



La résistance antimicrobienne chez les *E. coli* commensales, *Campylobacter spp.* et *Salmonella spp.* isolés des carcasses et de la viande de volaille, de boeuf et de porc en 2016

Rapport 2016

Antimicrobiële resistentie bij commensale *E. coli*, *Campylobacter spp.* en *Salmonella spp.* geïsoleerd uit karkassen, vlees van gevogelte, runds- en varkensvlees in 2016

Verslag 2016

Direction opérationnelle
Maladies transmissibles et infectieuses
Service scientifique Pathogènes alimentaires
Rue Juliette Wytsman 14
1050 Bruxelles | Belgique
www.wiv-isp.be

Service Scientifique Pathogènes alimentaires | Octobre 2017 | Bruxelles, Belgique

La résistance antimicrobienne chez les *E. coli* commensales, *Campylobacter spp.* et *Salmonella spp.* Isolés des carcasses et de la viande de volaille, de boeuf et de porc. Rapport 2016.

Editeur responsable : Dr Myriam Sneyers, Directeur général | Rue J. Wytsman 14 | 1050

Bruxelles

N° de référence interne :

N° de dépôt: [D/2017/2505/21](#)

Auteurs: C. Garcia-Graells, M. Polet, F. Crombé, N. Botteldoorn

TABLE DE MATIÈRES

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Introduction..... | 4 |
| 2 | Matériel et méthode..... | 4 |
| 2.1 | TESTS DE SENSIBILITÉ AUX AGENTS ANTIMICROBIENS | 4 |
| 2.2 | CRITÈRES DE CLASSIFICATION DE SENSIBILITÉ AUX ANTIMICROBIENS SELON L'EFSA 2015..... | 7 |
| 2.3 | CRITÈRES DE CLASSIFICATION DES B-LACTAMES SELON L'EFSA 2016..... | 7 |
| 2.4 | DÉFINITION DE MULTI-RÉSISTANCE..... | 8 |
| 3 | Résultats..... | 8 |
| 3.1 | SURVEILLANCE ANTIMICROBIENNE CHEZ LES <i>CAMPYLOBACTER</i> | 8 |
| 3.2 | RÉSISTANCE ANTIMICROBIENNE CHEZ <i>SALMONELLA</i> SPP. | 9 |
| 3.2.1 | Salmonella FOOD | 10 |
| 3.2.2 | Salmonella spp. dans le cadre du programme EU-AMR dans les carcasses de poulet de chair 11 | |
| 3.2.3 | Salmonella spp. résistantes aux céphalosporines de troisième génération..... | 14 |
| 3.3 | <i>E. COLI</i> PRODUCTRICES DE B-LACTAMASES | 15 |
| 3.3.1 | Détection de <i>E. coli</i> productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans des matrices alimentaires d'origine animale..... | 15 |
| 4 | Conclusions | 21 |
| 4.1 | CAMPYLOBACTER | 21 |
| 4.2 | SALMONELLA | 21 |
| 4.3 | <i>E. COLI</i> BLSE INDICATEURS..... | 21 |
| 5 | Abréviations..... | 23 |
| 6 | Références | 23 |
| 7 | Remerciements | 23 |
| 8 | List de tableaux | 23 |
| 9 | Liste de figures | 24 |

1 Introduction

Les agents antimicrobiens, comme les antibiotiques, sont des substances utilisées pour tuer des micro-organismes ou pour arrêter leur développement et leur multiplication. Ils sont couramment utilisés dans des médicaments à usage humain et vétérinaires pour traiter une grande variété de maladies infectieuses.

Si le phénomène de résistance aux antimicrobiens est pour une part un phénomène naturel, dans la mesure où chaque espèce de bactérie est d'emblée résistante à un type donné d'antibiotiques – ce qui définit en retour le spectre d'activités de l'antimicrobien –, elle est aussi un phénomène acquis, favorisé par l'usage et le mésusage des antibiotiques. Par l'usage tout d'abord, puisque le simple fait d'utiliser un antibiotique va petit à petit favoriser la reproduction des spécimens résistants.

Un exemple bien connu de bactérie ayant acquis une résistance à plusieurs antibiotiques est une bactérie appelée bêtalactamases à spectre étendue (ou bêtalactamases à spectre élargi).

La bactérie résistante peut se propager par différentes voies. Lorsqu'une résistance aux antimicrobiens apparaît parmi des bactéries zoonotiques présentes chez des animaux et dans des aliments, elle peut également compromettre le traitement efficace de maladies infectieuses chez l'homme.

Dans le domaine de la sécurité des aliments, les autorités doivent protéger les consommateurs contre les risques liés à la chaîne alimentaire et définir les meilleures options de contrôle pour diminuer ces risques. Les scientifiques et les évaluateurs des risques examinent les facteurs pouvant conduire à la présence de bactéries résistantes aux antimicrobiens dans les aliments et chez les animaux, afin de fournir des avis scientifiques appropriés aux décideurs.

En Europe, L'EFSA surveille et analyse la situation en matière d'AMR dans les aliments et chez les animaux à travers l'Europe. Elle est assistée par le réseau de l'EFSA chargé de la collecte des données sur les zoonoses. Une décision a été implémentée depuis 2014 afin d'harmoniser l'échantillonnage, l'analyse de résistance aux agents antimicrobiens et la collecte de données.

La surveillance est organisée afin de détecter la résistance chez les bactéries zoonotiques *Salmonella* et *Campylobacter* qui sont d'un grand intérêt en santé publique. Elles peuvent contaminer la nourriture et provoquer des intoxications alimentaires. De plus, les bactéries intestinales indicatrices des animaux sains telles que *E. coli* font aussi partie de la surveillance. Ces bactéries indicatrices peuvent contaminer la nourriture. Le niveau de résistance de ces bactéries indicatrices représente la résistance présente dans ce type de population. Il reflète également la magnitude de la pression exercée par les antibiotiques dans la population intestinale et peut servir d'indicateur des émergences et changements. Aussi, ces bactéries indicatrices peuvent servir de réservoir de gènes de résistance.

