the presence of calves from US in the batches), Regroup (grouping point: expressed as % of calves transiting through grouping points in the batches), Housing (individual or collective housing), Herd\_size (batch size), Biosecurity\_visitors (biosecurity related to visitors), Biosecurity\_workers (biosecurity related to farm workers), Empty\_period (downtime<30 days or

>= 30 days), Water\_source (water source), Prod\_system (production system: continuous flow or all in-all out).

**Ancestors of outcome:** AMD\_use (antimicrobial drug use) Morbidity, Mortality.

**Links:** AMD\_use-MDR in *E. coli* = association between antimicrobial drug use and resistance in *E. coli* to be estimated; Morbidity-Mortality= the disease leads to death; Mortality-AMD\_use = the mortality in herds lead to the antimicrobial drug use (Johnston, 1998); Morbidity-AMD\_use= the morbidity in herds leads to the antimicrobial drug use (Johnston, 1998); Origin-Morbidity= the infections (*Salmonella*, leading to morbidity) are associated to the geographical origin of animals (Fossler et al., 2005b); Origin-MDR in *E. coli*= the antimicrobial resistance of *E. coli* is associated to the geographical origin of the farm (Berge et al., 2010; Duse et al., 2015a); Origin-Regroup= The grouping point could be contaminated by resistant *E. coli* according to the origin of animals; Regroup-Morbidity= auction markets are infections vectors for animals (Wray et al., 1991; Connor et al., 2017); Regroup-MDR in *E. coli*= the markets are vectors of bacteria which could carry resistance genes (Robinson and Christley, 2007);Housing-Morbidity= the infection (*Salmonella*) was higher in free-stall than tie-stall (Fossler et al., 2005a); Housing-MDR in *E. coli*: the resistance of *E. coli* to ciprofloxacin and nalidixic acid was higher in collective housing than individual housing (Pereira et al., 2014); Herd\_size-Morbidity= infection (*Salmonella*) was higher in large farms than small farms (Fossler et al., 2005c); Herd\_size-MDR in *E. coli*= the resistance of *E. coli* nalidixic acid and streptomycin was higher in large herds than small herds (Duse et al., 2015a) ; Biosecurity/empty\_period-Morbidity= the infection (*Salmonella*) was associated with the deficiency in the biosecurity (Fossler et al., 2005a); Biosecurity/empty\_period-MDR in *E. coli*= the resistance of *E. coli* to quinolones and tetracycline was higher in the farms with the lack of hygiene and biosecurity (Bosman et al., 2014; Duse et al., 2015b) ; Water\_source-Morbidity= the infection (*Salmonella*) was higher in herds having access to surface water (Fossler et al., 2005a); Water-source-MDR in *E. coli*=the private wells contaminated with multiresistant *E. coli* (Coleman et al., 2013) could be source of resistant *E. coli* for calves; Prod\_syst-Morbidity= continuous flow system could foster infections in herds; Prod\_syst-MDR in *E. coli*= multiple resistance in *Campylobacter coli* was found higher in pig farms with continuous flow system than all in-all out system (Schuppers et al., 2005).

**Table S 1. Pattern of AMR of E. coli in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017**

No. of AMs in the pattern	Pattern	No. of isolates with the pattern
1	STR	1
	TET	3
2	AMP-AZT	1
	SUL-TET	1
3	AMP-STR-TET	1
	AZT-CHL-TET	1
	AZT-STR-TET	1
	CHL-SUL-TET	1
	STR-SUL-TET	1
	SUL-TET-TSX	1
4	AMP-STR-SUL-TET	2
	AMP-SUL-TET-TSX	1
	CHL-STR-SUL-TET	1
	CHL-STR-SUL-TSX	1

<b>No. of AMs in the pattern</b>	<b>Pattern</b>	<b>No. of isolates with the pattern</b>
5	CHL-SUL-TET-TSX	1
	AMP-CHL-STR-SUL-TET (ACSSuT)*	1
	AMP-CHL-SUL-TET-TSX	3
	AMP-STR-SUL-TET-TSX	2
	CHL-STR-SUL-TET-TSX	3
6	AMP-AZT-STR-SUL-TET-TSX	2
	AMP-CFX-CHL-STR-SUL-TET*	1
	AMP-CFX-STR-SUL-TET-TSX	1
	AMP-CHL-GEN-STR-SUL-TET*	3
	AMP-CHL-STR-SUL-TET-TSX*	14
7	AMP-AZT-CHL-STR-SUL-TET-TSX*	1
	AMP-AZT-GEN-NAL-STR-SUL-TSX	1
	AMP-CHL-CIP-STR-SUL-TET-TSX*	1
	CHL-CIP-NAL-STR-SUL-TET-TSX	2
8	AMC-AMP-CFT-CFX-CHL-STR-SUL-TET*	1

No. of AMs in the pattern	Pattern	No. of isolates with the pattern
	AMP-AZT-CHL-CIP-NAL-STR-SUL-TET*	1
	AMP-AZT-CHL-GEN-STR-SUL-TET-TSX*	1
	AMP-CHL-CIP-GEN-NAL-STR-SUL-TSX	1
9		
	AMC-AMP-CFT-CFX-CHL-STR-SUL-TET-TSX*	2
	AMP-AZT-CFT-CIP-NAL-STR-SUL-TET-TSX	1
	AMP-AZT-CFX-CHL-GEN-STR-SUL-TET-TSX*	1
	AMP-AZT-CHL-CIP-NAL-STR-SUL-TET-TSX*	1
	AMP-AZT-CHL-GEN-NAL-STR-SUL-TET-TSX*	1
10		
	AMC-AMP-AZT-CFT-CFX-CHL-STR-SUL-TET-TSX*	1
	AMP-AZT-CHL-CIP-GEN-NAL-STR-SUL-TET-TSX*	1
11		
	AMP-AZT-CFT-CHL-CIP-GEN-NAL-STR-SUL-TET-TSX*	1

\*ACSSuT alone or in combination

AMs= antimicrobials

AMC= amoxicillin-clavulanic acid; AMP= ampicillin; AZT= azithromycin; CFT= cefoxitin; CFX= ceftriaxone; CHL= chloramphenicol; CIP= ciprofloxacin; GEN=gentamicin; NAL= nalidixic acid; STR= streptomycin; SUL= sulfisoxazole; TET=tetracycline; TSX= trimethoprim-sulfamethoxazole

**Table S 2. Pattern of AMR of Salmonella Dublin from caecal content in milk-fed veal calves from Quebec, Canada, 2016-2017**

No. of AMs in the pattern	Pattern	No. of isolates with the pattern
6	CHL-CIP-NAL-STR-SUL-TET	1
8	AMC-AMP-CFT-CFX-NAL-STR-SUL-TET	1
9	AMC-AMP-CFT-CFX-CHL-NAL-STR-SUL-TET*	5

\*ACSSuT in combination

AMs= antimicrobials

AMC= amoxicillin-clavulanic acid; AMP= ampicillin; AZT= azithromycin; CFT= cefoxitin;  
CFX= ceftriaxone; CHL= chloramphenicol; CIP= ciprofloxacin; NAL= nalidixic acid; STR=  
streptomycin; SUL= sulfisoxazole; TET=tetracycline

**Table S 3. Pattern of AMR of *Campylobacter* spp in milk-fed veal calves of Quebec Canada, 2016-2017**

No. of AMs in the pattern	Pattern	No. of isolates with the pattern
1	TET	4
2	CIP-NAL	1
3	CIP-NAL-TET	6
7	AZT-CIP-CLI-ERY-NAL-TEL-TET	1

AMs= antimicrobial

AZT= azithromycin; CIP= ciprofloxacin; CLI= clindamycin; ERY=erythromycin; NAL= nalidixic acid; TEL=telithromycin; TET= tetracycline.

### III. Discussion générale

L'hypothèse de cette étude était que les élevages de veaux de lait constituent une source de *S. Dublin*, *Campylobacter* spp et *E. coli* résistants aux antimicrobiens au Québec. A travers les résultats obtenus, cette hypothèse a été confirmée. En effet, des résistances aux antimicrobiens individuels et des multirésistances ont été mises en évidence chez les trois bactéries isolées. Chez *S. Dublin*, des profils de résistance contenant jusqu'à 9 antimicrobiens et des multirésistances à au moins 7 classes d'antimicrobiens ont été notés. Chez *E. coli*, des profils de résistance contenant jusqu'à 11 antimicrobiens et des multirésistances à au moins 7 classes d'antimicrobiens ont aussi été relevés. Chez *Campylobacter* spp, il a été noté des profils de résistance contenant jusqu'à 7 antimicrobiens et des multirésistances à trois classes d'antimicrobiens. Ces résultats sont conformes à ce qui a été observé en Ontario pour *E. coli* isolé chez les veaux de lait, où il a été observé des profils de résistance contenant jusqu'à 13 antimicrobiens (151).

Chez le veau de lait, deux facteurs peuvent expliquer les niveaux de résistance élevée observée dans cette étude : l'âge et le mode de production. Ces deux facteurs sont liés à l'usage des antimicrobiens ce qui fait de l'usage des antimicrobiens le facteur principal de développement de résistance.

En ce qui concerne l'âge, les veaux de lait sont regroupés tôt entre un à sept jours d'âge pour être élevés pendant environ 20 semaines. D'une part à cet âge de regroupement, l'état physiologique et immunologique des veaux est sous-optimal ce qui les rend plus susceptibles aux infections entraînant des mortalités. En effet, il a été noté dans la présente étude une mortalité moyenne de 8% pouvant atteindre 30% dans certains lots. Cette forte mortalité a pour conséquence un usage important d'antimicrobiens favorisant une pression de sélection des souches bactériennes résistantes. Ainsi, il a été dénombré dans cette étude 21 différents antimicrobiens en usage regroupés en 12 classes. Il n'était pas rare d'observer dans certains élevages l'usage de 16 antimicrobiens différents au cours du cycle de production d'un lot de veaux de lait. Du point de vu des ADDs, le niveau d'usage des antimicrobiens administrés dans l'aliment chez les veaux de lait du Québec reste élevé. Par exemple un animal reçoit pendant le cycle de production de 140 jours en moyenne 32 doses quotidiennes recommandées de lincomycine, 27 doses quotidiennes recommandées de sulfonamides, 22 doses quotidiennes recommandées de néomycine, 16 doses quotidiennes recommandées de tétracyclines, D'autre

part, le jeune âge des veaux est un facteur qui pourrait donner un avantage adaptatif supérieur aux souches résistantes par rapport aux souches sensibles comme rapporté dans une étude réalisée chez les veaux nouveau-nés Holstein (173). Dans ladite étude, des souches d'*E. coli* résistantes et sensibles à l'acide nalidixique ont été inoculées aux veaux et aux adultes par voie orale. Chez le veau, l'excrétion fécale d'*E. coli* résistantes était significativement plus élevée que l'excrétion des souches sensibles, alors qu'il n'y avait pas de différence entre l'excrétion fécale des souches résistantes et sensibles chez les animaux plus âgés.

En ce qui concerne le mode de production des veaux de lait, il est de type intensif avec des animaux de diverses provenances regroupés ensemble dans les élevages. Ce mode de production est favorable à l'éclosion et la propagation des infections nécessitant l'usage important des antimicrobiens pour éviter les pertes liées aux mortalités et aussi pour sauvegarder les performances de croissance (3, 164). En production de veau de lait les infections les plus rencontrées sont la salmonellose, la colibacillose, la maladie respiratoire des bovins (*Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* et *Histophilus somni*), la rhinotrachéite infectieuse bovine, le virus syncytial et la diarrhée virale bovine (20).

Il est maintenant admis dans la communauté scientifique que l'usage des antimicrobiens sélectionne pour la résistance et que pour les bactéries qui sont naturellement sensibles le niveau de résistance acquise observée dans une communauté bactérienne est en rapport avec le niveau d'utilisation des antimicrobiens (111). En production bovine, les antimicrobiens sont utilisés pour des buts de prévention, de traitement ou comme promoteurs de croissance (3). Si, en Europe, l'utilisation des antimicrobiens comme promoteur de croissance a été banni, en Amérique du Nord, particulièrement aux États-Unis et au Canada, cet usage était autorisé jusqu'en 2017 (15). A partir de 2018, cet usage a été réglementé au Canada dans le cadre de la politique canadienne d'usage responsable des antimicrobiens (174, 175). Dans la présente étude qui couvrait la période 2016-2017, l'intention du traitement n'était pas indiquée dans les cahiers d'élevage pour les traitements collectifs. Il n'est donc pas possible de savoir si les antimicrobiens avaient été utilisés comme promoteurs de croissance.

