

Tendances récentes de la résistance aux antibiotiques des *Salmonella* d'origines animale et humaine

François-Xavier Weill¹, Renaud Lailier², Anne Brisabois²

¹Centre national de référence des *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris

²Unité caractérisation et épidémiologie bactérienne, Agence française de sécurité sanitaire des aliments, LERQAP, Maisons-Alfort

En France, 65 % des toxi-infections alimentaires collectives déclarées sont liées à *Salmonella* [1]. L'incidence des *Salmonella* dans les pays développés est en diminution depuis quelques années, mais de plus en plus de souches résistantes aux antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire sont identifiées. *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium appartenant au lysotype DT104 résistant habituellement à l'amoxicilline/ampicilline, à la streptomycine et à la spectinomycine, aux sulfamides, au chloramphénicol/florfenicol, et à la tétracycline, s'est répandu dans les pays développés chez l'homme et l'animal depuis la fin des années 80. Plus récemment, des souches du sérotype Newport multirésistantes aux antibiotiques (Newport-MDRampC) viennent d'émerger aux Etats-Unis. Ces souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération par production de la céphalosporinase plasmidique CMY-2, seraient apparues initialement chez le bétail après la mise sur le marché d'une céphalosporine de troisième génération en médecine vétérinaire. La surveillance des salmonelloses chez l'homme en France repose sur un réseau volontaire constitué par environ 1 500 laboratoires hospitaliers et privés de France métropolitaine, des Dom ou des Tom qui envoient leurs souches pour sérotypage, au Centre national de référence des *Salmonella* (CNR-Salm) ou des informations concernant des souches sérotypées localement. Depuis 2000, le CNR-Salm étudie la sensibilité aux antibiotiques à partir d'un échantillon représentatif de souches. La surveillance des salmonelles d'origine non humaine s'effectue au travers du réseau *Salmonella* regroupant environ 150 laboratoires vétérinaires et agro-alimentaires sur l'ensemble du territoire français. Ils transmettent régulièrement et volontairement à l'Afssa, les souches qu'ils ont isolées dans le cadre d'enquêtes, d'auto-contrôles, de plans de surveillance ou de contrôles réglementaires, pour sérotypage ainsi que leurs propres résultats de sérotypage. Les souches reçues sont accompagnées de renseignements épidémiologiques concernant leur origine d'isolement et permettant de les diviser en trois secteurs principaux (i) « Santé et production animales » (SA), qui regroupe les souches isolées de prélèvements sur l'animal et les souches de l'environnement proche de l'élevage (ii) « Hygiène des aliments » (HA), qui comprend les souches isolées de l'alimentation humaine ou animale et celles provenant de l'environnement des ateliers de transformation et

des abattoirs (iii) « Ecosystème naturel » (E), qui regroupe les souches issues du milieu naturel de l'environnement. La surveillance de la résistance aux antibiotiques est effectuée depuis plus de 20 ans sur un échantillon représentatif des souches collectées.

MÉTHODES

Le CNR-Salm a reçu 6 607 souches humaines en 2002 dont 2 511 (32 %) provenaient de laboratoires de centres hospitaliers (n = 332) et 4 096 (68 %) de laboratoires d'analyse de biologie médicale (n = 1 080). Pour chacun des 15 sérotypes de *Salmonella* étudiés (Enteritidis, Typhimurium, Hadar, Infantis, Virchow, Derby, Typhi, Brandenburg, Heidelberg, Newport, Dublin, Paratyphi B, Bovismorbificans, Agona, Bredeney et Saintpaul), une base de sondage dédoublonnée a été constituée puis les souches à étudier (n = 1 140) ont été sélectionnées aléatoirement avec stratification selon le sérotype. Le centre de sérotypage de l'Afssa a reçu 6 744 souches non-humaines en 2002 à partir desquelles 4 773 ont été sélectionnées après élimination des doublons. Parmi ces 6 744 isolats, 46 % avaient été isolés en SA, 50 % en HA et 4 % en E.