2 Matériel et méthode

2.1 Tests de sensibilité aux agents antimicrobiens

La diminution de la sensibilité d'une bactérie à un certain antimicrobien est mesurée grâce à la concentration minimale inhibitrice (CMI).

La CMI est la plus petite concentration en antibiotique nécessaire pour inhiber la croissance d'une bactérie. La CMI mesure une concentration, normalement exprimée en mg/l.

La CMI est déterminée selon la méthode de dilution conforme aux méthodes décrites par le comité européen des antibiogrammes (European Committee on Antimicrobial susceptibility Testing-EUCAST) et l'institut des normes de laboratoire et d'analyse médicales (Clinical and

Laboratory Standard Institute-CLSI). Celle-ci est reconnue comme méthode de référence internationale (norme ISO 20776-1 :2006)

En 2016, la détermination de la CMI des isolats a été réalisée en utilisant respectivement la "méthode de microdilution" avec EUVSEC (premier panel), EUVSEC2 (deuxième panel) pour *E. coli* et *Salmonella* et EUCAMP2 panel de Sensititre (ThermoFisher) pour *Campylobacter*. L'interprétation des résultats a été réalisée sur base des seuils de résistance établis par EUCAST ECOFF, comme décrit et précisé dans la Décision Européenne 2013/652/UE.

Les tableaux de 1 à 5 reprennent les seuils d'interprétation de la résistance aux antimicrobiens selon la bactérie concernée.

Tableau 1. Panel de substances antimicrobiennes testées et seuil d'interprétation pour *Campylobacter jejuni*

| Famille d'Antimicrobienne | Antimicrobien | Abréviation | ECOFF* R > (mg/l) <i>C. jejuni</i> |
|---------------------------|-------------------|-------------|------------------------------------|
| Tétracyclines | Tétracycline | TET | 1 |
| Quinolones | Acide nalidixique | NAL | 16 |
| Fluoroquinolones | Ciprofloxacine | CIP | 0.5 |
| Macrolides | Erythromycine | ERY | 4 |
| Aminosides | Gentamicine | GEN | 2 |
| Aminosides | Streptomycine | STR | 4 |

*ECOFF, epidemiological cut-off value

Tableau 2. Panel de substances antimicrobiennes (premier panel) testées et seuils d'interprétation pour *Salmonella* spp.

| Famille d'Antimicrobienne | Antimicrobien | Abréviation | ECOFF (R> mg/l) |
|---|-------------------|-------------|-----------------|
| Beta-lactams | Ampicilline | AMP | 8 |
| 3 ^{ème} génération Céphalosporines | Céfotaxime | FOT | 0.5 |
| 3 ^{ème} génération Céphalosporines | Ceftazidime | TAZ | 2 |
| Carbapénèmes | Méropénème | MER | 0.125 |
| Quinolones | Acide Nalidixique | NA | 16 |
| Fluoroquinolones | Ciprofloxacine | CIP | 0.064 |
| Tétracycline | Tétracycline | TET | 8 |
| Polymyxines | Colistine | COL | 2 |
| Aminosides | Gentamicine | GEN | 2 |
| Diaminopyrimidines | Triméthoprime | TMP | 2 |
| Sulfamides | Sulfaméthoxazole | SMX | 256* |
| Phénicolés | Chloramphénicol | CHL | 16 |
| Macrolides | Azithromycine | AZI | 16* |
| Glycylcyclines | Tigécycline | TIG | 1 |

*Données officielles non disponibles, mais la valeur considérée pour SMX est >256 (mg/l) et pour AZI >16 (mg/l), selon les valeurs données par l'EFSA pour le rapportage AMR.

Tableau 3. Panel de substances antimicrobiennes (deuxième panel EUVSEC2) testées et seuils d'interprétation pour *Salmonella* spp.

| Famille d'Antimicrobienne | Antimicrobien | Abréviation | ECOFF (R>mg/l) |
|---|---------------|-------------|----------------|
| 2 ^{ème} génération céphalosporines | Céfexitin | FOX | 8 |
| 4 ^{ème} génération céphalosporines | Céfépime | FEP | 0.125 |

| | | | |
|---|-----------------------------|--------|-------|
| 3 ^{ème} génération céphalosporines+ inhibiteur de bêta-Lactamase | Cefotaxime+clavulanic acid | FOT/CI | 0.25* |
| 3 ^{ème} génération Céphalosporines+ inhibiteur de bêta-Lactamase | Ceftazidime+clavulanic acid | TAZ/CL | 0.5* |
| Carbapénèmes | Méropénème | MER | 0.125 |
| Carboxypénicillines | Témocilline | TEM | 32* |
| Carbapénème | Imipénèm | IMI | 0.5 |
| Carbapénème | Ertapénème | ERT | 0.06 |
| 3 ^{ème} génération céphalosporines | Céfotaxime | FOT | 0.25 |
| 3 ^{ème} génération céphalosporines | Ceftazidime | TAZ | 0.5 |

*Données officielles non disponibles, mais les valeurs considérées pour FOT/CL, TAZ/CL et TEM sont les valeurs données par l'EFSA pour le rapportage AMR 2016.