Des associations statistiques ont été trouvées entre l'usage des antimicrobiens et la résistance. Ainsi l'usage de la bacitracine était négativement associé la probabilité de résistance à l'ampicilline et la tétracycline chez *E. coli*. Le phénomène de résistance étant complexe et multifactoriel (111), les résistances observées dans les élevages de veaux de lait peuvent ne pas

dépendre uniquement de l'usage des antimicrobiens chez les veaux. L'usage des antimicrobiens dans les élevages laitiers d'origine peuvent expliquer certaines résistances à des antimicrobiens tels que la tétracycline. La persistance environnementale peut aussi expliquer la résistance à la ciprofloxacine. Dans le cas de la ciprofloxacine, il n'a pas été observé d'usage des quinolones dans cette étude chez les veaux de lait. Une enquête sur l'usage des antimicrobiens dans les élevages laitiers actuellement en cours au Québec indique aussi une absence d'usage des quinolones (Hélène Lardé, 2018, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, communication personnelle). Cependant, l'usage des quinolones avait été rapporté dans les élevages laitiers au Canada dans les années 2006-2007 (176). La résistance aux fluoroquinolones observée chez les veaux de lait pourrait être due à une contamination par des gènes de résistance qui ont persisté dans les élevages laitiers par le mécanisme d'évolution compensatrice qui se serait développé au moment où les quinolones étaient encore en usage dans les élevages laitiers. Dans ce cas une double mutation de la serine dans les gènes de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV serait à la base de ce mécanisme de persistance de résistance aux fluoroquinolones (177). Le mécanisme de l'évolution compensatrice suggère que les souches devenues résistantes suite à une mutation subissent d'autres mutations pour compenser leur coût énergétique adaptatif (qui se traduit par un désavantage en terme de rapidité de multiplication par rapport aux souches sensibles en compétition) (119). Une fois les veaux nouveau-nés contaminés dans l'environnement des élevages laitiers par les *E. coli* résistantes avec un avantage adaptatif supérieur, ces *E. coli* résistantes persistent chez les veaux même en l'absence de la pression de sélection comme le souligne l'étude de Khachatryan *et al.* (173)

L'impact négatif de la résistance aux antimicrobiens chez les veaux de lait concerne aussi bien la santé animale et la santé publique. Sur le plan de la santé animale, le haut niveau de multirésistance observée chez *S. Dublin* dans cette étude pourrait limiter les options de traitement des infections à *S. Dublin*. Comme indicateur de pression de sélection, la multirésistance trouvée chez *E. coli* pourrait aussi présager des résistances chez d'autres agents bactériens du veau tel que *Mannheimia haemolytica* (impliqué dans la maladie respiratoire des bovins) (3). L'échec thérapeutique résultant de ces résistances aura pour conséquences les pertes économiques pour l'industrie du veau (mortalités et retard de croissance) et aussi un impact négatif sur le bien-être des animaux.

Sur le plan de la santé publique les résistances observées chez *S. Dublin* et *Campylobacter* sont à considérer avec attention. Dans un contexte d'émergence de *S. Dublin* au Québec, avec une

douzaine de cas humains de forme invasive enregistrés depuis 2011 (14), la présente étude vient confirmer la présence des *S. Dublin* multirésistantes chez les veaux au Québec à l'instar du récent rapport 2017 du programme québécois d'antibiorésistance qui a relevé que 100% des isolats de *S. Dublin* récoltés par le programme étaient multirésistants à plus de 3 classes d'antimicrobiens. *Campylobacter* spp multirésistant d'origine bovine est aussi une préoccupation pour la santé publique quand l'on sait que dans une étude d'attribution des sources de campylobactériose humaine au Canada, l'origine bovine arrive derrière la volaille avec 14-19% (93). On estime qu'au Canada, le nombre de cas annuels de *Campylobacter* spp ajusté pour la sous-déclaration est de 145 350 avec 429 hospitalisations et 5 décès (16, 17).

Les résistances aux antimicrobiens de catégorie I ont été observées chez les trois bactéries. Ces antimicrobiens de catégorie I sont de très haute importance pour la santé humaine suivant le classement de Santé Canada (130). Tels que définis par Santé Canada les antimicrobiens de catégorie I sont des options préférées pour le traitement d'infections bactériennes graves chez l'humain considérant l'absence ou la rareté des antimicrobiens de remplacement. Ainsi les traitements avec la ceftriaxone ou la ciprofloxacine (137) pourraient s'avérer inefficaces en cas d'infection humaine grave par *S. Dublin* résistante provenant des veaux de lait du Québec. De même le traitement de la campylobactériose invasive chez les adultes immunodéprimés à l'aide la ciprofloxacine (137) pourrait être inefficace en cas d'infection par les *Campylobacters* résistants provenant des veaux de lait du Québec.

En dehors du fait que les humains peuvent contracter les infections graves de *S. Dublin* et *Campylobacters* résistants, les *E. coli* multirésistantes observées dans cette étude peuvent servir de réservoirs de gènes de résistance pour les autres entérobactéries pathogènes. En effet les *E. coli* ont la capacité de vite acquérir les gènes de résistance qu'elles peuvent transmettre horizontalement à d'autres bactéries chez les animaux et aussi chez les humains (107, 178). Des études expérimentales ont rapporté le transfert des gènes de résistance entre les souches d'*E. coli* et aussi de *E. coli* vers *Salmonella* (178, 179). Dans les mêmes études, il a été aussi rapporté le transfert des gènes de résistance de *Salmonella* vers *E. coli*. La contamination humaine par les entérobactéries résistances de veau de lait peut se faire par la consommation de viande contaminée (151) ou par le biais de l'eau et l'environnement contaminés par les matières fécales issues de l'élevage de ces veaux ou par contact direct entre l'humain et les veaux (3). Après contamination humaine et par le biais des transferts de résistance entre

entérobactéries, les résistances aux antimicrobiens voire ceux de Type I observées chez les veaux de lait dans cette étude pourrait se retrouver transférées chez les humains.

L'étude des facteurs de risque de multirésistance a montré que les lots de petite taille étaient plus susceptibles de multirésistance que les lots de grande taille. L'hypothèse est que les petites fermes sont moins suivies sur le plan de biosécurité que les grandes fermes, vu que les fermes de petite taille avaient plus tendance à ne pas remplir les cahiers d'élevage. Cette hypothèse mériterait d'être investiguée pour mieux cerner les différences de pratiques de régies entre les petites fermes et les grandes fermes dans la perspective d'orienter des mesures à prendre pour le contrôle des résistances aux antimicrobiens chez les veaux de lait du Québec.

D'autres facteurs de risque qui ont montré une tendance significative comme la source d'eau et les systèmes de remplacement des animaux (rotation ou tout plein-tout vide) pourraient être mieux investigués avec plus de lots de veaux de lait. L'analyse de réseaux par les mouvements des veaux est une perspective qui pourra être envisagée afin d'éclaircir les liens de contact entre les différentes sources telles que les fermes de naissance, les encans, les véhicules et les fermes d'élevage afin de modéliser la dissémination des résistances aux antimicrobiens chez les veaux de lait (180). Cette analyse permettra de connaître l'importance des différents nœuds de résistance (fermes, encans) et les liens qui les unissent (échanges entre les nœuds). Ces études énumérées en perspectives devraient fournir des leviers pour le contrôle de la résistance aux antimicrobiens chez les veaux de lait du Québec. En attendant et au regard du niveau élevé des résistances observées dans cette étude, l'industrie du veau de lait devrait considérer les mesures du Gouvernement du Canada visant à promouvoir l'usage responsable des antimicrobiens importants sur le plan médical pour préserver leur efficacité afin de protéger la santé humaine et animale (174). L'amélioration de la régie d'élevage des veaux de lait devrait permettre de mieux maîtriser les infections et ainsi diminuer l'usage des antimicrobiens surtout ceux utilisés en administration collective dans un but préventif. Dans cette optique, la pratique de l'élevage tout plein-tout vide devrait être privilégiée sur la pratique de rotation. Les lots de petites tailles devraient faire l'objet de renforcement de suivi sanitaire. La vaccination contre les infections courantes (surtout virales) du veau de lait devrait permettre de limiter les infections intercurrentes bactériennes nécessitant l'usage des antimicrobiens.

Comme tout travail scientifique, cette étude comprend des limites. La première limite porte sur les données manquantes sur l'usage des antimicrobiens. Les lots de petite taille étaient 5 fois

plus susceptibles de ne pas remplir le questionnaire ou de le remplir avec des données manquantes. Ceci a pour impact probable la baisse de la puissance statistique entre l'usage des antimicrobiens et la résistance et aussi une sous représentativité (découlant d'un biais de sélection) des lots de petites dans l'analyse. La seconde limite de l'étude est que l'observance sur la biosécurité rapportée dans le questionnaire n'a pas été évaluée dans les fermes. Cette limite porte sur la bonne classification (exposé ou non exposé) des facteurs de risque liés à la biosécurité dans les lots résultant en un probable biais d'information. Si les lots de petites tailles ont tendance à surévaluer leurs pratiques de biosécurité ce biais d'information serait différentiel avec pour impact probable une sous-estimation de la force d'association entre les facteurs de risque de biosécurité et la multirésistance chez *E. coli*. La troisième limite porte sur le fait qu'un seul animal a été échantillonné par lot pour l'étude de la résistance chez *E. coli*. Un animal a été échantillonné par lot pour répondre aux contraintes de capacité d'analyse du laboratoire. Ceci pourrait entraîner une baisse de sensibilité dans la détection de la résistance à l'échelle du lot (présence des lots faux négatifs) si l'animal échantillonné n'était pas résistant alors que d'autres animaux dans le lot étaient résistants mais pas échantillonnés. Ce serait le cas si la prévalence de résistance intra-troupeau était faible. Ceci pourrait concerner l'amoxicilline-acide clavulanique, la ceftriaxone et la céfoxitine qui ont montré une prévalence de résistance inférieure à 10%. Cette baisse de sensibilité à l'échelle du lot pourrait entraîner un biais de classification non différentielle de l'issue (résistance du lot) avec comme impact probable une sous-estimation de la force d'association entre par exemple l'usage du céftiofur et la résistance de *E. coli* à la ceftriaxone.

La lutte contre la résistance aux antimicrobiens aussi bien dans les compartiment humain, animal et environnemental est de nos jours un enjeu largement partagé sur le plan mondial et au Canada (7, 15). Nous espérons que ce travail aurait contribuer à cet immense défi. Comme le déclare certains auteurs (181) "*l'efficacité d'un antimicrobien est un bien public mondial*".

## **Conclusion**

Ce mémoire est une contribution aux nombreux travaux de recherche pour la lutte contre la résistance aux antimicrobiens dans le monde en général et au Canada et Québec en particulier. Cette étude est la première à investiguer les facteurs de risque associés à la résistance aux antimicrobiens chez les veaux de lait au Canada. A l'issue de ce travail les conclusions suivantes peuvent être tirées :

- Le veau de lait est une source de *Salmonella Dublin*, *Campylobacter spp* et *E. coli* multirésistants aux antimicrobiens au Québec ;
- La résistance aux antimicrobiens de haute importance pour la santé humaine est observée chez les trois bactéries cependant le méropénem (carbapénem) testé pour *S. Dublin* et *E. coli* n'a pas montré de résistance ;
- L'utilisation de la bacitracine est un facteur protecteur de la résistance à l'ampicilline et la tétracycline ;
- La taille du lot (lot de petite taille) est un facteur de risque de multirésistance aux antimicrobiens chez *E. coli*.
- La source d'eau (eau de puits par rapport à l'aqueduc municipal) et le système de remplacement des animaux (tout plein-tout vide par rapport à la rotation) sont des facteurs qui ont montré des tendances de risque de multirésistance chez *E. coli* et qui méritent des études ultérieures avec davantage plus de lots de veaux de laits.