La sensibilité aux antibiotiques (tableau 1) des isolats sélectionnés a été étudiée selon la technique de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (*Enterobacteriaceae*) avec 16 à 32 disques d'antibiotiques suivant les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM, communiqué 2002). Les résultats sont exprimés en proportion (%) de souches résistantes.

Pour les isolats humains des sérotypes Typhimurium et Enteritidis, la détermination du lysotype (Système Colindale), des gènes de résistance aux β -lactamines : *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{PSE-1}, *bla*_{SHV}, et la présence d'intégrons de classe I, ont été effectuées sur toutes les souches.

RÉSULTATS

Les résultats présentés ici concernent les 10 sérotypes les plus fréquents (Typhi excepté) soit 874 (82,5 %) des 1 140 souches humaines et 1 595 (33 %) des 4 773 souches non-humaines sélectionnées pour l'étude (tableau 1). L'intégralité de l'étude réalisée sur les isolats humains est disponible dans le rapport annuel 2003 du CNR des *Salmonella*.

Tableau 1

Comparaison de la résistance en pourcentage aux antibiotiques des *Salmonella* d'origine humaine et non-humaine isolées en 2002 en fonction du sérotype

Antibiotique	Pourcentage de souches résistantes (R)																			
	Enteritidis		Typhimurium		Hadar		Infantis		Virchow		Derby		Brandenburg		Heidelberg		Newport		Dublin	
	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH
n	99	246	320	538	79	105	51	152	40	82	39	192	39	64	67	85	66	72	74	59
N	4 469	1 126	3 998	3 159	282	992	178	773	174	639	162	486	142	132	126	965	99	594	92	243
Amoxicilline/ampicilline	6,1	4,1	65,0	44,4	51,9	61,9	2,0	2,0	5,0	2,4	5,1	2,1	7,7	1,6	31,3	20,0	1,5	27,8	0	1,7
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,5	0	0	0
Streptomycine	0	2,8	64,5	58,9	92,4	90,5	5,9	9,9	5,0	2,4	51,3	60,4	7,7	14,1	40,3	32,9	4,5	22,2	40,5	33,9
Gentamicine	0	0,4	0,3	0,9	0	1,0	0	0	0	0	2,6	0	2,6	0	0	1,2	0	0	1,3	0
Acide nalidixique	11,1	11,8	4,0	14,7	79,7	61,0	2,0	3,95	45,0	48,8	2,6	0,5	2,6	0	13,4	3,5	4,5	34,7	1,3	3,4
Ciprofloxacine	0	-	0,3	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Enrofloxacin	-	0	-	0,4	-	1,9	-	0,7	-	0	-	0	-	0	-	1,2	-	0	-	0
Sulfamides	0	2,8	68,0	49,4	1,3	1,0	3,9	3,3	10,0	2,4	51,3	52,6	15,4	6,2	26,9	16,5	4,5	20,8	1,3	1,7
Triméthoprime	0	-	5,3	-	6,3	-	0	-	5,0	-	7,7	-	15,4	-	28,3	-	3,0	-	0	-
Sulfaméthoxazole-triméthoprime	-	1,2	-	7,1	1,3	0	-	0,7	-	2,4	-	7,8	-	6,2	-	14,1	-	20,8	-	0
Chloramphénicol	0	0,8	57,0	36,2	0	0	2,0	4,6	2,5	1,2	0	0,5	2,6	10,9	0	7,1	1,5	16,7	0	1,7
Tétracycline	3,0	8,1	71,0	55,0	91,1	89,5	3,9	13,8	5,0	9,8	61,5	74,5	74,3	71,9	26,9	29,4	3,0	27,8	1,3	1,7

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype recensées (souches adressées et déclarations) au CNR-Salm (souches humaines) ou à l'Afssa Maisons-Alfort (souches non-humaines)