Tableau 4. Panel de substances antimicrobiennes testées et seuils d'interprétation pour *E. coli* indicateur

| Famille d'Antimicrobienne | Antimicrobien | Abréviation | ECOFF (R>mg/l) |
|---|-------------------|-------------|----------------|
| Beta-lactams | Ampicilline | AMP | 8 |
| 3 ^{ème} génération céphalosporines | Céfotaxime | FOT | 0.25 |
| 3 ^{ème} génération céphalosporines | Ceftazidime | TAZ | 0.5 |
| Carbapénèmes | Méropénème | MER | 0.125 |
| Quinolones | Acide Nalidixique | NA | 16 |
| Fluoroquinolones | Ciprofloxacine | CIP | 0.064 |
| Tétracycline | Tétracycline | TET | 8 |
| Polymyxines | Colistine | COL | 2 |
| Aminosides | Gentamicine | GEN | 2 |
| Diaminopyrimidines | Triméthoprime | TMP | 2 |
| Sulfamides | Sulfaméthoxazole | SMX | 64* |
| Phénicolés | Chloramphénicol | CHL | 16 |
| Macrolides | Azithromycine | AZI | 16* |
| Glycylcyclines | Tigécycline | TIG | 1 |

*Données officielles non disponibles, mais la valeur considérée pour SMX est >64 (mg/l) et pour AZI >16 (mg/l) selon les valeurs données par EFSA pour le rapportage AMR 2015.

Tableau 5. Panel de substances antimicrobiennes (deuxième panel EUVSEC2) testées et seuils d'interprétation pour *E. coli* indicateur

| Famille d'Antimicrobienne | Antimicrobien | Abréviat ion | ECO FF (R>m g/l) |
|--|-----------------------------|--------------|------------------|
| 2 ^{ème} génération céphalosporines | Céfoxitin | FOX | 8 |
| 4 ^{ème} génération céphalosporines | Céfépime | FEP | 0.125 |
| 3 ^{ème} génération céphalosporines+ inhibiteur de bêta-Lactamase | Cefotaxime+clavulanic acid | FOT/CI | 0.25* |
| 3 ^{ème} génération Céphalosporines + inhibiteur de bêta-Lactamase | Ceftazidime+clavulanic acid | TAZ/CL | 0.5* |
| Carbapénèmes | Méropénème | MER | 0.125 |
| Carboxypénicillines | Temocilline | TEM | 32* |
| Carbapénème | Imipénèm | IMI | 0.5 |
| Carbapénème | Ertapénème | ERT | 0.06 |

| | | | |
|---|-------------|-----|------|
| 3 ^{ème} génération céphalosporines | Céfotaxime | FOT | 0.25 |
| 3 ^{ème} génération céphalosporines | Ceftazidime | TAZ | 0.5 |

*Données officielles non disponibles, mais la valeur considérée pour FOT/CL, TAZ/CL et TEM, sont les valeurs données par l'EFSA pour le rapportage AMR 2016.

2.2 Critères de classification de sensibilité aux antimicrobiens selon l'EFSA 2015

Les termes utilisés pour décrire les niveaux de résistance aux antimicrobiens sont décrits selon les critères suivants : «rare: <0,1%», «très faible: 0,1% à 1,0%», «faible : 1% à 10,0%», «modéré: 10,0% à 20,0 % », « élevé: 20,0% à 50,0% », « très élevé: 50,0% à 70,0% », « extrêmement élevé:> 70,0% ». Ces termes sont appliqués à tous les antimicrobiens. Toutefois, l'importance d'un niveau de résistance donné dépendra de l'antimicrobien en question et son importance en médecine humaine et vétérinaire (Efsa Journal 2015, 13 (2) :4036)

2.3 Critères de classification des β-lactames selon l'EFSA 2016

Le deuxième panel permet une classification précise des isolats d'*E. coli* présentant une résistance aux céphalosporines de la troisième génération. Les critères ont été mis à jour en 2016 et ont été présentés lors du meeting EFSA AMR-Network en novembre 2016 (Tableau 6).

Tableau 6. Critères de classification des β-lactamases selon l'EFSA 2016

| case | Phénotype | description |
|------|-------------------|--|
| 1 | BLSE | Céfotaxime ou ceftazidime > 1mg/L (R) Synergie céfotaxime/acide clavulanique ou ceftazidime/acide clavulanique Céfoxitine < 8mg/L (S) |
| 2 | AmpC | Céfotaxime ou ceftazidime > 1mg/L (R) Céfoxitine > 8mg/L (R) |
| 3 | BLSE+AmpC | Céfotaxime ou ceftazidime > 1mg/L (R) Céfoxitine > 8mg/L (R) Synergie cefotaxime/acide clavulanique ou ceftazidime/acide clavulanique |
| 4 | carbapénémases | Méropénème > 0.12mg/L (R) |
| 5 | Autres phénotypes | Céfotaxime or ceftazidime > 1mg/L (R) Céfoxitine < 8mg/L (S) Pas de Synergie céfotaxime/acide clavulanique ou ceftazidime/acide clavulanique Céfotaxime ≤ 1mg/L mais > 0.5 (R) ou Ceftazidime ≤ 1mg/L mais > 2 (R) Céfoxitine < 8mg/L (S) Cefotaxime and Ceftazidime ≤ 1mg/L Céfoxitine > 8mg/L (R) Méropénème ≤ 0.12 mg/L (S) Ertapénème > 0.06 mg/L (R) Imipénème > 1 mg/L (R) |

2.4 Définition de multi-résistance

Le terme multi-résistance fait référence à des isolats dont le phénotype a une résistance acquise à trois ou plusieurs familles d'antibiotiques. Cela implique par exemple que la résistance à la ciprofloxacine et l'acide nalidixique représente la résistance à une seule famille d'antimicrobiens ainsi que la résistance au céfotaxime et ceftazidime représente la résistance aux céphalosporines de troisième génération.

3 Résultats

3.1 Surveillance antimicrobienne chez les *Campylobacter*

Ce rapport porte sur *Campylobacter*, exclusivement *Campylobacter jejuni* isolé à partir de la viande de volaille. En 2016, la concentration minimale inhibitrice a été réalisée sur 370 *C. jejuni* identifiés à l'espèce par Maldi-Tof.

