

DIMINUTION SIGNIFICATIVE DE LA RESISTANCE AUX CEPHALOSPORINES CHEZ LES *E. COLI* DE POULET ET VIANDE DE POULET EN FRANCE

**Perrin-Guyomard Agnès¹, Kempf Isabelle², Bruneau Mireille¹, Anger Béatrice¹, Houée
Paméla¹, Legrandois Patricia¹, Valentin Charlotte¹, Chauvin Claire², Gaugain Murielle¹,
Adam Cécile³, Le Fouillé Sandra³, Granier Sophie¹**

¹ANSES - LABORATOIRE DE FOUGERES - 10B rue Claude Bourgelat, CS 40608 - 35306
FOUGERES

²ANSES – LABORATOIRE DE PLOUFRAGAN-PLOUZANE-NIORT - BP53 - 22440
PLOUFRAGAN

³DGAL – 251 rue de Vaugirard – 75732 PARIS
agnes.perrin-guyomard@anses.fr

RÉSUMÉ

La surveillance spécifique de la résistance des *Escherichia coli* (*E. coli*) aux céphalosporines de troisième génération (C3G) ou aux carbapénèmes, isolés de poulets de chair et de leur viande en France, montre qu'entre 2014 et 2020, aucune souche de *E. coli* résistante aux carbapénèmes n'a été isolée des prélèvements effectués en abattoir ou à la distribution. La proportion de *E. coli* résistants aux C3G dans les caeca de poulet a diminué significativement de 4,4 % à 0,5 % entre 2014 et 2020. Dans le même temps, la prévalence des *E. coli* résistants aux C3G isolés de manière sélective a chuté de 44,0 % à 9,6 % dans les caeca de poulet ($p < 0,01$) et de 62,9 % à 11,1 % dans la viande de poulet ($p < 0,01$). La diminution de l'occurrence et de la prévalence des *E. coli* résistants aux C3G chez le poulet sur la période 2014-2020 montre que les mesures législatives ou réglementaires et l'engagement des professionnels de la filière ont eu un impact bénéfique sur la résistance aux céphalosporines en filière volaille en France.

ABSTRACT

Significant decrease of *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins in broilers and derived meat in France.

In the framework of extended-spectrum cephalosporin- or carbapenem-resistant *Escherichia coli* (*E. coli*) surveillance in broilers and derived meat in France, no carbapenem-resistant isolate was detected between 2014 and 2020 at slaughterhouses and at retail. The proportion of *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins in cecal samples from broilers decreased significantly from 4.4% to 0.5% between 2014 and 2020. In the same time, the prevalence of samples containing *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins detected on selective media dropped from 44.0% to 9.6% in cecal samples of broilers ($p < 0.01$) and from 62.9% to 11.1% in derived meat ($p < 0.01$). The decrease of occurrence and prevalence of *E. coli* resistant to 3rd-generation cephalosporins in broilers between 2014 and 2020 indicates that legislative or regulatory measures and the commitment of professionals have had a beneficial impact on resistance to cephalosporins in the poultry industry in France.

INTRODUCTION

Les céphalosporines de troisième génération (C3G) et les carbapénèmes sont des antibiotiques d'importance critique pour la santé humaine. La proportion d'*Escherichia coli* au sein des Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées d'infections en milieu hospitalier a augmenté de 19 à 54 % entre 2002 et 2017 en France (Santé Publique France, 2019)¹. La présence de *E. coli* résistants aux C3G en élevage suggère que les animaux et les denrées d'origine animale pourraient être un réservoir de *E. coli* résistants aux C3G pour l'homme. C'est pourquoi une surveillance renforcée de ces bactéries dans les denrées et chez les animaux a été légiférée en Europe à partir de 2014 (décision 2013/652/UE)². Parallèlement en France, les plans EcoAntibio 1 et 2³ visaient entre autres à renforcer le suivi de l'antibiorésistance dans le domaine vétérinaire et à réduire de 50 %, en 5 ans (2017-2021), la prévalence des *E. coli* résistants aux C3G dans les prélèvements de poulets à la distribution. Cet article présente l'évolution des *E. coli* résistants aux C3G isolés de poulets de chair et de leur viande en France entre 2014 et 2020.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Plan d'échantillonnage

