



Antibiorésistance des *Escherichia coli* pathogènes pour la volaille

Résultats du RESAPATH pour l'année 2002

Eric JOUY¹, Isabelle KEMPF¹, Danièle MEUNIER², Jean-Pierre ORAND³, Pascal SANDERS⁴ et Marylène KOBISCH¹

AFSSA¹ – Site de Ploufragan, Unité Mycoplasmatologie-Bactériologie, BP 53, 22440 PLOUFRAGAN

AFSSA² – Site de Lyon, Unité Bactériologie Bovine et Sécurité de Viandes, BP 7033, 69342 LYON

Direction Générale de l'Alimentation³, 251, rue de Vaugirard, 75732 PARIS

AFSSA⁴ – Site de Fougères, La Haute Marche, 35133 JAVÈNE

RÉSUMÉ

Depuis 2001, les laboratoires de l'AFSSA situés à Lyon et à Ploufragan pilotent conjointement le réseau d'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les principales bactéries pathogènes des bovins, des porcs et des volailles : le RESAPATH. Cette surveillance est basée sur le recueil et le traitement des résultats d'antibiogrammes réalisés en routine par les laboratoires d'analyses vétérinaires adhérant au réseau. En ce qui concerne la filière avicole, 2615 résultats d'antibiogrammes ont été enregistrés en 2002 dont près de 80 % ont été réalisés pour des souches d'*Escherichia coli*. Les pourcentages de souches sensibles à la tétracycline, à l'amoxicilline et à l'association sulfamides/triméthoprim sont respectivement de 16,1 %, 45,6 % et 55,9 %. Les pourcentages de souches sensibles pour les 13 autres molécules étudiées varient entre 71,3 % et 99,7 %.

Le sérovar 078 K80 représente au moins 18,7 % des *E. coli* qui ont fait l'objet d'un antibiogramme. Les pourcentages de souches sensibles appartenant à ce sérovar sont statistiquement plus faibles que ceux des sérovats 02 K1 et 01 K1 pour 9 antibiotiques parmi les 16 étudiés.

Le RESAPATH permet de suivre l'évolution de la proportion des bactéries qui ont acquis un ou plusieurs mécanismes de résistance aux différents anti-infectieux utilisés en élevage et de détecter l'éventuelle émergence de nouveaux phénotypes de résistance.

SUMMARY

In France, the antimicrobial resistance in pathogenic bacteria from cattle, swine and poultry is studied by RESAPATH network since 2001. Antimicrobial susceptibility data are collected in public and private veterinary diagnostic laboratories by the French Agency for Food Safety (AFSSA) in Lyon and Ploufragan. For poultry, 2615 antimicrobial susceptibility tests results were recorded in 2002. Eighty per cent of them were performed for *Escherichia coli*. The percentages of strains susceptible to tetracycline, amoxicillin and sulfonamide/trimethoprim association were respectively 16,1 %, 45,6 % and 55,9 %. The percentages of susceptible strains to the 13 other studied antibiotics were between 71,3 % and 99,7 %. The serovar 078K80 represented 18,7 % of all *E. coli* recorded by the network. The percentages of susceptible strains belonging to this serovar were statistically lower than for 02 K1 and 01 K1 serovars, for 9 antibiotics among the 16 studied.

RESAPATH allows the monitoring of resistance to antibiotics used in veterinary medicine and the detection of potential emergence of new resistance phenotypes.

1. INTRODUCTION

En France, comme dans de nombreux pays, l'évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques est suivie depuis de nombreuses années, aussi bien en médecine humaine que vétérinaire (Stelling et O'Brien, 1997, Wray et Gnanou, 2000, Sanders, 2001). En 1982, l'AFSSA – Site de Lyon a mis en place un réseau de surveillance de l'antibiorésistance des principales bactéries pathogènes isolées chez les bovins (RESABO) qui a été étendu aux filières avicole et porcine à partir de 2001 grâce à un financement de la Direction Générale de l'Alimentation. Ce nouveau réseau (RESAPATH) est piloté à la fois par l'AFSSA – Sites de Lyon et de Ploufragan (Martel et al., 2000, Jouy et al., 2002).

Les données enregistrées par le RESAPATH proviennent des laboratoires d'analyses vétérinaires publics et privés adhérents. Les modalités de la collaboration entre ces laboratoires et le réseau sont décrites dans une charte. Le fonctionnement et les résultats du RESAPATH sont analysés annuellement par un comité de pilotage (Jouy et al., 2002).

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les bactéries surveillées dans le cadre de RESAPATH sont isolées d'animaux malades par les laboratoires d'analyses vétérinaires. Il s'agit essentiellement d'*Escherichia coli*, de *Salmonella*, de *Staphylococcus*, de *Streptococcus* et de *Pasteurellaceae*.