L'interprétation des résultats a été effectuée selon les seuils d'interprétation publiés dans la décision européenne 2013/652/UE (Tableau 1).

Les matrices à partir desquelles *Campylobacter jejuni* a été isolé sont les suivantes : carcasse entière de poulet de chair, carcasse de poule, viande de découpe de volaille avec ou sans peau, préparation de viande, viande de volaille et volaille entière. La matrice prédominante était : carcasse de poulet de chair.

La résistance aux différents antibiotiques et le nombre de souches sont détaillés dans le tableau 7. La figure 1 montre l'évolution de la résistance de *C. jejuni* isolé de la viande de volaille de 2010 à 2016.

Tableau 7. Nombre d'isolats et pourcentage de résistance aux antimicrobiens (n=370)

| Antimicrobiens | | cut-off (\geq) | n | % |
|-------------------|-----|--------------------|-----|-------|
| Ciprofloxacine | CIP | 0.5 | 209 | 56.49 |
| Erythromycine | ERY | 4 | 9 | 2.43 |
| Gentamicine | GEN | 2 | 4 | 1.08 |
| Acide nalidixique | NAL | 16 | 206 | 55.68 |
| Streptomycine | STR | 4 | 8 | 2.16 |
| Tétracycline | TET | 1 | 172 | 46.49 |

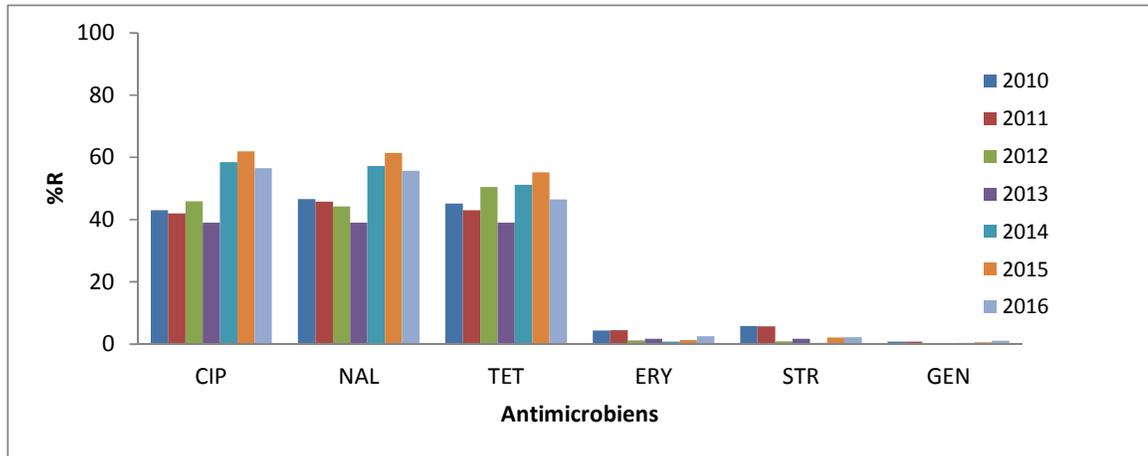


Figure 1. Evolution de la résistance chez *C. jejuni* isolé de la viande de volaille (2010-2016).

La résistance de *C. jejuni* aux antimicrobiens a diminué par rapport à l'année précédente pour les fluoroquinolones et pour la tétracycline. Par rapport à 2015, on remarque une diminution d'environ 5% au niveau de la résistance à la ciprofloxacine, l'acide nalidixique et la tétracycline et une légère augmentation de la résistance à l'érythromycine. 36.22% des isolats montrent un profil de résistance qui inclut les fluoroquinolones et la tétracycline (CipNalTet). Ce profil prédomine depuis 2010. 35.41% des isolats sont sensibles à tous les antibiotiques testés, valeur légèrement plus élevée qu'en 2015 et en ligne avec les résultats de 2014.

Il faut noter l'augmentation du nombre d'isolats résistants à 3 ou plusieurs familles d'antibiotiques : 2.70% (10/370) par rapport aux 2.08% en 2015 et 0.3% en 2014 (Figure 2). Ceci est dû à la légère augmentation de la résistance à l'érythromycine en 2016, un nombre d'isolats montrant alors un profil de résistance du type CipEryGenNalStrTet, CipEryNalTet ou EryStrTet.

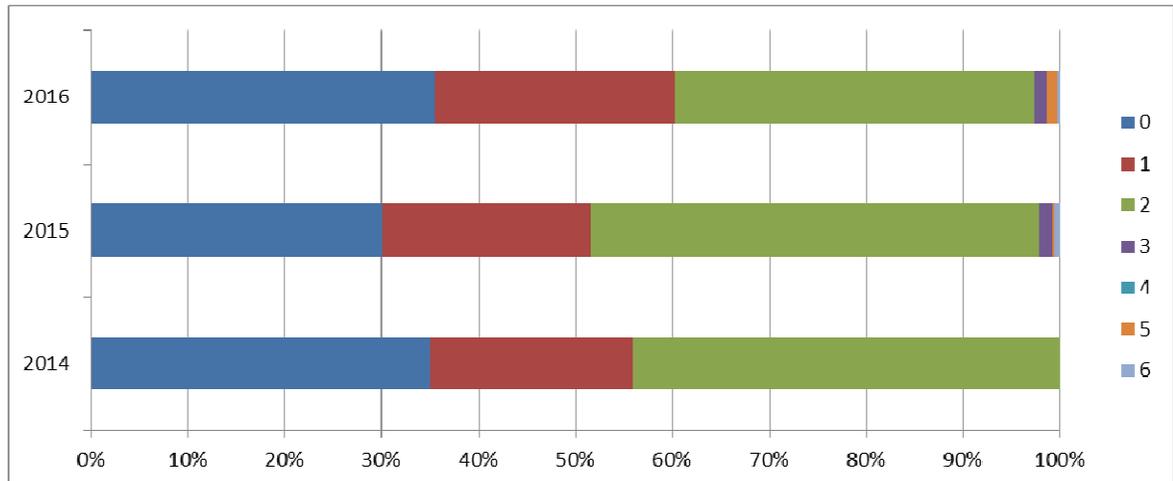


Figure 2. Comparaison du taux de résistance chez *C. jejuni* isolé de la viande de volaille en 2014, 2015 et 2016

3.2 Résistance antimicrobienne chez *Salmonella spp.*

Cette section comprend les analyses du programme Salmonella FOOD et le programme Salmonella EU-AMR qui en 2016 porte sur les carcasses de poulet de chair.