Tous les deux ans, la Direction Générale de l'Alimentation (DGAl) déploie un plan de surveillance de la résistance aux antibiotiques de certaines bactéries sentinelles et zoonotiques sur des prélèvements de caeca de poulets de chair en abattoir et sur des viandes fraîches de volailles au stade de la distribution. La stratégie d'échantillonnage de ce plan est élaborée en application de la décision 2013/652/UE². Les prélèvements de caeca de poulet de chair et de viandes fraîches de poulet ont été réalisés par les services vétérinaires les années paires, 1) à l'abattoir selon une clef de répartition proportionnelle au volume annuel abattu par abattoir, et 2) à la distribution dans les rayons libre-service réfrigérés des grandes et moyennes surfaces représentant 95 % des achats de viandes en France, à partir de 2016. Pour chaque lot d'abattoir sélectionné, les caeca d'un seul poulet pris au hasard étaient prélevés. Le plan d'échantillonnage a été dimensionné pour atteindre un minimum de 300 prélèvements d'échantillons caecaux pour chaque type de volaille et 300 prélèvements de viande de poulet, par année de surveillance.

1.2. Isolement des souches (Figure 1)

Sur environ 2/3 des prélèvements de caeca, les laboratoires agréés du réseau antibiorésistance ont effectué un isolement direct sur gélose MacConkey pour isoler des *E. coli*. Pour chaque lot prélevé, un seul isolat de *E. coli*, pris au hasard sur milieu sans antibiotique (population colibacillaire dominante), était conservé pour analyse. De plus, à partir de l'ensemble des prélèvements de caeca, une recherche de *E. coli* présumés résistants aux C3G par production de BLSE, AmpC ou carbapénémase a été effectuée selon le protocole Anses/LMV/15/03⁴. De même, à partir de l'ensemble des prélèvements de viande, une recherche de *E. coli* présumés résistants aux C3G par production de BLSE, AmpC ou carbapénémase a été effectuée selon le protocole Anses/LMV/18/01⁵.

Brièvement, pour la recherche de *E. coli* présumés résistants aux C3G les échantillons de caeca et de viande ont été enrichis de manière non sélective dans une eau peptonée tamponnée (EPT) pendant une nuit à 37°C. La culture pré-enrichie a ensuite été étalée et incubée sur un milieu gélosé permettant l'isolement sélectif des *E. coli* producteurs présumés de BLSE et/ou AmpC (gélose MacConkey supplémentée à 1mg/L en céfotaxime (C3G)) et sur deux milieux gélosés permettant l'isolement sélectif des *E. coli* producteurs d'une part d'oxacilline (ChromID OXA®, Biomérieux, France) et d'autre part de carbapénémase (ChromID CARBA®, Biomérieux, France).

L'identification des isolats a été effectuée par méthodes biochimiques et/ou spectrométrie de masse de type MALDI-TOF.

1.3. Sensibilité aux antibiotiques

Le Laboratoire National de Référence Résistance antimicrobienne a déterminé la sensibilité aux antibiotiques des isolats identifiés *E. coli*, par microdilution en milieu liquide (Sensititre®, ThermoScientific, France) vis-à-vis de quatorze antibiotiques issus de neuf familles différentes (microplaques EUVSEC), en application de la décision 2013/652/UE². De plus, les souches présentant des résistances aux céphalosporines et/ou aux carbapénèmes ont été testées sur un deuxième panel d'antibiotiques (microplaques EUVSEC2), afin de confirmer et d'orienter la détermination du mécanisme de résistance enzymatique aux céphalosporines ou aux carbapénèmes. Le classement des souches dans les catégories sauvages (souches sensibles) ou non-sauvages (souches résistantes) a été effectué par

1 <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques/documents/enquetes-etudes-surveillance-des-bacteries-multiresistantes-dans-les-etablissements-de-sante-reseau-bmr-raisin-france-resultats-2017>

2 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32013D0652>

3 <https://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-2012-2017-lutte-contre-lantibioresistance>; <https://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecoantibio-2-2017-2022>

4 https://www.anses.fr/ANSES_LMV_15_03

5 https://www.anses.fr/ANSES_LMV_18_01

comparaison des valeurs individuelles de concentration minimale inhibitrice (CMI) d'antibiotiques aux seuils épidémiologiques de l'EUCAST⁶. La proportion de souches résistantes par rapport au nombre total de souches testées a été calculée pour chacun des antibiotiques testés.