## Références bibliographiques

1. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic / Antimicrobial Resistance. 2018 [<https://www.cdc.gov/drugresistance/>]. Disponible: <https://www.cdc.gov/drugresistance/>
2. Food and agriculture organization of United Nations (FAO). Drivers, dynamics and epidemiology of antimicrobial resistance in animal production. Rome. 2016. <http://www.fao.org/3/a-i6209e.pdf>.
3. Cameron A, McAllister TA. Antimicrobial usage and resistance in beef production. J Anim Sci Biotechnol. 2016;7:68. Epub 2016/12/22.
4. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Résistance aux antimicrobiens. Aide-mémoire N°194. 2016 [cité le 2017-11-17]. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/fr/>
5. Anonymous. Review on antimicrobial resistance. Tackling drug-resistant infections globally. 2016 [cité le 2019-02-26]. Disponible: <https://amr-review.org>
6. World Bank. Drug-resistant infections: a threat to our economic future. Washington, DC. World Bank. 2017 [cité le 2017-11-18]. Disponible: <http://documents.worldbank.org/curated/en/323311493396993758/pdf/114679-REVISED-v2-Drug-Resistant-Infections-Final-Report.pdf>
7. World Health Organization. Global action plan on antimicrobial resistance Geneva, Switzerland. 2015 [cité le 2018-01-11]. Disponible: <http://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>
8. Centre de collaboration nationale des maladies infectieuses. Le rôle de la santé humaine et de la santé animale dans la résistance aux antimicrobiens. 2016 [cité le 11-03-

2017 ]. Disponible: <https://ccnmi.ca/publications/role-de-sante-humaine-de-sante-animale-resistance-aux-antimicrobiens/>

9. Levy SB, Fitzgerald GB, Macone AB. Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature*. 1976;260:40.

10. Mather AE, Reid SW, Maskell DJ, Parkhill J, Fookes MC, Harris SR, et al. Distinguishable epidemics of multidrug-resistant *Salmonella* Typhimurium DT104 in different hosts. *Science*. 2013;341(6153):1514-7. Epub 2013/09/14.

11. World Health Organization. Integrated surveillance of antimicrobial resistance in foodborne bacteria: application of a one health approach. Guidance from the WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). Geneva, Switzerland. 2017. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255747/9789241512411-eng.pdf;jsessionid=F0C0D595AF7D93F66AFC38CB3AC7D99F?sequence=1>.

12. Les Producteurs de bovins du Québec. Le Canada un exportateur de boeuf. 2018 [cité le 2018-11-23]. Disponible: <http://bovin.qc.ca/wp-content/uploads/2016/03/Specialmarchesimportexport.pdf>

13. Les Producteurs de bovins du Québec. La production-Portrait global. 2018 [cité le 2018-11-23]. Disponible: <http://bovin.qc.ca/la-production/portrait-global/coup-doeil/>

14. Bekal S, Côté G, Nadeau M, Lefebvre B, Bharat A, Mandes R, et al. Emergence of Multidrug-Resistant *Salmonella* Dublin from Human and Animal Sources in Québec. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2014;25(2):e27-e8.

15. Government of Canada. Canadian Antimicrobial Resistance Surveillance System (CARSS) report 2016. Public Health Agency of Canada Ottawa, Canada. 2016. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/publications/drugs-health-products/canadian-antimicrobial-resistance-surveillance-system-report-2016.html>.

16. Thomas MK, Murray R, Flockhart L, Pintar K, Fazil A, Nesbitt A, et al. Estimates of foodborne illness-related hospitalizations and deaths in Canada for 30 specified pathogens and unspecified agents. *Foodborne Pathog Dis.* 2015;12(10):820-7.
17. Thomas MK, Murray R, Flockhart L, Pintar K, Pollari F, Fazil A, et al. Estimates of the burden of foodborne illness in Canada for 30 specified pathogens and unspecified agents, circa 2006. *Foodborne Pathog Dis.* 2013;10(7):639-48.
18. Organisation mondiale de santé (OMS). *Campylobacter*. 2017 [cité le 02-02-2017]. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/fr/>
19. Organisation mondiale de santé animale (OIE). *OIE International Standards on Antimicrobial Resistance*, 2003. Paris. OIE; 2003.
20. Conseil des Productions Animales du Québec. *Guide Veau lourd*. Québec, Canada. 1999.
21. Gouvernement du Québec. *Monographie de l'industrie du boeuf et du veau au Québec*. Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ). 2015. <https://www.mapaq.gouv.qc.ca/fr/Publications/monographieveaulourd.pdf>.
22. Acha P N, Szyfres B. *Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux*. 3<sup>e</sup> éd. Paris. Office international des epizooties. 2005.
23. McDonough SP, Stull CL, Osburn BI. Enteric pathogens in intensively reared veal calves. *Am J Vet Res.* 1994;55(11):1516-20. Epub 1994/11/01.
24. Myers LL, Firehammer BD, Border MM, Shoop DS. Prevalence of enteric pathogens in the feces of healthy beef calves. *Am J Vet Res.* 1984;45(8):1544-8. Epub 1984/08/01.
25. Kaesbohrer A, Schroeter A, Tenhagen BA, Alt K, Guerra B, Appel B. Emerging antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* with public health relevance. *Zoonoses Public Health.* 2012;59 Suppl 2:158-65.

26. Brenner FW, Villar RG, Angulo FJ, Tauxe R, Swaminathan B. Salmonella nomenclature. *J Clin Microbiol.* 2000;38(7):2465-7. Epub 2000/07/06.
27. McDonough PL, Fogelman D, Shin SJ, Brunner MA, Lein DH. Salmonella enterica serotype Dublin infection: an emerging infectious disease for the northeastern United States. *J Clin Microbiol.* 1999;37(8):2418-27. Epub 1999/07/16.
28. Cook A, Reid-Smith RJ, Irwin RJ, McEwen SA, Young V, Ribble C. Antimicrobial resistance in *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Escherichia coli* isolated from retail grain-fed veal meat from Southern Ontario, Canada. *J Food Prot.* 2011;74(8):1245-51. Epub 2011/08/09.
29. Kirchner MJ, Liebana E, McLaren I, Clifton-Hadley FA, Wales AD, Davies RH. Comparison of the environmental survival characteristics of *Salmonella* Dublin and *Salmonella* Typhimurium. *Vet Microbiol.* 2012;159(3-4):509-14.
30. Islam M, Morgan J, Doyle MP, Phatak SC, Millner P, Jiang X. Persistence of *Salmonella enterica* serovar typhimurium on lettuce and parsley and in soils on which they were grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. *Foodborne Pathog Dis.* 2004;1(1):27-35. Epub 2005/07/05.
31. Moore BC, Martinez E, Gay JM, Rice DH. Survival of *Salmonella enterica* in Freshwater and Sediments and Transmission by the Aquatic Midge *Chironomus tentans* (Chironomidae: Diptera). *Appl Environ Microbiol.* 2003;69(8):4556-60.
32. Mitscherlich E, Marth E H. Microbial survival in the environment : bacteria and rickettsiae important in human and animal health. Berlin, Springer-Verlag, New York 1984.
33. Sorensen O, McFall M, Manninen K. Prevalence of *Salmonella* in dairy herds in Alberta. *Can Vet J.* 2003;44(3):230-1.
34. Côté G. Enquête de prévalence de *Salmonella* Dublin chez bovins laitiers – PHASE 2. *J Med Vet Prat Québec.* 2016;Edition mai 2016.

35. Fossler CP, Wells SJ, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Bender JB, et al. Prevalence of *Salmonella* spp on conventional and organic dairy farms. *J Am Vet Med Assoc.* 2004;225(4):567-73. Epub 2004/09/04.
36. Callaway T R, Keen J E, Edrington T S, Baumgard L H, Spicer L, Fonda E S, et al. Fecal Prevalence and Diversity of *Salmonella* Species in Lactating Dairy Cattle in Four States. *J Dairy Sci.* 2005;88:3603-8.
37. Fossler CP, Wells SJ, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Bender JB, et al. Herd-level factors associated with isolation of *Salmonella* in a multi-state study of conventional and organic dairy farms: II. *Salmonella* shedding in calves. *Prev Vet Med.* 2005;70(3-4):279-91.
38. Nielsen LR, Baggesen DL, Aabo S, Moos MK, Rattenborg E. Prevalence and risk factors for *Salmonella* in veal calves at Danish cattle abattoirs. *Epidemiol Infect.* 2011;139(7):1075-80.
39. Nielsen LR. Within-herd prevalence of *Salmonella* Dublin in endemically infected dairy herds. *Epidemiol Infect.* 2013;141(10):2074-82. Epub 2013/01/19.
40. Sorensen O, Van Donkersgoed J, McFall M, Manninen K, Gensler G, Ollis G. *Salmonella* spp. shedding by alberta beef cattle and the detection of *Salmonella* spp. in ground beef. *J Food Prot.* 2002;65(3):484-91. Epub 2002/03/20.
41. Valenzuela JR, Sethi AK, Aulik NA, Poulsen KP. Antimicrobial resistance patterns of bovine *Salmonella enterica* isolates submitted to the Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory: 2006-2015. *J Dairy Sci.* 2017;100(2):1319-30. Epub 2016/12/26.
42. Coté G. Enquête de prévalence de *Salmonella* Dublin dans les élevages vache-veau *J Med Vet Prat Québec.* 2017;Edition mars 2017.

43. Warnick LD, Crofton LM, Pelzer KD, Hawkins MJ. Risk factors for clinical salmonellosis in Virginia, USA cattle herds. *Prev Vet Med.* 2001;49(3-4):259-75. Epub 2001/04/20.
44. Fossler CP, Wells SJ, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Eberly LE, et al. Cattle and environmental sample-level factors associated with the presence of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms. *Prev Vet Med.* 2005;67(1):39-53.
45. Fossler CP, Wells SJ, Kaneene JB, Ruegg PL, Warnick LD, Bender JB, et al. Herd-level factors associated with isolation of Salmonella in a multi-state study of conventional and organic dairy farms: I. Salmonella shedding in cows. *Prev Vet Med.* 2005;70(3-4):257-77.
46. Wray C, Todd N, McLaren IM, Beedell YE. The epidemiology of Salmonella in calves: the role of markets and vehicles. *Epidemiol Infect.* 1991;107(3):521-5. Epub 1991/12/01.
47. Costa LF, Paixao TA, Tsolis RM, Baumler AJ, Santos RL. Salmonellosis in cattle: advantages of being an experimental model. *Res Vet Sci.* 2012;93(1):1-6.
48. Nielsen LR, Schukken YH, Grohn YT, Ersboll AK. Salmonella Dublin infection in dairy cattle: risk factors for becoming a carrier. *Prev Vet Med.* 2004;65(1-2):47-62.
49. Nielsen LR. Review of pathogenesis and diagnostic methods of immediate relevance for epidemiology and control of Salmonella Dublin in cattle. *Vet Microbiol.* 2013;162(1):1-9.
50. Organisation Mondiale de Santé Animale Salmonellosis. Dans: OIE, rédacteur. *Manuel of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2016.* 2017. Disponible: [http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.09.08\\_SALMONELLOSIS.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.09.08_SALMONELLOSIS.pdf)

51. Malorny B, Paccassoni E, Fach P, Bunge C, Martin A, Helmuth R. Diagnostic Real-Time PCR for Detection of Salmonella in Food. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(12):7046-52.
52. Ranieri ML, Shi C, Moreno Switt AI, den Bakker HC, Wiedmann M. Comparison of Typing Methods with a New Procedure Based on Sequence Characterization for Salmonella Serovar Prediction. *J Clin Microbiol.* 2013;51(6):1786-97.
53. Nielsen LR, Toft N, Ersboll AK. Evaluation of an indirect serum ELISA and a bacteriological faecal culture test for diagnosis of Salmonella serotype Dublin in cattle using latent class models. *J Appl Microbiol.* 2004;96(2):311-9. Epub 2004/01/16.
54. Baggesen DL, Nielsen LR, Sorensen G, Bodker R, Ersboll AK. Growth inhibitory factors in bovine faeces impairs detection of Salmonella Dublin by conventional culture procedure. *J Appl Microbiol.* 2007;103(3):650-6. Epub 2007/08/24.
55. Persson S, Jacobsen T, Olsen JE, Olsen KE, Hansen F. A new real-time PCR method for the identification of Salmonella Dublin. *J Appl Microbiol.* 2012;113(3):615-21. Epub 2012/07/04.
56. Hoelzer K, Moreno Switt AI, Wiedmann M. Animal contact as a source of human non-typhoidal salmonellosis. *Vet Res.* 2011;42:34.
57. Ahlstrom C, Muellner P, Spencer SE, Hong S, Saupe A, Rovira A, et al. Inferring source attribution from a multiyear multisource data set of Salmonella in Minnesota. *Zoonoses Public Health.* 2017;10.1111/zph.12351.
58. Butler AJ, Pintar KD, Thomas MK. Estimating the Relative Role of Various Subcategories of Food, Water, and Animal Contact Transmission of 28 Enteric Diseases in Canada. *Foodborne Pathog Dis.* 2016;13(2):57-64. Epub 2016/02/11.
59. Fang FC, Fierer J. Human Infection with Salmonella dublin. *Medicine.* 1991;70(3):198-207.