- : non testé

H : souches humaines

NH : souches non-humaines

En 2002, parmi ces 10 sérotypes isolés chez l'homme, le profil de résistance le plus fréquent pour les sérotypes Typhimurium, Hadar, Heidelberg et Virchow chez l'homme était : AmSSpSulCTe chez 48,8 % (Intervalle de confiance 95 % : 43,3-54,3) des souches de Typhimurium, AmSTeNal chez 43 % (IC 95 % : 32,1-53,9) des souches d'Hadar, AmSSpSulTmpTe chez 19,4 % (IC 95 % : 9,9-28,9) des souches d'Heidelberg et Nal chez 42,5 % (IC 95 % : 27,2-57,8) des souches de Virchow. Les souches d'origine non-humaines présentaient au sein de chaque sérotype le même profil majoritaire de résistance que les souches humaines. En effet, 31,6 % (IC 95 % : 27,7-35,5) des souches Typhimurium présentaient le profil AmSSulCTe, 46,7 % (IC 95 % : 37,2-56,2) des souches Hadar le profil AmSTeNal, 9,4 % (IC 95 % : 3,2-15,6) des souches Heidelberg le profil AmSSulTmpTe et 43,9 % (IC 95 % : 33,2-54,6) des souches Virchow étaient résistantes à l'acide nalidixique.

L'étude par lysotypie des 320 souches d'origine humaine du sérotype Typhimurium a mis en évidence le lysotype DT104 chez 182 souches (56,9 %) et les lysotypes apparentés U302 et DT120 chez 18 (5,6 %) et 10 (3,1 %) souches, respectivement. Les profils de résistance les plus fréquemment associés à ces lysotypes étaient AmSSpSulCTe (143 souches), AmSSpSulCTeNal (10 souches), AmSSpSulCTeTmp (10 souches), SSpSul (7 souches) et AmSul (5 souches). La recherche des gènes de résistance aux β-lactamines chez les isolats humains du sérotype Typhimurium produisant une pénicillinase a mis en évidence *bla_{PSE-1}* chez 174 souches (54,4 %), *bla_{TEM}* chez 20 souches (6,3 %), *bla_{OXA-1}* chez 9 souches (2,8 %), et *bla_{OXA-30}* chez 4 souches (1,3 %). Une seule souche humaine produisant une β-lactamase à spectre élargi (BLSE) a été mise en évidence lors de notre étude. Cette BLSE détectée dans un isolat de sérotype Typhimurium était de type TEM-52 [2]. De plus, une seule souche humaine a présenté une résistance de haut niveau à la ciprofloxacine (CMI de 32 mg/L). Cette souche de Typhimurium appartenait à un lysotype 12 variant et possédait le profil AmSSpSulCTe (présence du gène *bla_{OXA-1}*). Les isolats non-humains de ce sérotype étaient moins résistants aux aminopénicillines (44,4 % versus 65 %), au chloramphénicol (36,2 % vs 57 %), aux sulfamides (49,4 % vs 68 %) et à la tétracycline (55 % vs 71 %) mais plus résistants à l'acide nalidixique (14,7 % vs 4 %) que les isolats humains.

Une souche humaine de profil AmCroCazSCTeSul du sérotype Newport produisait la céphalosporinase plasmidique CMY-2. Les autres souches humaines de ce sérotype demeuraient très sensibles (< 5 %) à tous les antibiotiques alors que les souches non-humaines présentaient des fréquences de résistance plus élevées, correspondant à plusieurs phénotypes dont les principaux étaient Nal (22,2 %), AmSSulTmpTe (8,3 %) et AmSKSulTmpTeC (7 %). Les sérotypes Enteritidis et Dublin

restaient quant à eux très sensibles aux antibiotiques utilisés en médecine humaine.