1.4. Analyses statistiques

L'évolution de la proportion de souches résistantes et l'évolution de la prévalence des *E. coli* BLSE/AmpC ont été évaluées par un test de Cochran-Armitage.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Entre 2014 et 2020, aucune des 858 souches de *E. coli* isolées par ensemencement direct sur milieu sans antibiotique, à partir des prélèvements de caeca de poulet à l'abattoir, n'était résistante aux carbapénèmes à l'issue des déterminations de CMI. Entre 2016 et 2020, aucun des 943 prélèvements de caeca effectués en abattoir et des 970 prélèvements de viandes effectués à la distribution ne contenait de *E. coli* producteur de carbapénémases à l'issue des isolements sur milieux sélectifs. De plus, le taux de *E. coli* isolés par ensemencement direct à partir des caeca de poulet et résistants aux C3G, a diminué significativement de 4,4 % en 2014 à 0,5 % en 2020 ($p < 0.01$) (Figure 2). Entre 2016 et 2020, la recherche sélective des *E. coli* BLSE/AmpC dans les caeca et dans les viandes de poulet montre que la prévalence de ces souches a chuté de 44,0 % à 9,6 % à l'abattoir ($p < 0,01$) et de 62,9 % à 11,1 % à la distribution ($p < 0,01$) (Figure 3). Sur la base des valeurs de CMI de céphalosporines (microplaque EUVSEC2) et de la synergie (phénotype BLSE) ou pas avec l'acide clavulanique (phénotype AmpC), les souches isolées de caeca [ou de viande] sont majoritairement présumées porteuses d'une résistance enzymatique de type BLSE. Pour un grand nombre de ces souches, la résistance aux β -lactamines est associée aux résistances à la tétracycline, au sulfaméthoxazole, au triméthoprim et aux quinolones (Tableau 1).

Bien que les céphalosporines ne soient pas autorisées en filière volaille, ces résultats montrent que des souches de *E. coli* résistantes aux C3G étaient présentes dans presque la moitié des prélèvements de caeca de poulet de chair en France en 2016. Toutefois, ces souches résistantes ne représentent qu'une faible sous-population de la population colibacillaire totale puisqu'elles ne sont que rarement détectées lors d'isolements sur milieux sans antibiotique. Dans certains pays comme la Suède ou le Danemark, comme le suggèrent Agersø *et al* et Nilsson *et al*, ces souches résistantes ou les plasmides issus de ces souches pourraient avoir été introduits du fait de l'importation de poulets reproducteurs et avoir été disséminés à

travers la pyramide de production des poulets de chair, même en l'absence de pression de sélection (Agersø *et al.*, 2014; Nilsson *et al.*, 2014). En France par le passé, les céphalosporines ont pu être utilisées en couvoir par injection de ceftiofur *in ovo* ou en sous-cutanée chez le poussin d'un jour, pour contrôler les fortes mortalités dues aux infections à *E. coli* chez le poulet en élevage. Ces pratiques ont pu favoriser également la sélection et la dissémination des souches de *E. coli* résistantes aux C3G chez les poulets (Baron *et al.*, 2014). De plus, ces souches étant souvent porteuses de résistances associées à des antibiotiques utilisés en élevage comme la tétracycline et les sulfamides, certains traitements antibiotiques ont pu les co-sélectionner et favoriser leur maintien dans l'environnement d'élevage. La réduction drastique d'usage des céphalosporines dans d'autres filières a montré une corrélation avec la diminution de la résistance bactérienne (Verliat *et al.*, 2021). D'autre part, la diminution constante de l'exposition globale aux antibiotiques des volailles depuis 2011 en France (- 64,4 %) (ANMV, 2021) a aussi pu participer à la diminution d'occurrence des *E. coli* résistants aux C3G chez les poulets en élevage (- 78,2 %) sur la période 2016-2020. Ce portage en élevage, participant probablement à la prévalence observée dans les viandes à la distribution (Projahn *et al.*, 2018), a sans doute eu une incidence positive sur la diminution simultanée de 82,5 % des *E. coli* BLSE/AmpC isolés dans les viandes de poulet en France entre 2016 et 2020, comme cela a également été observé au Royaume Uni entre 2013 et 2018 (Randall *et al.*, 2021). Cette diminution très significative dépasse l'objectif chiffré de l'action 14 du plan Ecoantibio (2017-2021), qui prévoyait d'atteindre une « réduction spécifique de 50 % en 5 ans de la prévalence d'*E. coli* producteurs de BLSE sur les prélèvements de volailles (poulets de chair) au stade de la distribution ». Dans la surveillance européenne, l'évolution de la prévalence des *E. coli* BLSE/AmpC varie positivement ou négativement selon les états membres. Mais globalement, une diminution moyenne de cette prévalence, de 8 % dans les caeca et de 31 % dans les viandes, a été enregistrée entre 2016 et 2018 dans l'Union Européenne (European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention control (ECDC), 2020).