Ces programmes font partie de la surveillance officielle reprise dans la directive 2013/652/UE. L'objectif de celle-ci est que les Etats membres fournissent des données comparables sur la résistance aux antimicrobiens et également d'harmoniser aussi bien la méthode d'échantillonnage, que l'analyse et le rapportage.

3.2.1 Salmonella FOOD

En 2016, dans le cadre du programme Salmonella Food, 227 isolats ont été testés pour leur sensibilité aux antimicrobiens. Les matrices prédominantes étaient les carcasses de porcs (45%), suivies des carcasses de poules (22%), mais une large variété des produits ont aussi fait partie de la surveillance, parmi eux les préparations de viandes (9.25%) et autres.

A partir de 2015, tous les sérovars de *Salmonella* ont fait l'objet d'une analyse pour déterminer leur sensibilité aux antimicrobiens.

Les sérovars les plus répandus en 2016 sont Enteritidis (18%) et Infantis (14%) fréquemment retrouvés chez la volaille, suivis de Typhimurium fréquemment retrouvé chez le porc (26%).

Les figures 3 et 4 montrent le taux de résistance aux antimicrobiens de toutes les *Salmonella* spp. analysées en 2016 dans le cadre du programme Salmonella Food.

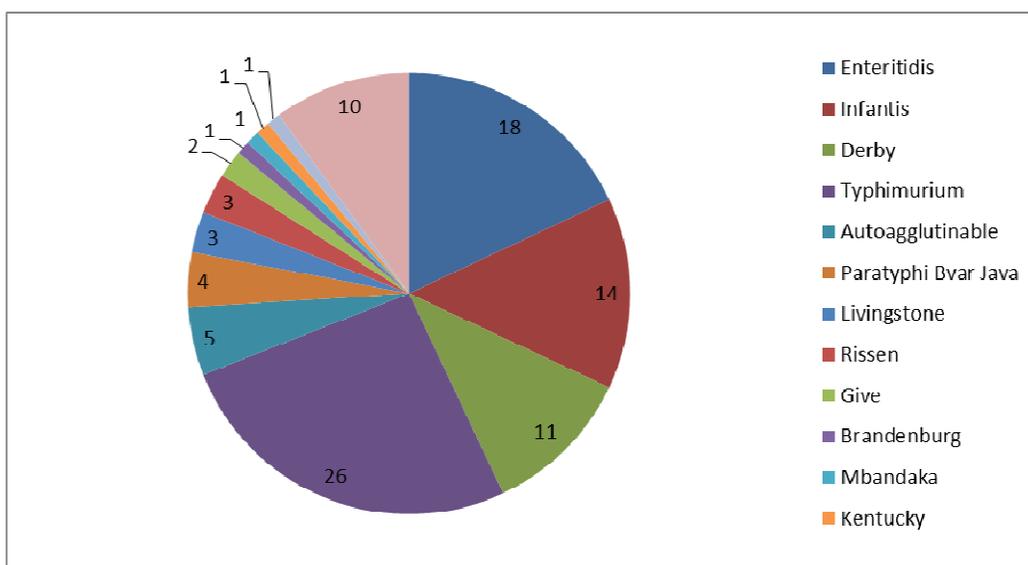


Figure 3. Pourcentage de sérovars de Salmonella isolés dans le programme Salmonella Food

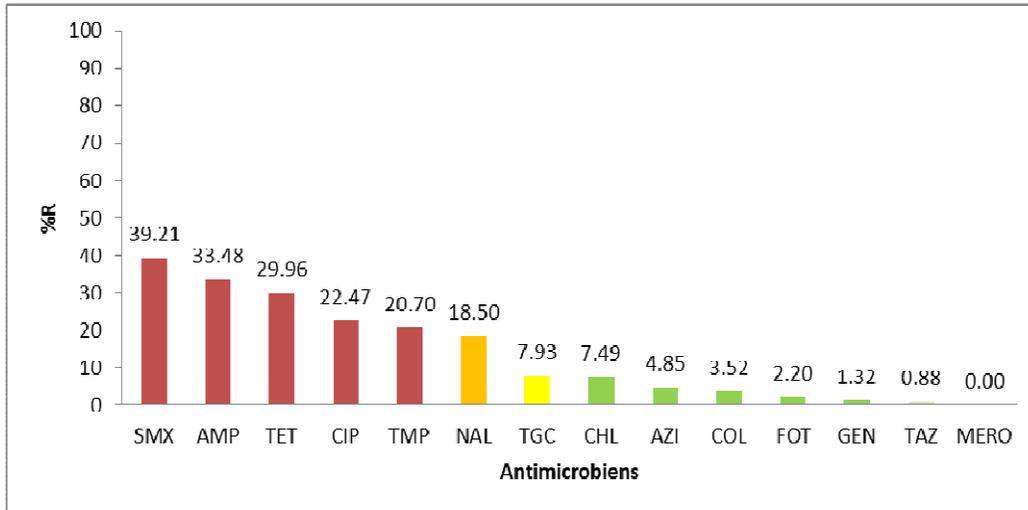


Figure 4 Taux de résistance aux antimicrobiens chez *Salmonella* spp. en 2016 (n=227).