60. Bemis DA, Craig LE, Dunn JR. Salmonella transmission through splash exposure during a bovine necropsy. *Foodborne Pathog Dis.* 2007;4(3):387-90. Epub 2007/09/22.
61. Centers for Disease Control and Prevention. Multistate Outbreak of Multidrug-Resistant Salmonella Heidelberg Infections Linked to Contact with Dairy Bull Calves. 2016 [<https://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-11-16/index.html>]. Disponible: <https://www.cdc.gov/salmonella/heidelberg-11-16/index.html>
62. Jokinen CC, Koot J, Cole L, Desruisseau A, Edge TA, Khan IU, et al. The distribution of Salmonella enterica serovars and subtypes in surface water from five agricultural regions across Canada. *Water Res.* 2015;76:120-31.
63. World Health Organization. Salmonella (non-typhoidal) Geneva, Switzerland. 2018 [cité le 19-07-2018]. Disponible: [http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
64. Centers for Disease Control and Prevention. Information for Healthcare Professionals and Laboratories. 2015 [cité le 01-03-2017]. Disponible: <https://www.cdc.gov/salmonella/general/technical.html>
65. Gouvernement du Canada. Nombre de cas signalés de maladies de 1924 à 2014 au Canada - maladies à déclaration obligatoire en direct. 2016 [maladies.canada.ca/declaration-obligatoire/graphiques?c=pl]. Disponible: [maladies.canada.ca/declaration-obligatoire/graphiques?c=pl](http://maladies.canada.ca/declaration-obligatoire/graphiques?c=pl)
66. Bauerfeind R, von Graevenitz A, Kimmig P, Schiefer HG, Schwarz T, Slenczka W, et al. Bacterial Zoonoses. *Zoonoses: Infectious Diseases Transmissible from Animal to Man.* Fourth<sup>e</sup> éd. Washington,DC: ASM Press2016. p. 175-291.
67. Keithlin J, Sargeant JM, Thomas MK, Fazil A. Systematic review and meta-analysis of the proportion of non-typhoidal Salmonella cases that develop chronic sequelae. *Epidemiol Infect.* 2015;143(7):1333-51.

68. Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive Salmonella Infections. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28(4):901-37.
69. Helms M, Evans S, Vastrup P, Gerner-Smidt P, Molbak K. Short and long term mortality associated with foodborne bacterial gastrointestinal infections: registry based study. *BMJ.* 2003;326(7385):357.
70. Lastovica AJ, On SLW, Zhang L. The Family Campylobacteraceae. Dans: Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, rédacteurs. *The Prokaryotes: Deltaproteobacteria and Epsilonproteobacteria.* Berlin, Heidelberg. Springer Berlin Heidelberg; 2014. p. 307-35.
71. Huang H, Brooks BW, Lowman R, Carrillo CD. Campylobacter species in animal, food, and environmental sources, and relevant testing programs in Canada. *Can J Microbiol.* 2015;61(10):701-21. Epub 2015/10/01.
72. Inglis GD, McAllister TA, Larney FJ, Topp E. Prolonged survival of Campylobacter species in bovine manure compost. *Appl Environ Microbiol.* 2010;76(4):1110-9.
73. Gilpin BJ, Robson B, Scholes P, Nourozi F, Sinton LW. Survival of Campylobacter spp. in bovine faeces on pasture. *Lett Appl Microbiol.* 2009;48(2):162-6. Epub 2008/11/21.
74. Jäderlund L, Sessitsch A, Arthurson V. Persistence of Two Campylobacter jejuni Strains in Soil and on Spinach Plants. *Appl Environ Soil Sci.* 2011;2011:1-7.
75. Cools I, Uyttendaele M, Caro C, D'Haese E, Nelis HJ, Debevere J. Survival of Campylobacter jejuni strains of different origin in drinking water. *J Appl Microbiol.* 2003;94(5):886-92. Epub 2003/04/16.
76. Arsenault J. *Epidémiologie spatiale de la campylobactériose au Québec.* Université de Montréal; 2010.

77. Inglis GD, Kalischuk LD, Busz HW. A survey of *Campylobacter* species shed in faeces of beef cattle using polymerase chain reaction. *Can J Microbiol.* 2003;49(11):655-61.
78. Guevremont E, Lamoureux L, Loubier CB, Villeneuve S, Dubuc J. Detection and characterization of *Campylobacter* spp. from 40 dairy cattle herds in Quebec, Canada. *Foodborne Pathog Dis.* 2014;11(5):388-94. Epub 2014/03/13.
79. Trokhymchuk A, Waldner C, Chaban B, Gow S, Hill JE. Prevalence and diversity of *Campylobacter* species in Saskatchewan retail ground beef. *J Food Prot.* 2014;77(12):2106-10. Epub 2014/12/05.
80. Hald B, Skov MN, Nielsen EM, Rahbek C, Madsen JJ, Waino M, et al. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in wild birds on Danish livestock farms. *Acta Vet Scand.* 2016;58:11.
81. Busato A, Hofer D, Lentze T, Gaillard C, Burnens A. Prevalence and infection risks of zoonotic enteropathogenic bacteria in Swiss cow-calf farms. *Vet Microbiol.* 1999;69(4):251-63. Epub 1999/10/27.
82. Klein D, Alispahic M, Sofka D, Iwersen M, Drillich M, Hilbert F. Prevalence and risk factors for shedding of thermophilic *Campylobacter* in calves with and without diarrhea in Austrian dairy herds. *J Dairy Sci.* 2013;96(2):1203-10. Epub 2012/12/25.
83. Minihan D, Whyte P, O'Mahony M, Fanning S, McGill K, Collins JD. *Campylobacter* spp. in Irish feedlot cattle: a longitudinal study involving pre-harvest and harvest phases of the food chain. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health.* 2004;51(1):28-33. Epub 2004/03/05.
84. Warner DP, Bryner JH. *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* inoculation of neonatal calves. *Am J Vet Res.* 1984;45(9):1822-4. Epub 1984/09/01.
85. Komali MA, Skirrow BM. Taxonomy of genus *Campylobacter*. Dans: Butzler J-P, rédacteur. *Campylobacter* infection in Man and Animals. United States 1984.

86. Van Donkersgoed J, Janzen ED, Chirino-Trejo M, Berry C, Clark EG, Haines DM. *Campylobacter jejuni* abortions in two beef cattle herds in Saskatchewan. *Can Vet J*. 1990;31(5):373-7. Epub 1990/05/01.
87. Organisation Mondiale de la Santé Animale. Infection with *Campylobacter jejuni* and *C. coli*. Dans: OIE, rédacteur. OIE Terrestrial Manual. Paris2017.
88. Atabay HI, Corry JE. The isolation and prevalence of campylobacters from dairy cattle using a variety of methods. *J Appl Microbiol*. 1998;84(5):733-40. Epub 1998/07/23.
89. Khan IUH, Hill S, Nowak E, Edge TA. Effect of Incubation Temperature on the Detection of Thermophilic *Campylobacter* Species from Freshwater Beaches, Nearby Wastewater Effluents, and Bird Fecal Droppings. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(24):7639-45.
90. Singh H, Rathore RS, Singh S, Cheema PS. Comparative Analysis of Cultural Isolation and Pcr Based Assay for Detection of *Campylobacter Jejuni* In Food and Faecal Samples. *Braz J Microbiol*. 2011;42(1):181-6.
91. Lawson AJ, Shafi MS, Pathak K, Stanley J. Detection of campylobacter in gastroenteritis: comparison of direct PCR assay of faecal samples with selective culture. *Epidemiol Infect*. 1998;121(3):547-53. Epub 1999/02/25.
92. Inglis GD, Kalischuk LD. Use of PCR for direct detection of *Campylobacter* species in bovine feces. *Appl Environ Microbiol*. 2003;69(6):3435-47. Epub 2003/06/06.
93. Ravel A, Hurst M, Petrica N, David J, Mutschall SK, Pintar K, et al. Source attribution of human campylobacteriosis at the point of exposure by combining comparative exposure assessment and subtype comparison based on comparative genomic fingerprinting. *PLoS One*. 2017;12(8):e0183790. Epub 2017/08/25.

94. Boysen L, Rosenquist H, Larsson JT, Nielsen EM, Sorensen G, Nordentoft S, et al. Source attribution of human campylobacteriosis in Denmark. *Epidemiol Infect.* 2014;142(8):1599-608.
95. Arsenault J, Michel P, Berke O, Ravel A, Gosselin P. Environmental characteristics associated with campylobacteriosis: accounting for the effect of age and season. *Epidemiol Infect.* 2012;140(2):311-22.
96. Thompson JS, Cahoon FE, Hodge DS. Rate of *Campylobacter* spp. isolation in three regions of Ontario, Canada, from 1978 to 1985. *J Clin Microbiol.* 1986;24(5):876-8. Epub 1986/11/01.
97. Davis M A, Moore D L, Baker K N K, French N P, Patnode M, Hensley J, et al. Risk Factors for Campylobacteriosis in Two Washington State Counties with High Numbers of Dairy Farms. *J Clin Microbiol.* 2013;51(12):3921-7.
98. Whiley H, van den Akker B, Giglio S, Bentham R. The role of environmental reservoirs in human campylobacteriosis. *Int J Environ Res Public Health.* 2013;10(11):5886-907.
99. Pintar KD, Thomas KM, Christidis T, Otten A, Nesbitt A, Marshall B, et al. A Comparative Exposure Assessment of *Campylobacter* in Ontario, Canada. *Risk Anal.* 2016;10.1111/risa.12653.
100. Centers for Disease Control and Prevention. *Campylobacter.* 2014 [cité le 02-02-2017 2017]. Disponible: <https://www.cdc.gov/foodsafety/diseases/campylobacter/>
101. Bibaht K, Mandal De Mol P, Butzler J-P. Clinical aspects of *Campylobacter* infections in humans. Dans: Butzler J-P, rédacteur. *Campylobacter infection in Man and Animals.* United States 1984.

102. Pope JE, Krizova A, Garg AX, Thiessen-Philbrook H, Ouimet JM. Campylobacter reactive arthritis: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* 2007;37(1):48-55. Epub 2007/03/13.
103. Allos BM. Association between Campylobacter infection and Guillain-Barre syndrome. *J Infect Dis.* 1997;176 Suppl 2:S125-8. Epub 1997/12/13.
104. Croxen MA, Law RJ, Scholz R, Keeney KM, Wlodarska M, Finlay BB. Recent advances in understanding enteric pathogenic Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26(4):822-80.
105. Gaulin C, Ramsay D, Catford A, Bekal S. Escherichia coli O157:H7 Outbreak Associated with the Consumption of Beef and Veal Tartares in the Province of Quebec, Canada, in 2013. *Foodborne Pathog Dis.* 2015;12(7):612-8.
106. Sørum H, Sunde M. Resistance to antibiotics in the normal flora of animals. *Vet Res.* 2001;32:227-41.
107. Grasselli E, François P, Gutacker M, Gettler B, Benagli C, Convert M, et al. Evidence of horizontal gene transfer between human and animal commensal Escherichia coli strains identified by microarray. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2008;53(3):351-8.
108. Silley P. Susceptibility testing methods, resistance and breakpoints: what do these terms really mean? *Rev Sci Tech.* 2012;31(1):33-41. Epub 2012/08/02.
109. Agence fédérale belge pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire. Prévention et contrôle de la résistance aux carbapénèmes chez les animaux. 2017.  
[http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2017/\\_documents/Avis14-2017\\_SciCom2016-08resistanceauxcarbapenemes.pdf](http://www.afsca.be/comitescientifique/avis/2017/_documents/Avis14-2017_SciCom2016-08resistanceauxcarbapenemes.pdf).
110. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international

expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-81. Epub 2011/07/29.

111. Acar JF, Moulin G. Antimicrobial resistance: a complex issue. *Rev Sci Tech.* 2012;31(1):23-31. Epub 2012/08/02.

112. Guardabassi L, Courvalain P. Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. Dans: Aarestrup FM, rédacteur. *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin.* Washington, D.C. Washington, D.C. : ASM Press; 2006. p. 1-18.

113. Snyder L. *Molecular genetics of bacteria.* 4th edition. ° éd. Peters JE, Henkin TM, Champness W, rédacteurs. Washington : ASM Press. 2013.