Entre 2000 et 2002, le nombre d'isolements des trois principaux sérotypes de *Salmonella* responsables de pathologie humaine (Enteritidis, Typhimurium et Hadar) a évolué de manière parallèle au sein du réseau du CNR-Salm et de celui de l'Afssa (tableau 2). Le nombre de souches du sérotype Enteritidis a diminué de 4 % (CNR-Salm) et de 7 % (Afssa). Celui du sérotype Typhimurium a progressé de 5 % (CNR-Salm) et de 16 % (Afssa). Enfin la fréquence d'isolement du sérotype Hadar a fortement baissé de 64 % (CNR-Salm) et de 30 % (Afssa). La résistance des isolats humains de *Salmonella* appartenant aux sérotypes étudiés est globalement similaire aux résultats de 2000 alors que les souches non-humaines du sérotype Typhimurium présentent une diminution des fréquences de résistance, entre 2000 et 2002, à l'ampicilline, à la streptomycine, au chloramphénicol, aux sulfamides et à la tétracycline. Les souches non-humaines présentant les phénotypes de résistance habituellement associés au lysotype DT104, sont également en légère diminution entre 2000 et 2002 (44,5 % vs 36,35 %) alors que ces valeurs ne semblent pas évoluer pour les souches humaines (tableau 3). Les résultats indiqués dans le tableau 3 associés à ceux de la lysotypie des souches humaines indiquent que le lysotype DT 104 restait fortement implanté dans notre pays au sein des isolats humains et non-humains, représentant respectivement environ 60 % et 36 % des souches du sérotype Typhimurium. Parmi les souches de sérotype Hadar, peu de variations sont observées entre ces deux années, mais les niveaux de fréquence de résistance restent très élevés pour les aminopénicillines, la streptomycine, la tétracycline et l'acide nalidixique.

Tableau 3

Évolution des profils de résistance principaux habituellement associés au lysotype DT104 parmi les souches de *S. enterica* sérotype Typhimurium entre 2000 et 2002 : comparaison entre les souches d'origine humaine et animale

Profils de résistance	Pourcentage des souches testées (IC 95%)			
	2000		2002	
	H	NH	H	NH
Am S Sul C Te	51 (45,5-56,5)	37,9 (33,3-42,5)	48,8 (48,3-54,2)	31,6 (27,7-35,5)
Am S Sul C Te Nal	3,8 (1,7-5,8)	5,3 (3,2-7,4)	3,8 (1,7-5,8)	1,85 (0,7-3,0)
Am S Sul C Te Tmp	2,5 (1,0-4,5)	0,9 (0-1,8)	3 (1,1-4,9)	0,7 (0-1,4)
S Sul	1 (0,2-2,1)	0,2 (0-0,6)	2,8 (1,0-4,5)	0,9 (0,1-1,7)
Am Sul	0,3 (0-0,9)	0,2 (0-0,6)	1,5 (0,2-2,8)	1,3 (0,3-2,3)
Total	58,6 (53,2-64,0)	44,5 (39,8-49,2)	59,75 (54,4-65,1)	36,35 (32,3-40,4)

H : souches humaines
NH : souches non-humaines

Tableau 2

Évolution de la résistance entre 2000 et 2002 chez les 3 principaux sérotypes de *Salmonella*

Antibiotique	Pourcentage de souches résistantes (R)											
	Enteritidis				Typhimurium				Hadar			
	2000		2002		2000		2002		2000		2002	
	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH	H	NH
n	82	257	99	246	320	430	320	538	80	324	79	105
N	4656	1206	4469	1126	3800	2643	3998	3159	787	1408	282	992
Amoxicilline/ampicilline	7,3	6,6	6,1	4,1	64,3	56,7	65,0	44,4	57,5	59,8	51,9	61,9
Ceftriaxone/ceftazidime	0	0	0	0	0	0	0,3	0	0	0	0	0
Streptomycine	1,2	3,5	0	2,8	72,0	64,7	64,5	58,9	100,0	91,0	92,4	90,5
Gentamicine	1,2	0,4	0	0,4	1,0	0,7	0,3	0,9	1,2	0	0	1,0
Acide nalidixique	9,7	11,7	11,1	11,8	10,3	12,8	4,0	14,7	77,5	60,7	79,7	61,0
Ciprofloxacine/enrofloxacin	0	0	0	0	0	0,9	0,3	0,4	0	NT	0	1,9
Sulfamides	1,2	4,7	0	2,8	69,6	63,0	68,0	49,4	1,2	11,2	1,3	1,0
Triméthoprime	2,4	-	0	-	8,7	-	5,3	-	2,4	-	6,3	-
Sulfaméthoxazole-triméthoprime	-	2,3	-	1,2	-	7,9	-	7,1	-	2,8	-	0
Chloramphénicol	0	0,8	0	0,8	59,0	50,2	57,0	36,2	0	0,9	0	0
Tétracycline	12,1	14,0	3,0	8,1	81,2	77,7	71,0	55,0	98,7	93,2	91,1	89,5

n : nombre de souches étudiées

N : nombre de souches du sérotype recensées au CNR-Salm (H) ou à l'Afssa Maisons-Alfort (NH)