Environ 39% des isolats sont sensibles à toutes les familles d'antibiotiques testées et 34.36% montrent un profil multi-résistant.

Le taux de résistance au sulfaméthoxazole est le plus élevé, suivi par le taux de résistance à l'ampicilline, la tétracycline, et la ciprofloxacine. Selon les critères de l'EFSA qui décrivent les niveaux de résistance (Efsa Journal 2015, 13 (2) :4036), la résistance à la céfotaxime (FOT) et la ceftazidime (TAZ) est faible et très faible, respectivement. Quatre isolats étaient résistants à la céfotaxime. Ils ont été contrôlés avec un deuxième panel d'antimicrobiens afin de déterminer le phénotype β -lactamase associé (voir section 3.2.3). Aucun isolat n'était résistant au méropénème. Il faut noter la faible résistance à l'azithromycine, qui augmente néanmoins par rapport à l'année précédente. En tout, 11 isolats sur 227 (4.85%) étaient résistants (1.24% en 2015). Cette augmentation n'est pas claire, elle peut être liée au sérovar *S. Infantis* puisque 7 des 11 isolats appartiennent au dit sérovar.

3.2.2 *Salmonella* spp. dans le cadre du programme EU-AMR dans les carcasses de poulet de chair

En 2016, 176 isolats de *Salmonella* spp. ont été analysés dans le cadre du monitoring EU-AMR pour déterminer leur sensibilité aux antimicrobiens selon la Décision Européenne 2013/652/UE. Ils ont été isolés de carcasses de poulet de chair. Parmi eux, 85 provenaient du programme d'échantillonnage de l'AFSCA et 91 provenaient de l'autocontrôle des opérateurs. La distribution par sérovar est représentée dans la figure 5. Il faut noter la prédominance du sérovar *Infantis* (40%) en 2016, par rapport au *Paratyphi B* Var. L(+) Tartrate+ en 2014 (42%) pour le même type de matrice.

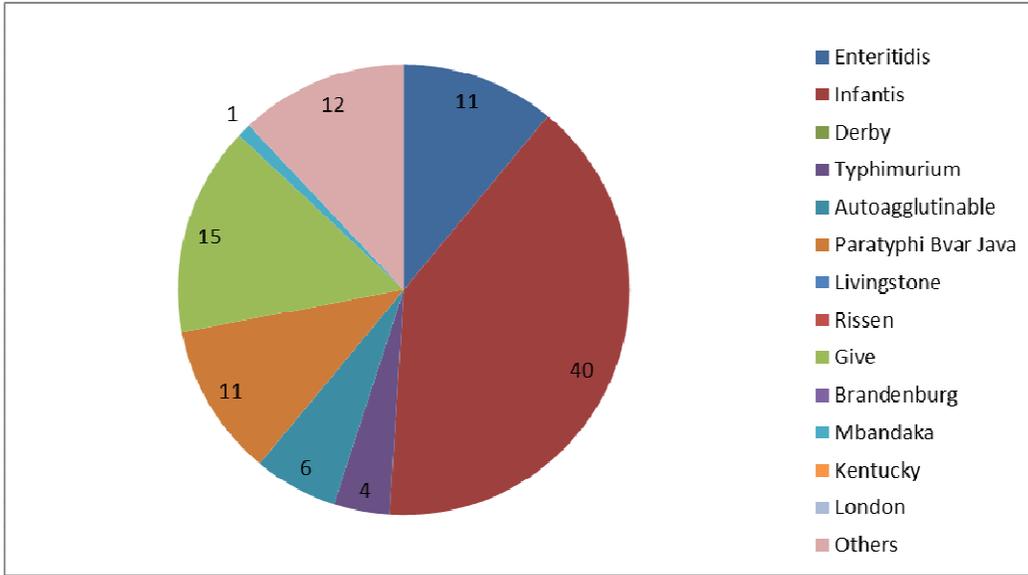


Figure 5. Distribution des sérovars de *Salmonella spp.* chez les carcasses de poulet de chair en 2016.

La résistance aux antimicrobiens est représentée dans la figure 6. Le taux de résistance au sulfaméthoxazole et à la ciprofloxacine est le plus élevé suivi de l'acide nalidixique. Selon les critères définis par l'EFSA, ces résistances sont considérées comme très élevées. En ce qui concerne la résistance aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime et ceftazidime), elle est considérée comme étant basse mais un nombre important d'isolats ont été identifiés comme étant résistants présumés. En tout, 7 (3.97%) isolats appartenant au sérovars Paratyphi et Infantis ont été détectés comme *Salmonella* BLSE présumé dans le cadre du programme EU-AMR. Un contrôle avec le deuxième panel d'antimicrobiens a été réalisé afin de déterminer leur phénotype β -lactamase. Une analyse plus approfondie est réalisée dans la section 3.2.3.

Un isolat a montré une résistance au méropénème dans le premier panel mais cette résistance n'a pas été confirmée dans le deuxième panel. Par conséquent, l'isolat ne produit pas de carbapénémases.