114. Bennett PM. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 1999;43(1):1-4.

115. Hall RM. *Encyclopedia of genetics.* 2001 [2019-03-27]. Disponible: [www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/gene-cassette](http://www.sciencedirect.com/topics/neuroscience/gene-cassette)

116. Bergman M, Nyberg ST, Huovinen P, Paakkari P, Hakanen AJ, Finnish Study Group for Antimicrobial R. Association between antimicrobial consumption and resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(3):912-7.

117. Checkley S L, Campbell J R, Chirino-Trejo M, Janzen E D, Waldner C L. Associations between antimicrobial use and the prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from feedlot cattle in western Canada. *Can Vet J.* 2010;51:853-61.

118. Bosman AB, Wagenaar JA, Stegeman JA, Vernooij JC, Mevius DJ. Antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli* in veal calves is associated with antimicrobial drug use. *Epidemiol Infect.* 2014;142(9):1893-904.

119. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(4):260-71.

120. Seppala H, Klaukka T, Vuopio-Varkila J, Muotiala A, Helenius H, Lager K, et al. The effect of changes in the consumption of macrolide antibiotics on erythromycin resistance in group A streptococci in Finland. Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. *N Engl J Med.* 1997;337(7):441-6. Epub 1997/08/14.
121. Enne VI, Livermore DM, Stephens P, Hall LMC. Persistence of sulphonamide resistance in *Escherichia coli* in the UK despite national prescribing restriction. *The Lancet.* 2001;357(9265):1325-8.
122. Andersson DI, Hughes D. Persistence of antibiotic resistance in bacterial populations. *FEMS Microbiol Rev.* 2011;35(5):901-11.
123. CRSV. Usage judicieux des antibiotiques. Chaire de recherche en salubrité des viandes Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Montréal. 2018.  
<http://www.medvet.umontreal.ca/crsv/uja.php>.
124. Government of United States. The judicious use of medically important antimicrobial drugs in food-producing animals. Food and Drug Administration. 2012.  
<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/UCM216936.pdf>.
125. Government of United States. 2014 summary report on Antimicrobials Sold or Distributed for Use in Food-Producing Animals. Food and Drug Administration. 2014.  
<https://www.fda.gov/downloads/ForIndustry/UserFees/AnimalDrugUserFeeActADUFA/UCM476258.pdf>.
126. Spellberg B, Hansen G R, Kar A, Cordova C D, Price L B, Johnson J R. Antibiotic Resistance in Humans and Animals. *Natl Acad Sci.* 2016, <https://nam.edu/wp-content/uploads/2016/07/Antibiotic-Resistance-in-Humans-and-Animals.pdf>.
127. Van Boeckel TP, Brower C, Gilbert M, Grenfell BT, Levin SA, Robinson TP, et al. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(18):5649-54.

128. Levy SB, FitzGerald GB, Macone AB. Changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of a tetracycline-supplemented feed on a farm. *N Engl J Med*. 1976;295(11):583-8. Epub 1976/09/09.
129. Edrington TS, Farrow RL, Hume ME, Anderson PN, Hagevoort GR, Caldwell DJ, et al. Evaluation of the potential antimicrobial resistance transfer from a multi-drug resistant *Escherichia coli* to *Salmonella* in dairy calves. *Curr Microbiol*. 2013;66(2):132-7.
130. Government of Canada. Categorization of Antimicrobial Drugs Based on Importance in Human Medicine. Health Canada. 2009. <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/veterinary-drugs/antimicrobial-resistance/categorization-antimicrobial-drugs-based-importance-human-medicine.html>.
131. Woolhouse M, Ward M, van Bunnik B, Farrar J. Antimicrobial resistance in humans, livestock and the wider environment. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015;370(1670):20140083.
132. Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Lignes directrices de l'OMS pour l'utilisation chez les animaux de rente destinés à l'alimentation humaine des antimicrobiens importants pour la médecine humaine Genève, Suisse. 2017. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259244/WHO-NMH-FOS-FZD-17.4-fre.pdf;jsessionid=5645A9E17900C591F3D8A3BA8EF95D10?sequence=1>.
133. Farmed animal antimicrobial stewardship (FAAST). Categorization of antimicrobial drugs based on importance in human medicine. 2019 [cité le 2019-02-28, <https://www.amstewardship.ca/factsheet/veterinarians/categorizing-antimicrobial-drugs-based-on-importance-in-human-medicine/>]. Disponible: <https://www.amstewardship.ca/factsheet/veterinarians/categorizing-antimicrobial-drugs-based-on-importance-in-human-medicine/>
134. Bengtsson B, Greko C. Antibiotic resistance--consequences for animal health, welfare, and food production. *Ups J Med Sci*. 2014;119(2):96-102.

135. Berkner S, Konradi S, Schonfeld J. Antibiotic resistance and the environment--there and back again: Science & Society series on Science and Drugs. EMBO Rep. 2014;15(7):740-4.
136. Woolhouse ME, Ward MJ. Microbiology. Sources of antimicrobial resistance. Science. 2013;341(6153):1460-1. Epub 2013/09/14.
137. Government of United States. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: Enteric Bacteria. NARMS Integrated Report: 2014. Food and Drug Administration 2014.  
<https://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/SafetyHealth/AntimicrobialResistance/NationalAntimicrobialResistanceMonitoringSystem/UCM528861.pdf>.
138. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement, et du travail (ANSES). Évaluation des risques d'émergence d'antibiorésistances liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale France. 2014 [cité le 04-02-2014 2017]. Disponible: <https://www.anses.fr>
139. Sanders P., Granier S A, Blanc-Gonnet A, Santolini J. Les Plans de Surveillance de l'Antibiorésistance en santé animale : le contexte européen et les évolutions récentes. Bull Epid Santé Anim Alim. 2015;53(Spécial Antibiotiques et Antibiorésistances).
140. Government of Canada. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance. Report 2013. Chapter 1. Design and methods. Public Health Agency of Canada. Guelph (Ontario). 2015.
141. Gouvernement du Québec. Résultat de la surveillance passive de l'antibiorésistance. Rapport 2017. Programme québécois d'antibiosurveillance vétérinaire, 2017.
142. Poppe C, Martin L, Muckle A, Archambault A, McEwen S, Weir E. Characterization of antimicrobial resistance of Salmonella Newport isolated from animals, the environment, and animal food products in Canada. Can J Vet Res. 2006;70(2):105-14.

143. Izzo M, Mohler V, House J. Antimicrobial susceptibility of Salmonella isolates recovered from calves with diarrhoea in Australia. *Aust Vet J.* 2011;89(10):402-8.
144. Targant H, Ponsin C, Brunet C, Doublet B, Cloeckaert A, Madec JY, et al. Characterization of resistance genes in multidrug-resistant Salmonella enterica serotype Typhimurium isolated from diseased cattle in France (2002 to 2007). *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(4):419-25. Epub 2010/01/23.
145. Davis MA, Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Gay JM, Gay C, et al. Changes in antimicrobial resistance among Salmonella enterica Serovar typhimurium isolates from humans and cattle in the Northwestern United States, 1982-1997. *Emerg Infect Dis.* 1999;5(6):802-6. Epub 1999/12/22.
146. Berge AC, Moore DA, Sischo WM. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of Salmonella enterica in preweaned calves from dairies and calf ranches. *Am J Vet Res.* 2006;67(9):1580-8. Epub 2006/09/05.
147. Englen MD, Fedorka-Cray PJ, Ladely SR, Dargatz DA. Antimicrobial resistance patterns of Campylobacter from feedlot cattle. *J Appl Microbiol.* 2005;99(2):285-91. Epub 2005/07/22.
148. Rao S, Van Donkersgoed J, Bohaychuk V, Besser T, Song XM, Wagner B, et al. Antimicrobial drug use and antimicrobial resistance in enteric bacteria among cattle from Alberta feedlots. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(4):449-57. Epub 2009/12/05.
149. Englen MD, Hill AE, Dargatz DA, Ladely SR, Fedorka-Cray PJ. Prevalence and antimicrobial resistance of Campylobacter in US dairy cattle. *J Appl Microbiol.* 2007;102(6):1570-7.
150. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2012. *EFSA J.* 2014;12(3):3590.

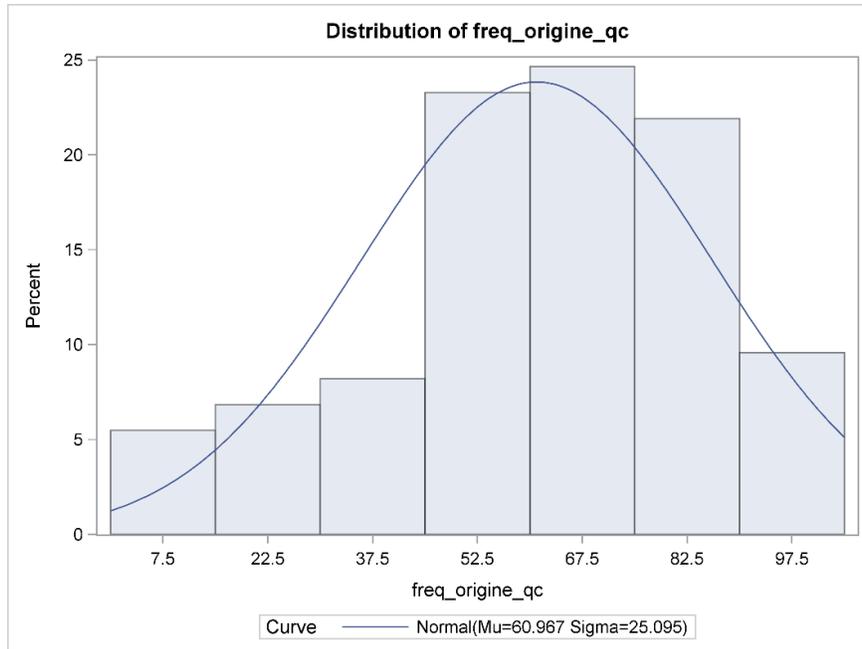
151. Cook A, Reid-Smith RJ, Irwin RJ, McEwen SA, Young V, Butt K, et al. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from retail milk-fed veal meat from Southern Ontario, Canada. *J Food Prot.* 2011;74(8):1328-33. Epub 2011/08/09.
152. Benedict KM, Gow SP, McAllister TA, Booker CW, Hannon SJ, Checkley SL, et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Recovered from Feedlot Cattle and Associations with Antimicrobial Use. *PLoS One.* 2015;10(12):e0143995.
153. (OMS) OMDIS. Facteurs de risque Genève, Suisse. 2019 [cité le 2019-02-28, [https://www.who.int/topics/risk\\_factors/fr/](https://www.who.int/topics/risk_factors/fr/)]. Disponible: [https://www.who.int/topics/risk\\_factors/fr/](https://www.who.int/topics/risk_factors/fr/)
154. Belloc C, Lam DN, Pellerin JL, Beaudeau F, Laval A. Effect of quinolone treatment on selection and persistence of quinolone-resistant *Escherichia coli* in swine faecal flora. *J Appl Microbiol.* 2005;99(4):954-9. Epub 2005/09/16.
155. Cavaco LM, Abatih E, Aarestrup FM, Guardabassi L. Selection and Persistence of CTX-M-Producing *Escherichia coli* in the Intestinal Flora of Pigs Treated with Amoxicillin, Ceftiofur, or Cefquinome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(10):3612-6.
156. Chantziaras I, Smet A, Haesebrouck F, Boyen F, Dewulf J. Studying the effect of administration route and treatment dose on the selection of enrofloxacin resistance in commensal *Escherichia coli* in broilers. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(7):1991-2001. Epub 2017/04/19.
157. Kanwar N, Scott HM, Norby B, Loneragan GH, Vinasco J, Cottell JL, et al. Impact of treatment strategies on cephalosporin and tetracycline resistance gene quantities in the bovine fecal metagenome. *Sci Rep.* 2014;4:5100.
158. Inglis GD, McAllister TA, Busz HW, Yanke LJ, Morck DW, Olson ME, et al. Effects of subtherapeutic administration of antimicrobial agents to beef cattle on the prevalence of antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter hyointestinalis*. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(7):3872-81.