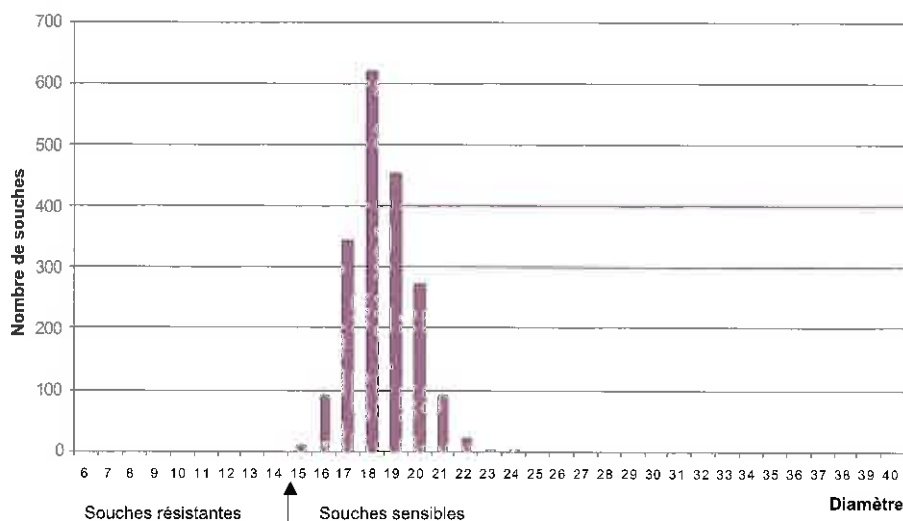
Lorsque des antibiogrammes sont réalisés, les laboratoires adhérents adressent les résultats aux coordinateurs du réseau. Les données associées aux bactéries et aux antibiogrammes (espèce animale, date et nature du prélèvement, pathologie observée) sont également enregistrées par le RESAPATH.

La technique d'antibiogramme utilisée par tous les laboratoires adhérents consiste en un développement d'un tapis bactérien (souche pure) sur un milieu gélosé en présence de disques imprégnés d'antibiotiques (Feillou et Martel, 1996, Soussy et al., 2004). Les résultats d'antibiogrammes sont des diamètres de

■ Figure 1 : Résultats de l'antibiogramme de la souche d'*E. coli* de Référence (CIP 7624) vis-à-vis de 16 antibiotiques [Technique de diffusion en milieu gélosé].



■ Figure 2 : Exemple de distribution : *E. coli* vis-à-vis de la colistine (1934 souches)



zones d'inhibition dont la taille est inversement proportionnelle à la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'antibiotique vis-à-vis de la bactérie (figure 1).

La technique d'antibiogramme est soumise à des contrôles qualité internes (réalisés par le laboratoire d'analyses) et externes (essais inter-laboratoires organisés par l'AFSSA).

Les antibiotiques utilisés dans les antibiogrammes correspondent aux familles d'anti-infectieux prescrits en médecine vétérinaire.

La sensibilité d'une population bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique est donc

caractérisée par la fréquence des différents diamètres d'inhibition dont la distribution (figure 2) permet de mettre en évidence l'existence éventuelle d'une (de) sous-population(s) résistante(s). Les diamètres critiques thérapeutiques, déterminés en médecine humaine pour chaque antibiotique (Soussy et al., 2004), peuvent être utilisés de façon épidémiologique en médecine vétérinaire s'ils séparent également les sous-populations bactériennes d'origine animale. Pour les molécules à usage spécifiquement vétérinaire, les diamètres critiques sont indiqués par les laboratoires fabricants.

3. RÉSULTATS

En ce qui concerne la filière avicole, 15 laboratoires ont transmis 2615 résultats d'antibiogrammes à l'AFSSA – Site de Ploufragan au cours de l'année 2002. La majorité de ces antibiogrammes (67 %) a été réalisée pour des bactéries isolées d'organes profonds (septicémie). La figure 3 présente les différentes bactéries isolées chez la volaille qui ont fait l'objet d'un antibiogramme en 2002.

Les prélèvements proviennent majoritairement de la dinde (39,5 %) et du poulet (39,2 %). Près de 80 % des bactéries dont les résultats d'antibiogramme ont été adressés au RESAPATH sont des *E. coli*. Les sérovars recherchés dans la filière avicole sont O78K80, O2K1 et O1K1. Ils représentent respectivement au moins 18,7 %, 11,5 % et 1,5 % de l'ensemble des bactéries qui ont fait l'objet d'un antibiogramme.