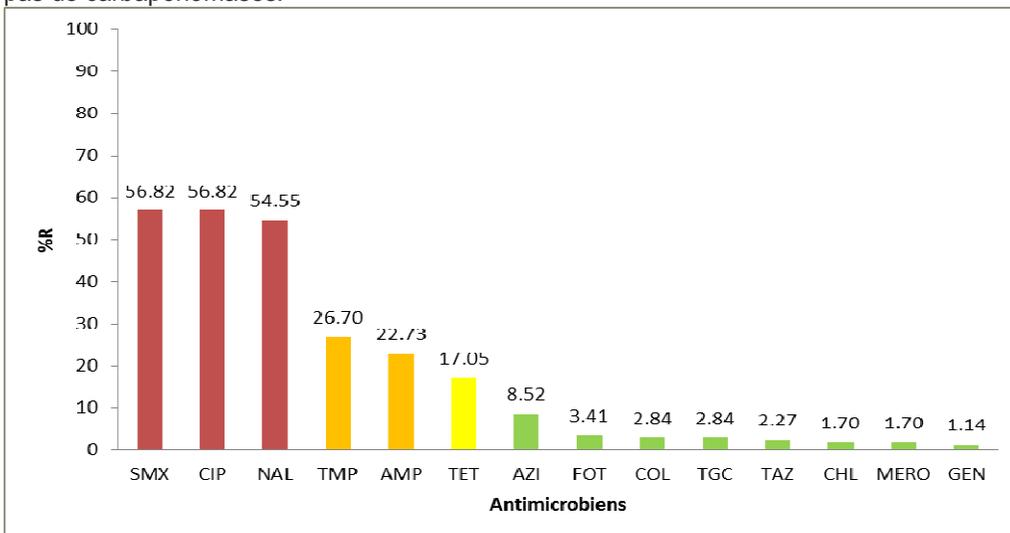


Figure 6. Taux de résistance aux antimicrobiens chez *Salmonella spp.* dans les carcasses de poulet de chair.

La figure 7 compare les données de 2016 par rapport à celles de 2014. Une diminution du taux de résistance pour tous les antimicrobiens testés est remarquée, excepté pour le sulfaméthoxazole, ciprofloxacine et l'acide nalidixique.

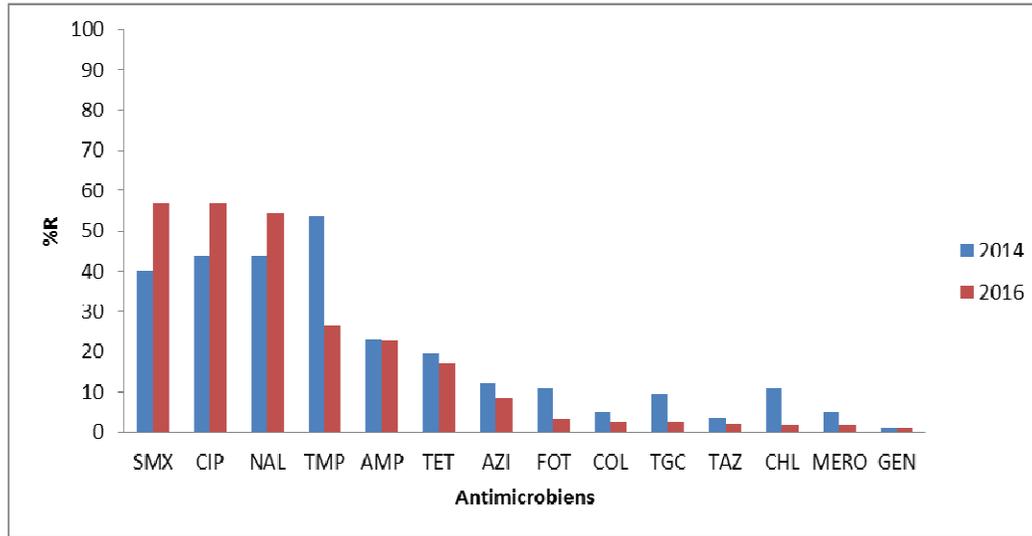


Figure 7 : Comparaison du pourcentage de résistance aux antimicrobiens chez *Salmonella* spp. provenant du programme EU-AMR (carcasses de poulet de chair) en 2014 et en 2016.

Une analyse du taux de résistance de tous les isolats de *Salmonella* à 1 ou plusieurs familles d'antibiotiques a été réalisée (voir figure 8).

Parmi les 176 isolats, 28.98% sont sensibles à tous les antibiotiques testés et 75 (42.61%) sont multi-résistants, c'est-à-dire résistants à 3 ou plusieurs familles.

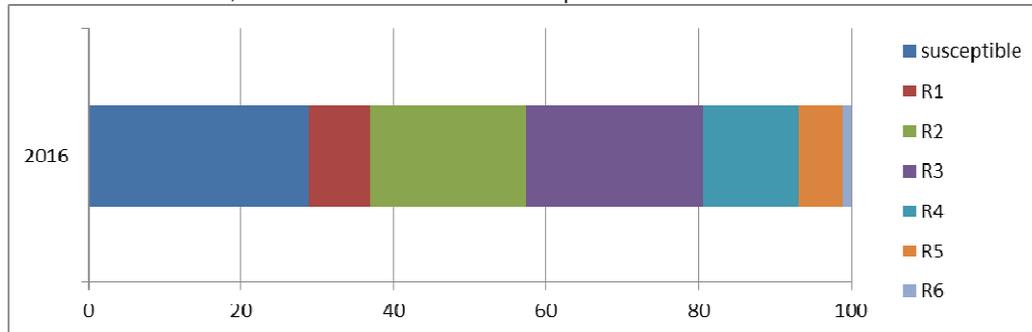


Figure 8. Taux de résistance à 1 ou plusieurs familles d'antimicrobiens chez *Salmonella* spp., dans les carcasses de poulet de chair (n=176)

Le figure 9 montre la résistance des sérovars le plus pertinents. Une analyse de la multirésistance chez les *Salmonella* isolées de carcasses de volaille montre une grande variabilité par sérovar (figure 9). Il faut noter la multirésistance retrouvée chez *S. Paratyphi*, *S. Autoagglutinable* et *S. Infantis*. Des 11 isolats de *S. Autoagglutinable*, 7 (63.63%) montrent un profil multirésistant, avec une résistance aux céphalosporines de troisième génération et une co-résistance aux antibiotiques critiques (ciprofloxacine). Des 19 isolats de *S. Paratyphi* B Var. L(+) Tartrate+, 11 (57.89%) montrent un profil multirésistant et 6 d'entre eux montrent aussi une co-résistance à la ciprofloxacine. Pour le sérovar *Infantis*, 47 des 71 isolats (66.19%) présentent un profil multirésistant. Douze profils multirésistants ont été retrouvés, avec des co-résistances qui incluent toujours les quinolones. Les profils prédominants chez *S. Infantis* sont AmpCipNalSmx (15.49%) et AziCipNalSmxTetTmp (9.85%).