159. Schrag SJ, Pena C, Fernandez J, Sanchez J, Gomez V, Perez E, et al. Effect of short-course, high-dose amoxicillin therapy on resistant pneumococcal carriage: a randomized trial. *JAMA*. 2001;286(1):49-56. Epub 2001/07/04.
160. Catry B, Dewulf J, Maes D, Pardon B, Callens B, Vanrobaeys M, et al. Effect of Antimicrobial Consumption and Production Type on Antibacterial Resistance in the Bovine Respiratory and Digestive Tract. *PLoS One*. 2016;11(1):e0146488. Epub 2016/01/29.
161. European medicines agency. Principles on assignment of defined daily dose for animals (DDDA) and defined course dose for animals (DCDA). Veterinary Medicines Division. London, United Kingdom. 2015.
162. Jensen VF, Jacobsen E, Bager F. Veterinary antimicrobial-usage statistics based on standardized measures of dosage. *Prev Vet Med*. 2004;64(2-4):201-15. Epub 2004/08/25.
163. Dorado-Garcia A, Mevius DJ, Jacobs JJ, Van Geijlswijk IM, Mouton JW, Wagenaar JA, et al. Quantitative assessment of antimicrobial resistance in livestock during the course of a nationwide antimicrobial use reduction in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(12):3607-19. Epub 2016/09/03.
164. Jarrige N, Cazeau G, Morignat E, Chanteperdrix M, Gay E. Quantitative and qualitative analysis of antimicrobial usage in white veal calves in France. *Prev Vet Med*. 2017;144:158-66. Epub 2017/07/19.
165. Bondt N, Jensen VF, Puister-Jansen LF, van Geijlswijk IM. Comparing antimicrobial exposure based on sales data. *Prev Vet Med*. 2013;108(1):10-20.
166. Duse A, Waller KP, Emanuelson U, Unnerstad HE, Persson Y, Bengtsson B. Risk factors for quinolone-resistant *Escherichia coli* in feces from preweaned dairy calves and postpartum dairy cows. *J Dairy Sci*. 2015;98(9):6387-98. Epub 2015/07/21.

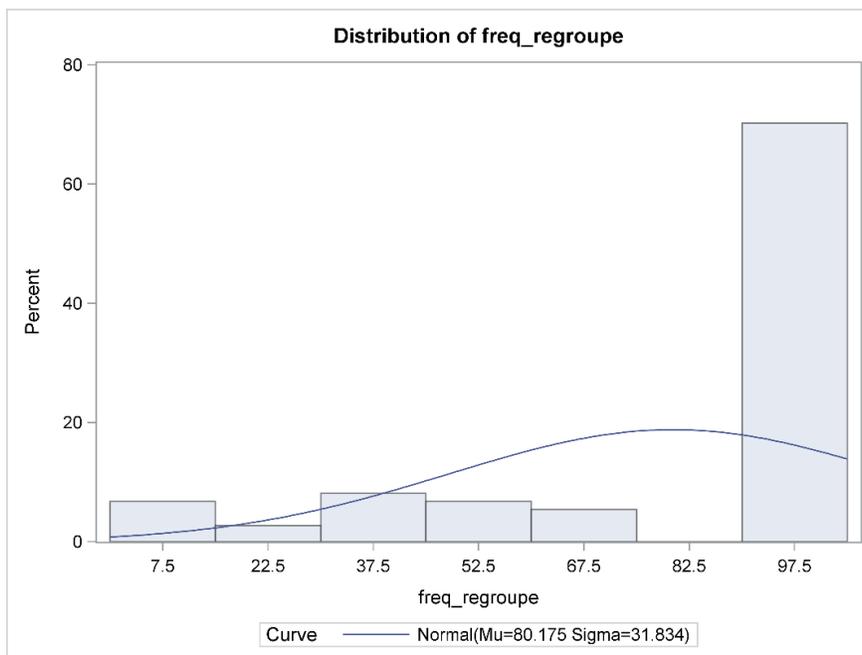
167. Duse A, Waller KP, Emanuelson U, Unnerstad HE, Persson Y, Bengtsson B. Risk factors for antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* from preweaned dairy calves. *J Dairy Sci.* 2015;98(1):500-16. Epub 2014/12/04.
168. Pereira RV, Siler JD, Ng JC, Davis MA, Warnick LD. Effect of preweaned dairy calf housing system on antimicrobial resistance in commensal *Escherichia coli*. *J Dairy Sci.* 2014;97(12):7633-43. Epub 2014/10/13.
169. Gow SP, Waldner CL, Rajić A, McFall ME, Reid-Smith R. Prevalence of antimicrobial resistance in fecal generic *Escherichia coli* isolated in western Canadian cow-calf herds. Part I--beef calves. *Can J Vet Res.* 2008;72(2):82-90.
170. Berge AC, Hancock DD, Sicho WM, Besser TE. Geographic, farm, and animal factors associated with multiple antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* isolates from cattle in the western United States. *J Am Vet Med Assoc.* 2010;236(12):1338-44. Epub 2010/06/17.
171. Robinson SE, Christley RM. Exploring the role of auction markets in cattle movements within Great Britain. *Prev Vet Med.* 2007;81(1-3):21-37. Epub 2007/05/08.
172. Connor JTO, Clegg TA, More SJ. Efficacy of washing and disinfection in cattle markets in Ireland. *Ir Vet J.* 2017;70:6.
173. Khachatryan AR, Hancock DD, Besser TE, Call DR. Role of Calf-Adapted *Escherichia coli* in Maintenance of Antimicrobial Drug Resistance in Dairy Calves. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70(2):752-7.
174. Government of Canada. Responsible use of Medically Important Antimicrobials in Animals. 2018. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/antibiotic-antimicrobial-resistance/animals/actions/responsible-use-antimicrobials.html>.

175. Gouvernement du Canada. Notices sur les substances médicamenteuses. 2018 [cité le 2018-11-14 2018]. Disponible: <http://www.inspection.gc.ca/animaux/aliments-du-betail/substances-medicatrices/fra/1300212600464/1320602461227>
176. Saini V, McClure JT, Leger D, Dufour S, Sheldon AG, Scholl DT, et al. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *J Dairy Sci.* 2012;95(3):1209-21.
177. Fuzi M, Szabo D, Cserecsik R. Double-Serine Fluoroquinolone Resistance Mutations Advance Major International Clones and Lineages of Various Multi-Drug Resistant Bacteria. *Front Microbiol.* 2017;8(2261).
178. Marsik FJ, Parisi JT, Blendon DC. Transmissible drug resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* from humans, animals, and their rural environments. *J Infect Dis.* 1975;132(3):296-302. Epub 1975/09/01.
179. Nivas SC, York MD, Pomeroy BS. In vitro and in vivo transfer of drug resistance for *Salmonella* and *Escherichia coli* strains in turkeys. *Am J Vet Res.* 1976;37(4):433-7. Epub 1976/04/01.
180. Dubé C, Ribble C, Kelton D. An analysis of the movement of dairy cattle through 2 large livestock markets in the province of Ontario, Canada. *Can Vet J.* 2010;51(11):1254-60.
181. Eggleston K, Zhang R, Zeckhauser R. The Global Challenge of Antimicrobial Resistance: Insights from Economic Analysis. *Int J Environ Res Public Health.* 2010;7:3141-9.

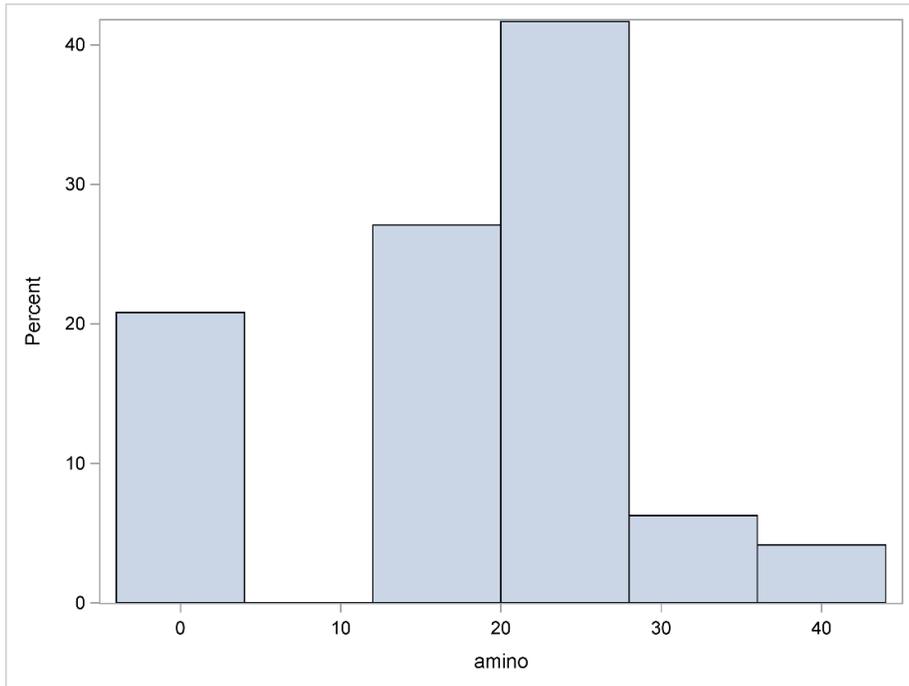
## Annexes : distributions des données des variables catégorisées



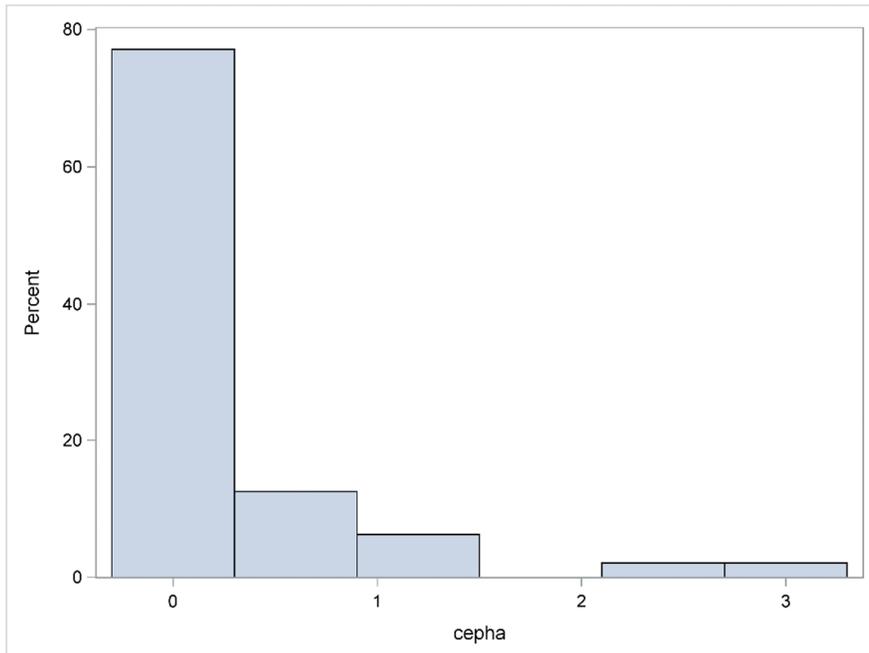
Distribution de la proportion de veaux originaires du Québec dans les troupeaux



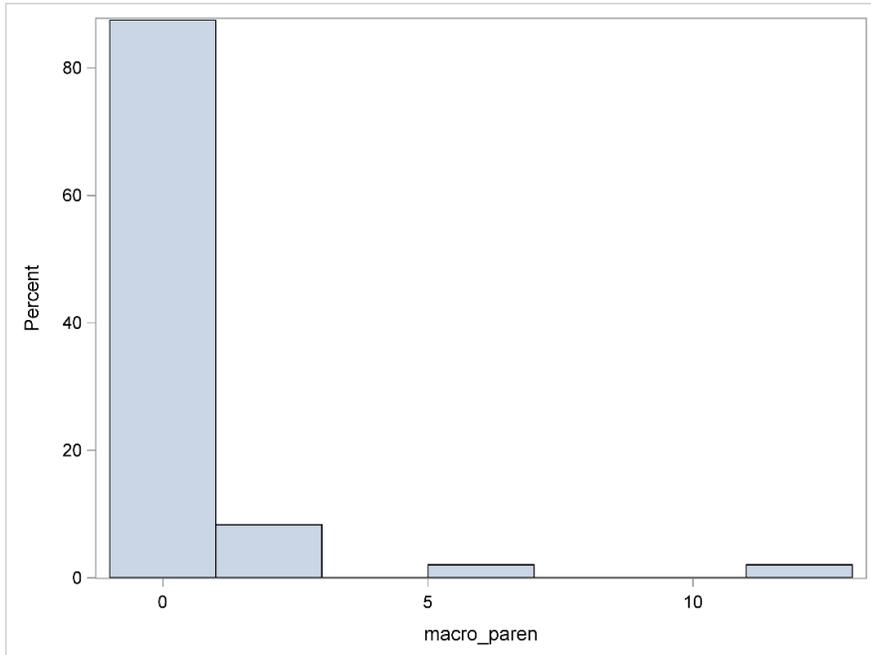
Distribution de la proportion de veaux passant par les points de regroupement