CONCLUSION

La diminution très significative de la résistance aux C3G chez les *E. coli* de poulet sur la période 2014-2020 montre que les mesures législatives ou réglementaires et l'engagement des professionnels de la filière ont eu un impact bénéfique marqué sur la résistance aux C3G en filière volaille en France.

⁶ <https://mic.eucast.org/>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agersø, Y. et al., 2014. Foodborne Pathog Dis., (11), 740-746.
 Anses. 2021. Rapport annuel. Anses-ANMV, 89 p.
 Baron, S. et al., 2014. Antimicrob. Agents Chemother., (58), 5428-5434.
 European Food Safety Authority (EFSA) and European Centre for Disease Prevention control (ECDC), 2020. EFSA Journal, (18), 1-166.
 Nilsson, O. et al., 2014. J. Antimicrob. Chemother., (69), 1497-1500.
 Projahn, M. et al., 2018. Biomed Res. Int., 7309346.
 Randall LP. et al., 2021. J. Appl. Microbiol., (130), 247-257.
 Verliat F. et al., 2021. Vet. Med. Sci., (7), 432-439.

Tableau 1. Profils de résistances associées les plus fréquents et fréquence d'apparition de ces profils chez les *E. coli* BLSE/AmpC isolés de caeca de poulet et de viandes de poulet entre 2016 et 2020.

Années	Caeca		Viandes	
	Profils les + fréquents	Fréquence d'apparition	Profils majoritaires	Fréquence d'apparition
2016	SMX-TET	20 %	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	12 %
2018	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	39 %	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	40 %
2020	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	30 %	CIP/NAL-SMX-TET-TMP	11 %

CIP/NAL : ciprofloxacine/acide nalidixique – SMX : sulfaméthoxazole – TET : tétracycline – TMP : triméthoprim.

Figure 1. Protocole d'isolement des souches.