- : non testé

H : souches humaines

NH : souches non-humaines

DISCUSSION

Cette étude comparative des fréquences de résistance pour l'année 2002 révèle que la résistance aux antibiotiques reste globalement stable et comparable entre les isolats humains et non-humains appartenant aux dix sérotypes étudiés. Le sérotype majoritairement isolé chez l'homme, Enteritidis reste encore très sensible aux antibiotiques avec une résistance aux aminopénicillines de l'ordre de 6 % à 7 % au cours de notre étude. Ce taux de résistance est comparable à celui obtenu lors d'études effectuées par le collège de bactériologie et virologie des hôpitaux (ColBVH) en 1994, 1997 et 2000 sur des souches isolées en milieu hospitalier [3, 6]. Bien que modéré, le taux de résistance à l'acide nalidixique (11 %) est en progression depuis 1994 (2 %). *S. enterica* sérotype Typhimurium présente un taux de multirésistance stable parmi les isolats humains depuis 1994 du fait de l'implantation du clone DT104 ayant intégré dans son chromosome les gènes conférant la pentarésistance de type AmS(Sp)CTeSul. La fréquence de ces souches penta-résistantes semble diminuer depuis 2000 dans les isolats non-humains mais cette tendance nécessite d'être confirmée. L'hypothèse d'une apparition massive de souches possédant en plus une résistance aux quinolones ne semble toujours pas se vérifier, mais la détection sporadique de souches clonales résistantes à haut niveau à la ciprofloxacine est un phénomène inquiétant [4]. De même, l'identification d'une souche productrice de BLSE lors de cette étude et d'autres depuis (TEM-52, CTX-M-2 et CTX-M-9) parallèlement chez l'homme et dans la filière volaille (2 et travaux non publiés) doit faire l'objet d'une surveillance étroite. Enfin, la détection d'une souche du sérotype Newport et deux souches du sérotype Agona (rapport annuel du CNR-Salm 2003) produisant la céphalosporinase plasmidique CMY-2 appelle également à la vigilance. La dissémination de ces souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération et à la ciprofloxacine limiterait très sérieusement les choix thérapeutiques pour les salmonelloses humaines. Un élément plus optimiste concerne le sérotype Hadar, troisième sérotype le plus fréquemment isolé chez l'homme et qui bien que multi-résistant, voit sa fréquence d'isolement diminuer de façon notable chez l'homme et l'animal.

En conclusion, la détection précoce de l'apparition des résistances et de leurs tendances évolutives chez *Salmonella* est permise par la réalisation régulière d'enquêtes nationales à travers des réseaux complémentaires (CNR-Salm, ColBVH et réseau *Salmonella*-Afssa) ainsi que par une collaboration transversale active. Ces résultats doivent être confrontés aux données d'utilisation des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire de façon à identifier les comportements pouvant être à l'origine de l'apparition de ces résistances pour les prévenir et en limiter la dissémination.

Abréviations utilisées pour les profils de résistance :

Am, amoxicilline/ampicilline ; Cro, ceftriaxone ; Caz, ceftazidime ; S, streptomycine ; Sp, spectinomycine ; K, kanamycine ; Sul, sulfamides ; Tmp, triméthoprim ; C, chloramphénicol ; Te, tétracycline ; Nal, acide nalidixique.