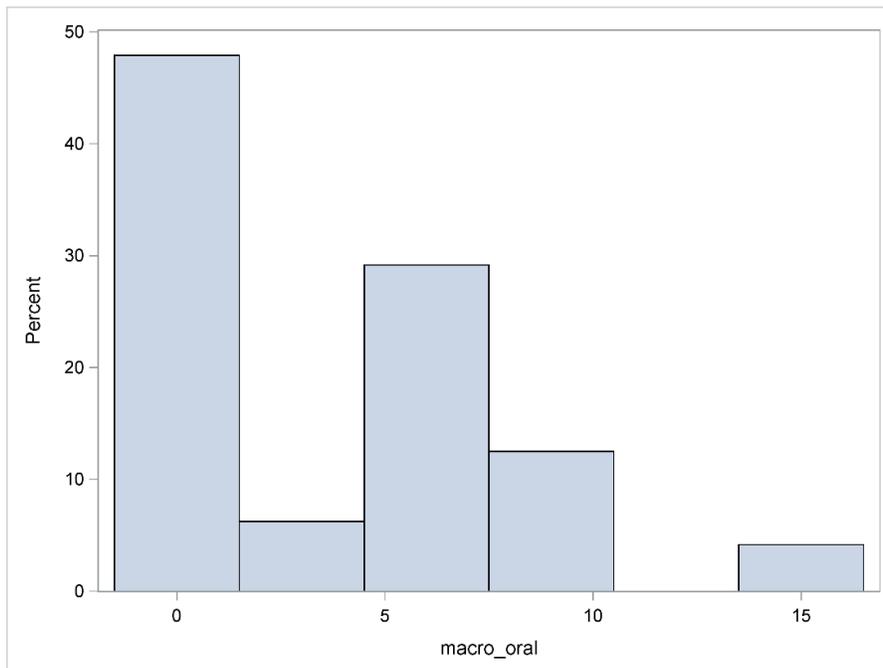
Distribution de l'usage des aminosides en (ADDs/tête)



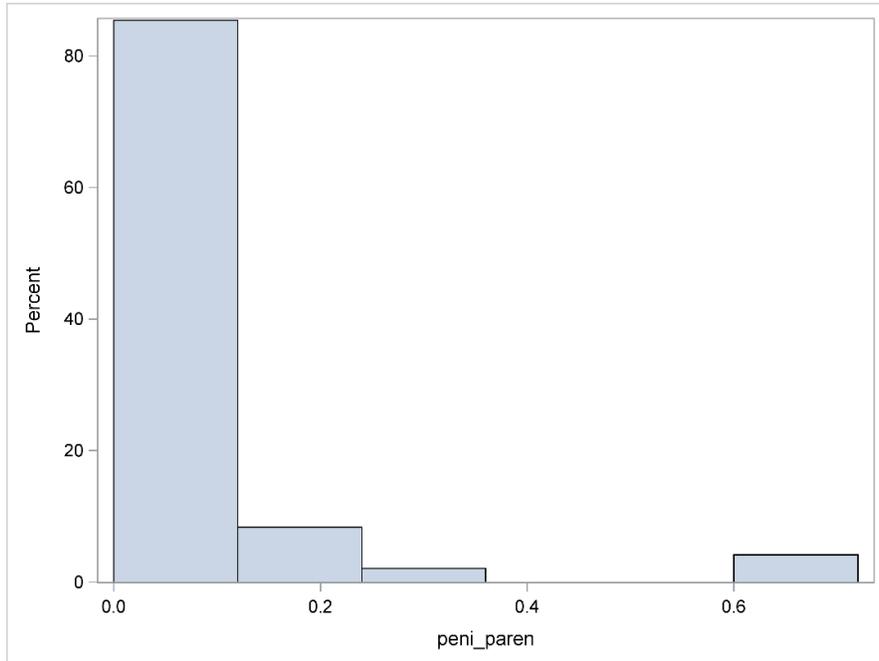
Distribution de l'usage des céphalosporines (en ADDs/tête)



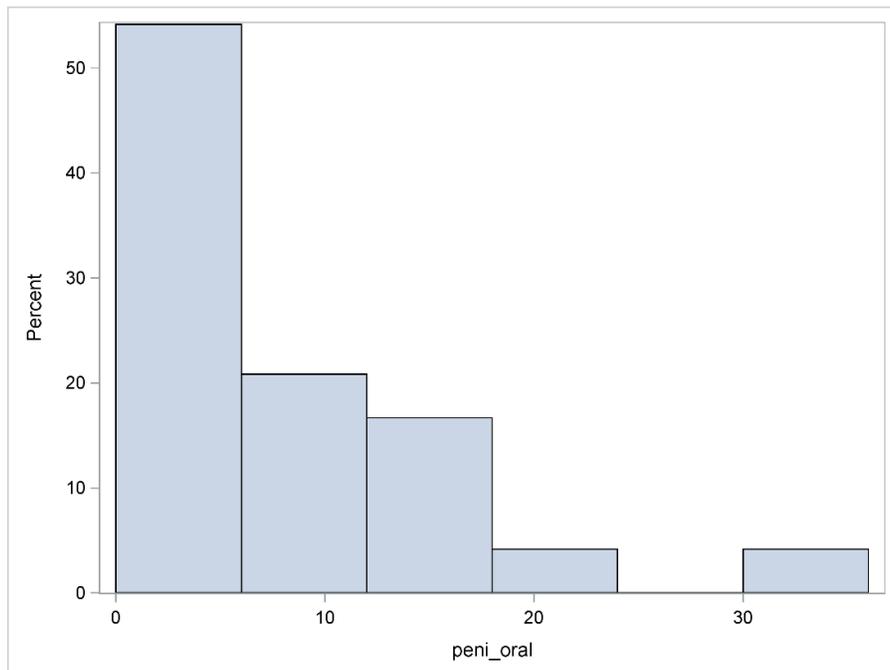
Distribution de l'usage des macrolides par voie parentérale (en ADDs/tête)



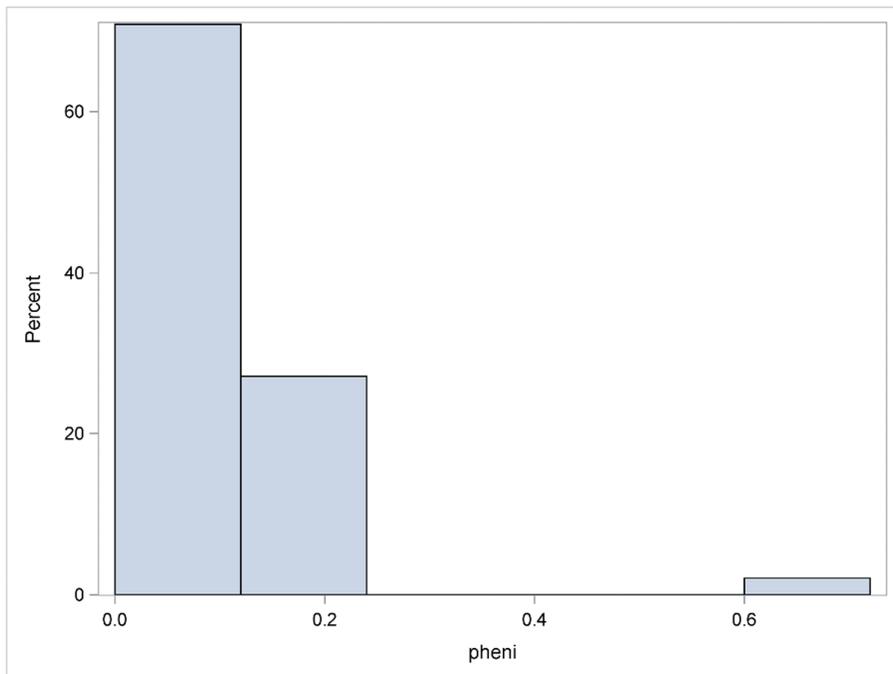
Distribution de l'usage des macrolides par voie orale (en ADDs/tête)



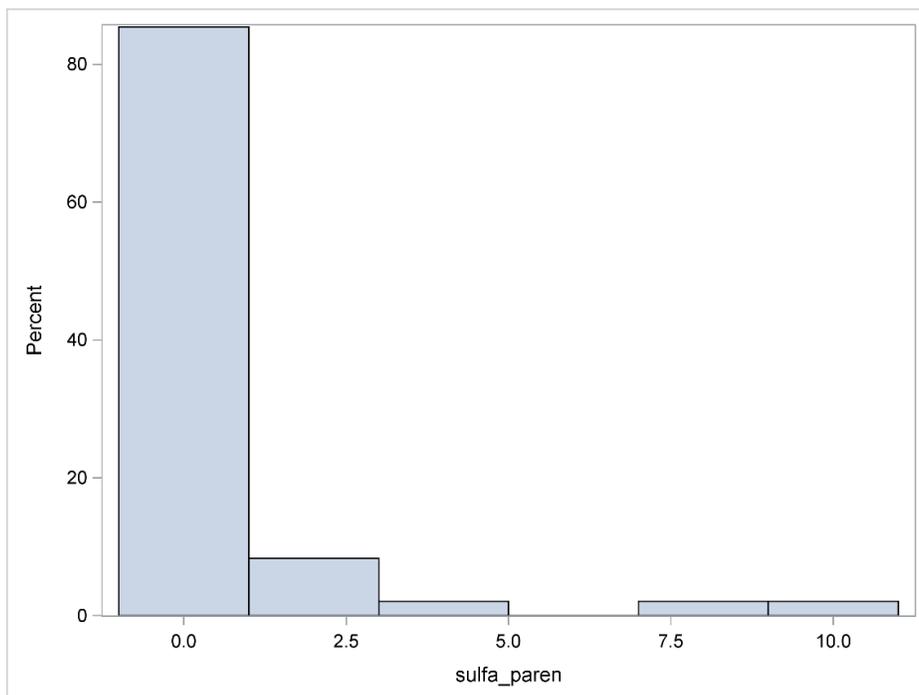
Distribution de l'usage des pénicillines par voie parentérale (en ADDs/tête)



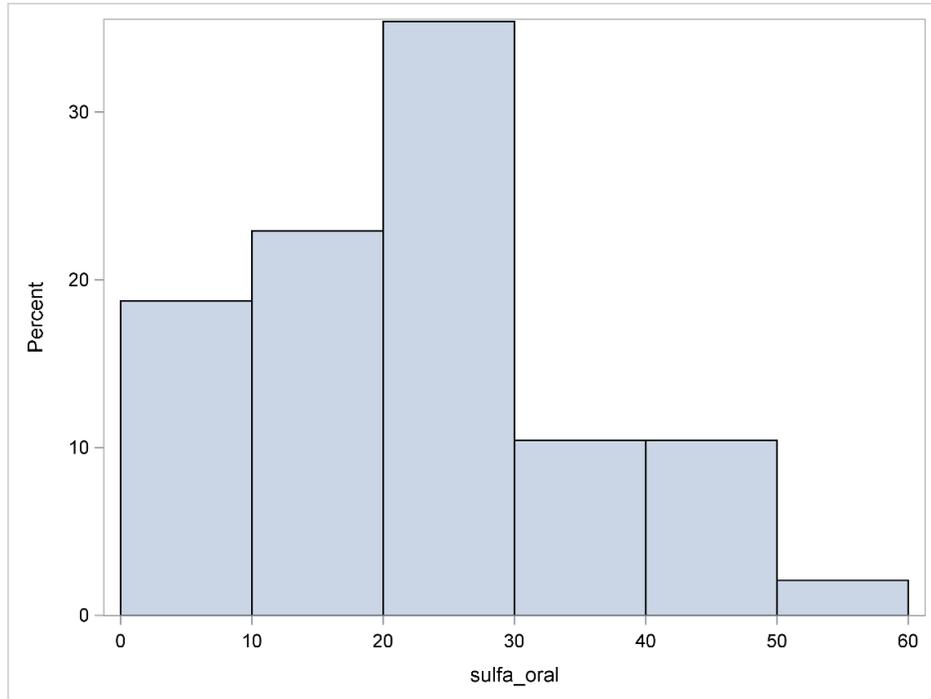
Distribution de l'usage des pénicillines par voie orale (en ADDs/tête)