Une autre espèce bactérienne est fréquemment rencontrée chez la dinde : *Ornithobacterium rhinotracheale*. Cette bactérie, isolée depuis le début des années 90, est incriminée dans des cas d'infections de l'appareil respiratoire et/ou des articulations. *Ornithobacterium rhinotracheale* ayant une croissance très lente (minimum 48 h sur gélose au sang) son isolement est assez difficile à réaliser. Face à ce problème méthodologique et à cette émergence assez récente, il paraît prématuré d'intégrer la surveillance de la résistance aux antibiotiques d'*Ornithobacterium rhinotracheale* dans le cadre du RESAPATH. Néanmoins, il est nécessaire de continuer à suivre sa prévalence et d'optimiser les techniques d'isolement, d'identification et d'antibiogramme. En 2002, 193 résultats d'antibiogrammes concernant cette bactérie ont été adressés à l'AFSSA – Site de Ploufragan.

Le tableau 1 montre les résultats de la sensibilité aux antibiotiques des *E. coli* isolés chez la volaille en 2002 (tous prélèvements confondus) vis-à-vis de 16 molécules couramment utilisés dans les antibiogrammes. Les pourcentages des souches qui n'ont acquis aucun mécanisme de résistance vis-à-vis de la tétracycline, de l'amoxicilline et de l'association sulfamides/triméthoprime sont

■ Figure 3 : Origine et identification des bactéries dont les antibiogrammes ont été adressés au RESAPATH pour la filière avicole en 2002. *E. coli* NT correspond aux *E. coli* non typés ou non typables avec les réactifs pour la recherche des sérovars O78 K80, O2 K1 et O1 K1.

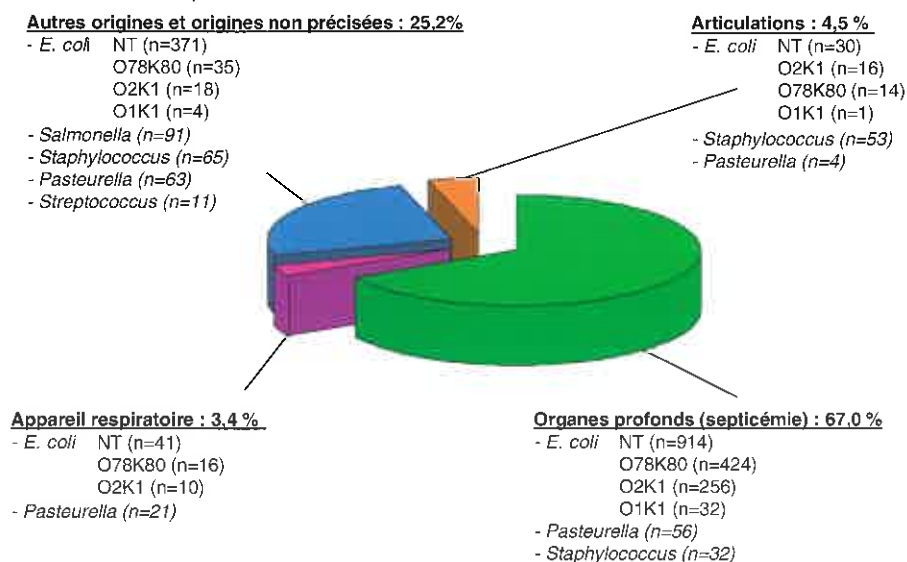


Tableau 1 - Pourcentages de souches sensibles d'*E. coli* isolées chez la volaille en 2002

Antibiotiques	<i>E. coli</i> Total		<i>E. coli</i> O78 K80		<i>E. coli</i> O2 K1 et O1 K1		Test Chi-2 Différence significative (5 %) *
	n	% S	n	% S	n	% S	
Amoxicilline	2212	45,6	501	36,5	348	60,6	oui
Amox. + clav. **	307	71,3	76	55,5	65	70,8	non
Céfaloxine	180	97,2	30	100,0	35	97,1	non
Cefotiofur	1923	99,4	434	100,0	330	99,4	non
Néomycine	1594	89,7	425	78,8	325	98,2	oui
Gentamicine	1926	93,5	434	94,5	329	97,0	non
Spectinomycine	1524	87,1	411	86,9	308	90,3	non
Florfenicol	574	99,7	66	100,0	65	100,0	non
Tétracycline	2149	16,1	469	6,6	354	28,8	oui
Doxycycline	1445	14,3	304	5,9	230	25,2	oui
Colistine	1934	99,5	438	99,8	332	99,7	non
Sulfa. + trim. ***	2225	55,9	498	53,8	354	67,2	oui
Fluméquine	2216	70,9	500	58,8	349	80,2	oui
Acide oxolinique	1927	76,0	438	67,8	325	81,8	oui
Enrofloxacin	1273	87,1	301	85,4	210	92,3	oui
Difloxacin	1273	88,0	301	85,0	210	92,3	oui