RÉFÉRENCES

- [1] Haeghebaert S, Le Querrec F, Bouvet P, Gallay A, Espié E, Vaillant V. Les Toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. Bull Epidemiol Hebd 2002; 50:249-53
- [2] Weill FX, Demartin M, Fabre L, Grimont P.A.D. Extended-spectrum- β -lactamase (TEM-52)-producing strains of *Salmonella enterica* of various serotypes isolated in France. Journal of Clinical Microbiology, 2004, sous presse.
- [3] Breuil J, Casin I, Armand-Lefèvre L, Frémy S, Collatz E. Antibiotic resistance in salmonellae isolated from humans and animals in France : comparative data from 1994 and 1997. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2000. 46:965-71.
- [4] Casin I, Breuil J, Darchis JP, Guelpa C, E. Collatz. Fluoroquinolone resistance linked to *gyrA*, *gyrB*, and *parC* mutations in *Salmonella enterica* Typhimurium in Humans. Emerging Infectious Diseases 2003. 9:1945-7.
- [5] Casin I, Breuil J, Brisabois, Moury F, Grimont F, E. Collatz. Multidrug-resistant human and animal *Salmonella* typhimurium belong predominantly to a DT104 clone with the chromosome-and Integron-encoded β -lactamase PSE-1. Journal of Infectious Diseases 1999. 179:1173-82.
- [6] Breuil J, Casin I, Hanau-Bercot B, Dublanche A, E. Collatz. Troisième enquête nationale sur la sensibilité aux antibiotiques des salmonelles et shigelles : résultats de l'étude 2000 du Collège de Bactériologie, Virologie et Hygiène des Hôpitaux. Bulletin Epidemiol Hebd 2001; 43.

Prévalence des traitements antibiotiques à l'hôpital. Résultats de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales 2001

Hélène Aubry-Damon, Véronique Lemanissier, Agnès Lepoutre, Bruno Coignard

Département des maladies infectieuses, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice
et le groupe de pilotage de l'enquête de prévalence nationale 2001
du Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin)*

INTRODUCTION

D'après les données sur les ventes d'antibiotiques, la France est le premier consommateur d'antibiotiques en Europe avec 3 Doses Définies Journalières /1 000 habitant-jours à l'hôpital [1]. Des données individuelles ont pu être recueillies lors d'enquêtes hospitalières ; elles ne sont toutefois pas extrapolables à l'ensemble des établissements de santé. Un des objectifs de l'Enquête nationale de prévalence (ENP) en 2001 était de décrire un jour donné l'usage des antibiotiques à l'hôpital [2].

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'enquête a été proposée « un jour donné » à tous les établissements publics et privés entre le 21 mai et le 23 juin 2001. Elle était coordonnée au niveau national par un comité de pilotage au sein du Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin) et mise en œuvre au niveau interrégional par les CClin. Elle concernait tous les patients présents dans l'hôpital, excepté les hospitalisations de jour et de nuit. Dans chaque établissement participant, les données étaient recueillies par des médecins et infirmiers à partir des dossiers cliniques et des résultats d'analyses microbiologiques, selon les méthodes définies par le Raisin. Les traitements comprenant au moins un antibiotique administré par voie générale, étaient recueillis en fonction de l'indication :

en curatif pour traiter une infection nosocomiale* (IN) ou communautaire (IC) ou en prophylaxie. Un traitement antibiotique était défini par un patient traité par un ou plusieurs antibiotiques pour une indication donnée. La prévalence des traitements antibiotiques était la proportion de patients recevant un traitement rapportée au nombre de patients hospitalisés le jour de l'enquête. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel SAS version 8.

RÉSULTATS

Population incluse

Les établissements (n = 1 533) participant à l'ENP 2001 représentaient en nombre de lits 90 % des établissements publics et 54 % des établissements privés. Le jour de l'enquête, 305 656 patients étaient présents, 45 % dans les centres hospitaliers généraux, 20 % dans les centres hospitaliers universitaires et 13 % dans les établissements médico-chirurgicaux et obstétricaux (MCO), 9 % dans ceux de moyen ou long séjour et 13 % dans les autres catégories d'établissements. Plus de la moitié des patients étaient hospitalisés dans des services de court séjour, 20 % en long séjour, 15 % en soins de suite et de rééducation et 12 % en psychiatrie [2].

* Définitions adaptées de celles du Centers for Disease Control and Prevention (CDC).