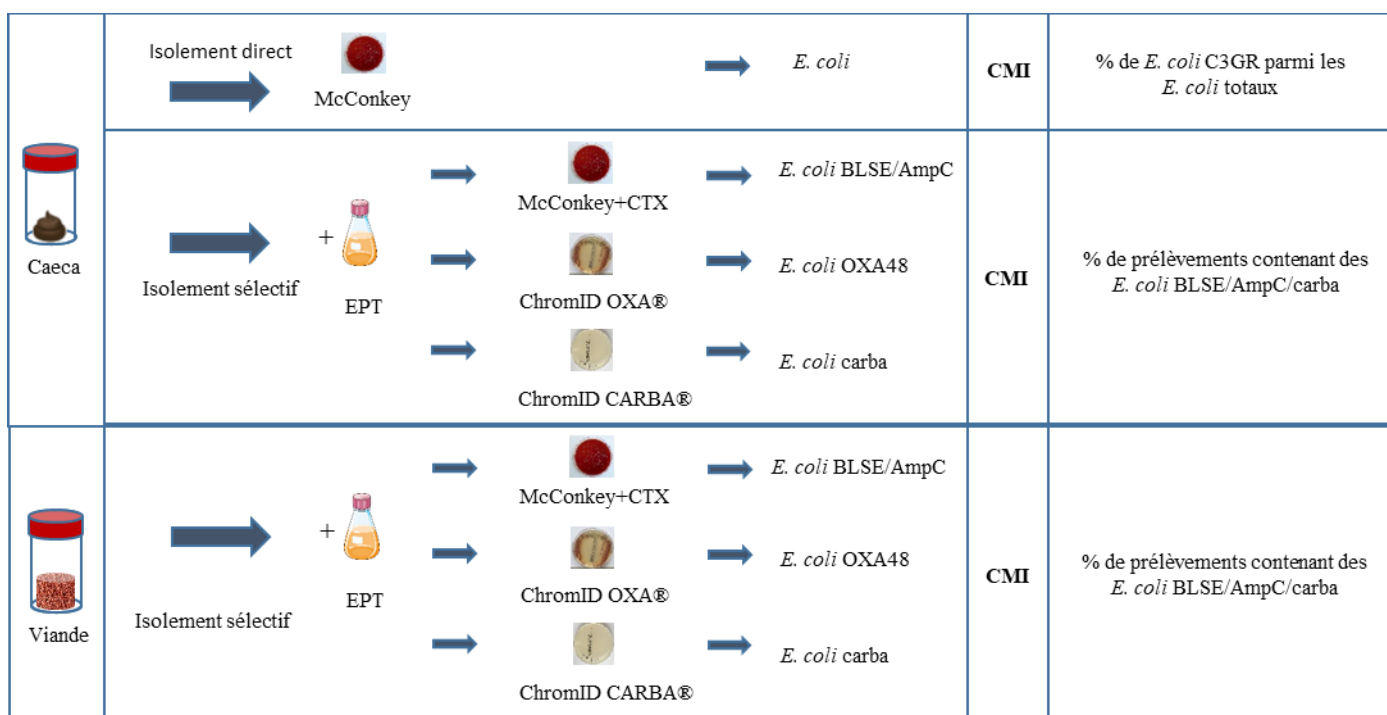


Figure 2. Evolution des pourcentages de *E. coli* résistants aux C3G dans la population totale de *E. coli* isolés par méthode directe à partir des caeca de poulets de chair prélevés à l'abattoir entre 2014 et 2020.

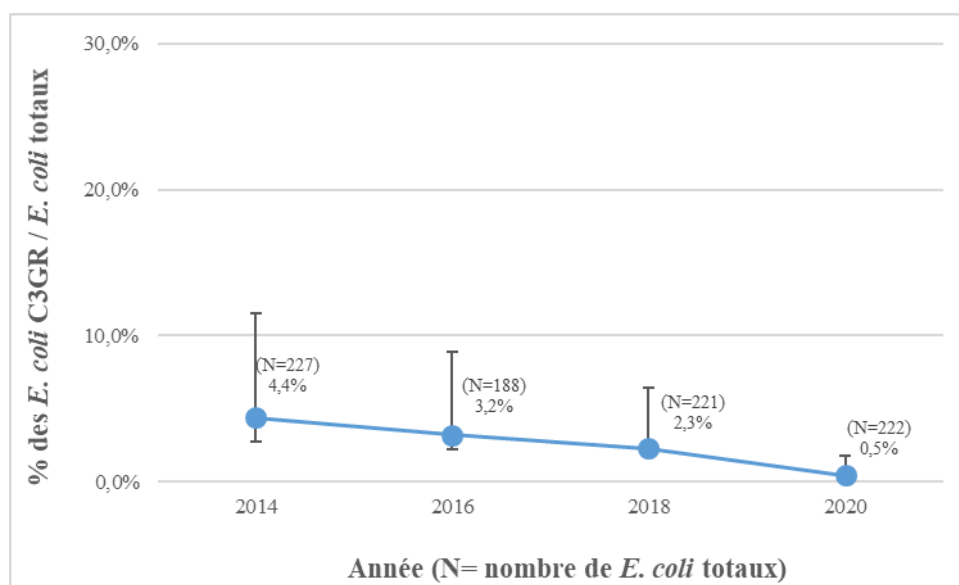


Figure 3. Evolution des pourcentages de prélèvements de caeca de poulet à l'abattoir et de viandes de poulet à la distribution entre 2016 et 2020 contenant des *E. coli* BLSE/AmpC isolés sur milieux sélectifs.