n = nombre de souches testées % S = pourcentage de souches sensibles

* Test du Chi-2 réalisé entre le sérovar O78 K80 et les sérovars O2 K1 et O1 K1

** Amoxicilline + acide clavulanique

*** Sulfamides + triméthoprime

respectivement de 16,1 %, 45,6 % et 55,9 %. Les pourcentages de sensibilité les plus élevés (> 85 %) sont obtenus avec les fluoroquinolones (enrofloxacin et difloxacin), les aminosides, les céphalosporines, le florfenicol et la colistine. Les pourcentages de souches sensibles appartenant au sérovar O78 K80 sont statistiquement plus faibles que ceux des sérovars O2 K1 et O1 K1 pour 9 molécules parmi les 16 étudiées.

4. DISCUSSION

A l'exception de quatre molécules (cefotiofur, florfenicol, enrofloxacin et difloxacin), le nombre de souches sensibles est déterminé avec des diamètres critiques établis pour la médecine humaine. L'intérêt thérapeutique de ces pourcentages en médecine vétérinaire dépend des paramètres pharmacologiques de l'antibiotique chez l'animal. Néanmoins,

ces chiffres permettent de mettre en évidence la proportion des bactéries qui ont acquis un ou plusieurs mécanismes de résistance. Le RESAPATH permet de suivre l'évolution de ces pourcentages au cours du temps ainsi que leur variation pour différentes bactéries ou différents sérovars d'une même bactérie.

Les nouveaux phénotypes de résistance doivent être détectés le plus rapidement possible afin de pouvoir limiter efficacement leur diffusion (chaîne alimentaire, environnement) et de préserver l'action thérapeutique des antibiotiques utilisés en élevage. Concernant les *E. coli*, l'existence de rares souches d'origine animale résistantes à la colistine ou au ceftiofur a pu être confirmée par l'AFSSA grâce à la réactivité des laboratoires adhérant au RESAPATH. Il s'agit maintenant d'étudier

plus particulièrement les mécanismes de résistance de ces souches et de suivre étroitement l'évolution de leur nombre au sein de l'ensemble des *E. coli*.

La fiabilité de la surveillance de l'antibiorésistance ainsi que le succès thérapeutique en élevage dépendent de la qualité des résultats d'antibiogrammes et de leur interprétation.

Les coordinateurs du RESAPATH travaillent donc à l'amélioration de la standardisation des techniques d'antibiogrammes en collaboration avec des responsables de laboratoires d'analyses vétérinaires. Par ailleurs, un groupe de travail associé au CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) se met en place. Son rôle sera, dans un premier temps de vérifier la pertinence des

valeurs critiques (diamètres de zones d'inhibition et concentration minimales inhibitrices) définies pour la médecine humaine et utilisées en médecine vétérinaire pour les molécules autorisées chez l'Homme et l'animal. Ce groupe aura également la charge de définir les valeurs critiques pour les molécules utilisées spécifiquement en médecine vétérinaire.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les laboratoires d'analyses vétérinaires publics et privés pour leur participation active, basée sur le volontariat.

Les auteurs remercient également la Direction Générale de l'Alimentation pour le soutien financier apporté au fonctionnement du RESAPATH.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Feillou C. et Martel J.L.**, 1996. Programme d'accréditation n°116 du COFRAC, textes français de référence sur les techniques d'antibiogrammes BA 10 et BA 20.
- Jouy E., Meunier D., Martel J.-L., Kobisch M., Coudert M. et Sanders P.**, 2002. Méthodologie du réseau national de surveillance de la résistance aux antibiotiques chez les principales bactéries pathogènes des animaux de rente [RESAPATH]. Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 155, 259-266.
- Martel J.L., Tardy F., Brisabois A., Lailler R., Coudert M., Chaslus-Dancla E.**, 2000. The French antibiotic resistance monitoring programs. Int. J. Antimicrob. Agents, 14, 275-283.
- Sanders P.**, 2001. Résistance aux antibiotiques en pratique vétérinaire. Etat des lieux et mesures de prévention. Antibiotiques, 3, 225-232.
- Soussy C.J. et al.**, 2004. Communiqué du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. www.sfm.asso.fr
- Stelling J.M., O'Brien T.F.**, 1997. Surveillance of antimicrobial resistance: the WHONET program. Clin. Infect. Dis., 24 suppl. 1, 157-168.
- Wray C, Gnanou J.C.**, 2000. Antibiotic resistance monitoring in bacteria of animal origin: analysis of national monitoring programmes. Int. J. Antimicrob. Agents, 14, 291-294.