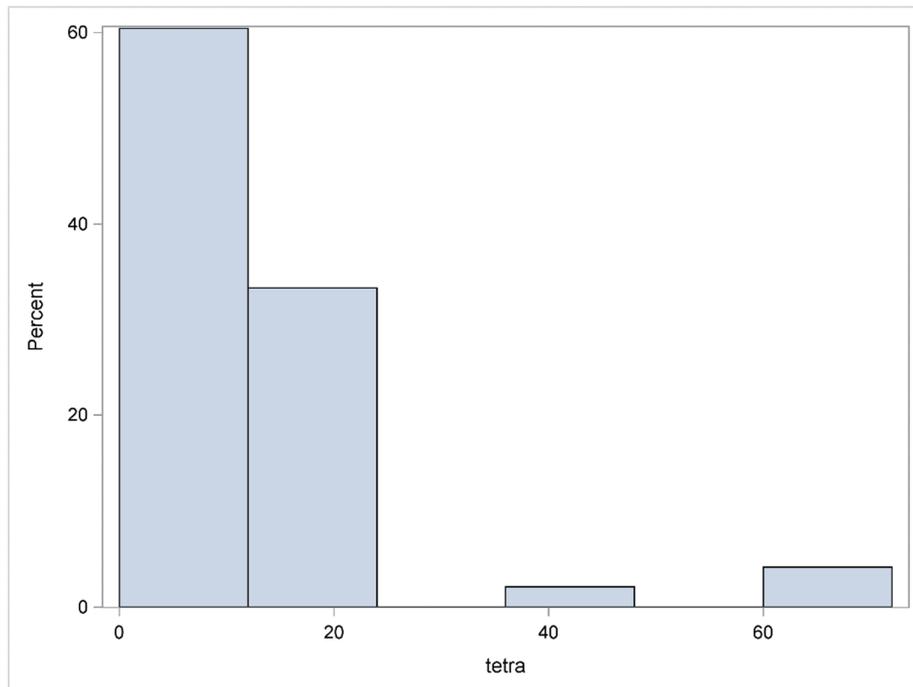
Distribution de l'usage des phénicols (en ADDs/tête)



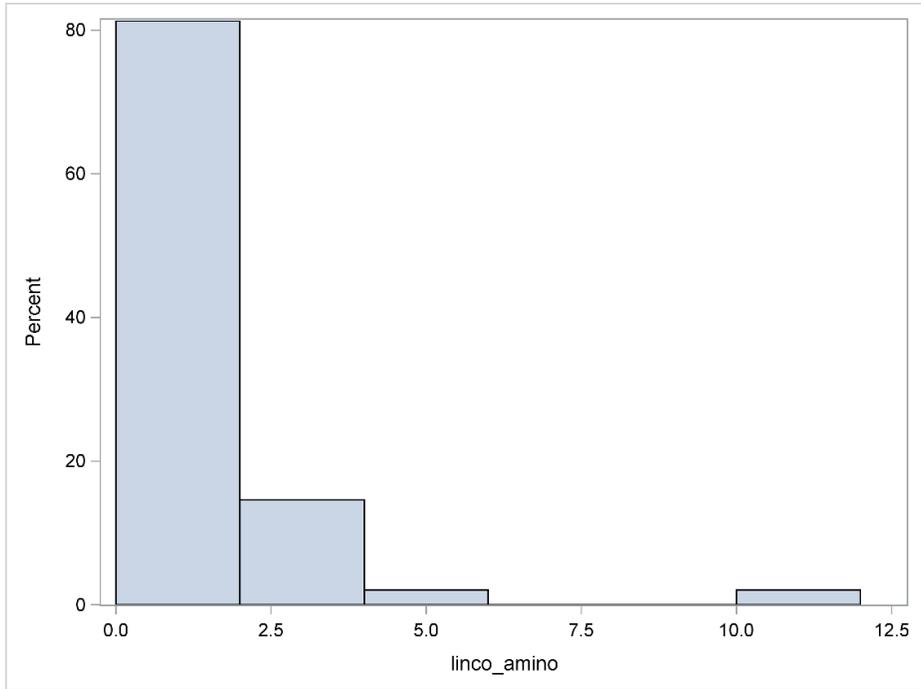
Distribution de l'usage des sulfamides par voie parentérale (en ADDs/tête)



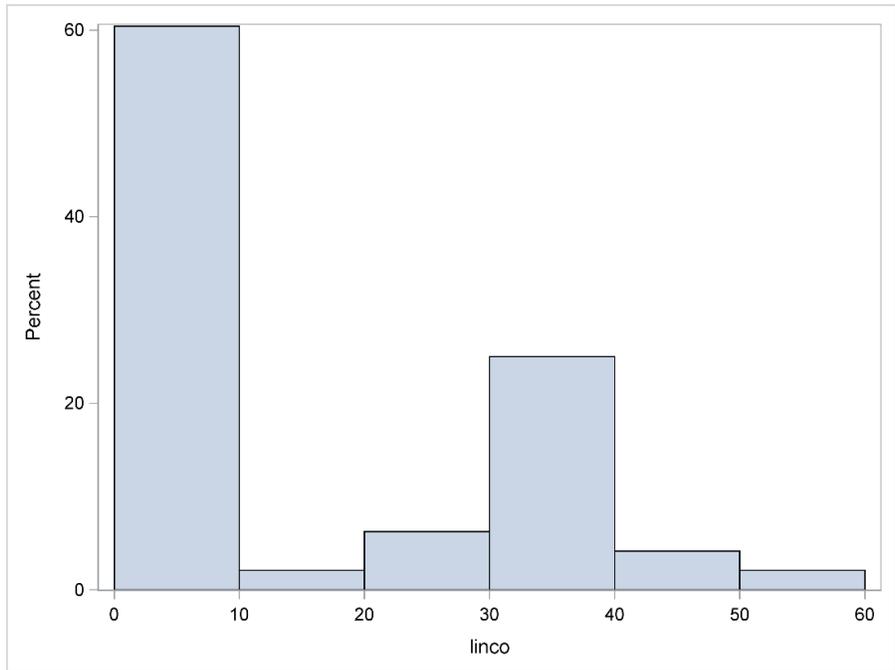
Distribution de l'usage des sulfamides par voie orale (en ADDs/tête)



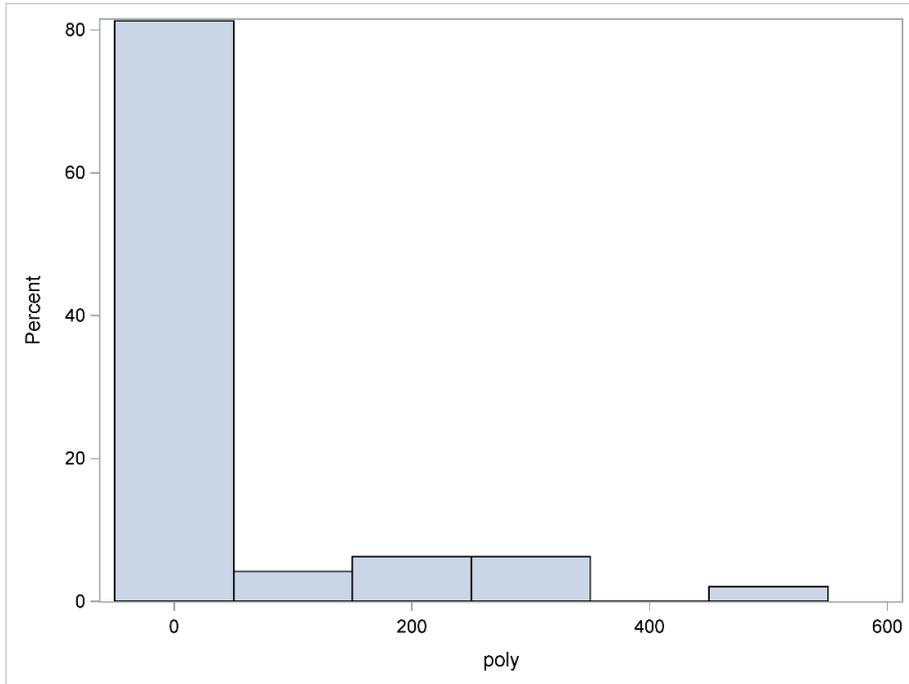
Distribution de l'usage des tétracyclines par voie orale (en ADDs/tête)



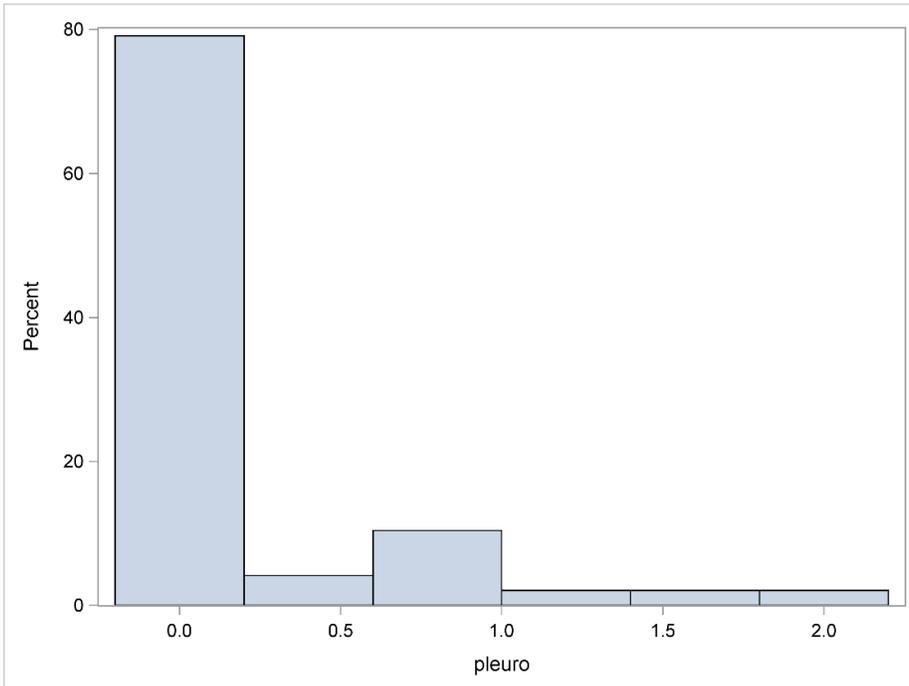
Distribution de l'usage des lincosamides-aminosides (en ADDs/tête)



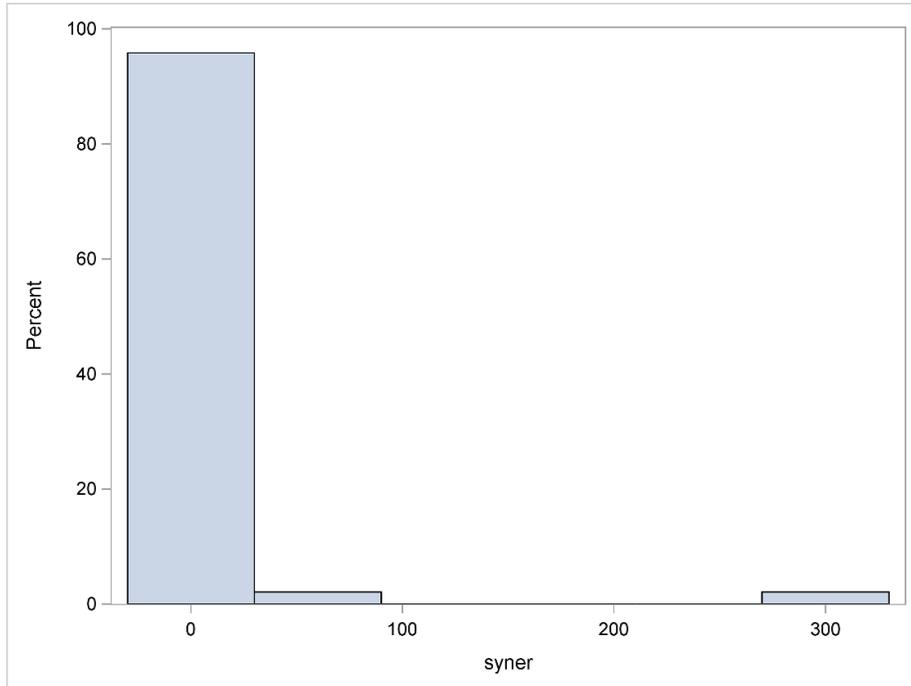
Distribution de l'usage des lincosamides (en ADDs/tête)



Distribution de l'usage des polypeptides (en ADDs/tête)



Distribution de l'usage des pleuromutilines (en ADDs/tête)



Distribution de l'usage des synergistines (en ADDs/tête)