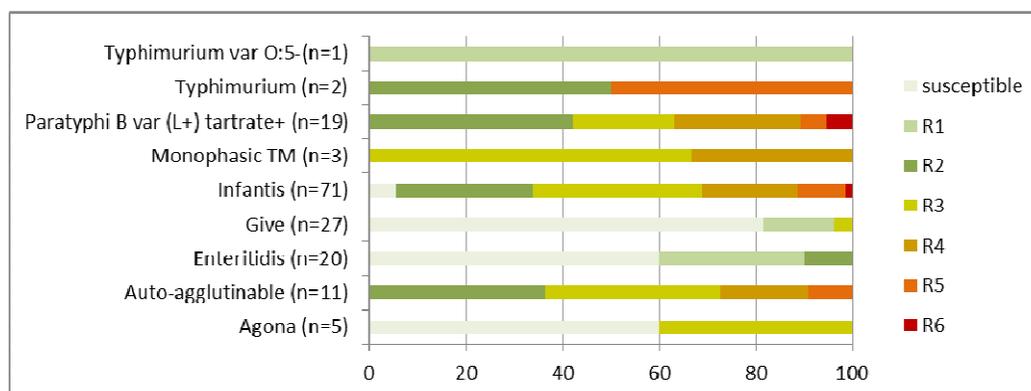


Figure 9. Pourcentage de résistance à une famille (R1) ou plusieurs familles d'antimicrobiens (R2-R6) des sérovars les plus pertinents chez *Salmonella* spp. provenant du programme EU-AMR, dans les carcasses de poulet de chair

3.2.3 *Salmonella* spp. résistantes aux céphalosporines de troisième génération.

En 2016, 11 isolats de *Salmonella* spp. présentaient une résistance aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime ou ceftazidime) ce qui signifie qu'ils sont producteurs de BLSE ou AmpC présumés. Une confirmation a été faite avec le deuxième panel de substances antimicrobiennes conformément à la décision 2013/652/UE et comme décrit dans matériel et méthodes. Les résultats (Tableau 8) montrent les phénotypes associés pour les isolats provenant de carcasses de poulet de chair (7/11) mais aussi pour ceux retrouvés dans les carcasses de porc (1/11), de viande de volaille (1/11), de volaille entière (1/11) et de cuisse de grenouille (1/11).

Tableau 8. *Salmonella* spp productrices de β -lactamases

| Matrice/sérovar/phénotype | n |
|---|----------|
| carcasse de porc | 1 |
| Sérovar unconnue | |
| autre phénotype | |
| carcasse de poulet de chair | 7 |
| Auto-Agglutinable | 2 |
| AmpC | 1 |
| ESBL | 1 |
| Infantis | 2 |
| AmpC | 1 |
| ESBL+AmpC | 1 |
| Paratyphi B Var L (+) Tartrate + | 3 |
| AmpC | 1 |
| ESBL+AmpC | 2 |
| cuisse de grenouille | 1 |
| Saintpaul | |
| ESBL+AmpC | |
| viande de volaille | 1 |
| Paratyphi B Var L (+) Tartrate + | |
| ESBL | |
| volaille entière | 1 |
| Paratyphi B Var L (+) Tartrate + | |

| | |
|--------------|-----------|
| ESBL+AmpC | |
| Total | 11 |

La figure 10 représente le pourcentage d'isolats classés comme ESBL, AmpC, phénotype combiné ESBL+AmpC ou autre phénotypes, selon les critères de classification des β -lactamases prévus par l'EFSA. Il faut noter la variabilité des phénotypes. Le phénotype prédominant est le phénotype combiné ESBL+AmpC suivi du phénotype AmpC.

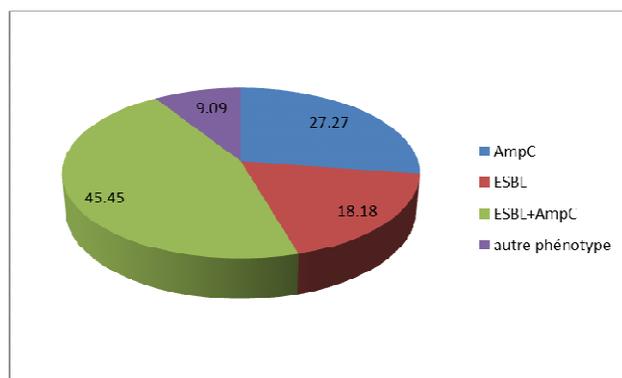


Figure 10. Distribution phénotypique des *Salmonella spp.* productrices d'ESBL et AmpC en 2016.

3.3 *E. coli* productrices de β -lactamases

3.3.1 Détection de *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans des matrices alimentaires d'origine animale.

En 2016, dans le cadre de la détection des souches *E. coli* productrices de β -lactamases dans des matrices d'origine animale, une méthode qualitative (présence/absence dans 25g) a été utilisée sur les viandes de porc, viandes de veau et de bœuf, filet américain (préparation de viande) et les produits de la pêche.

Cette méthode est basée sur la méthode décrite dans la décision européenne 2013/652/EU. Le milieu utilisé est McConkey supplémenté de céfotaxime (CTX, 1mg/L) (Biorad, prêt-à-l'emploi) pour la détection d'*E. coli* BLSE et AmpC et le milieu CarbaSmart (BioMérieux) pour la détection des carbapénémases.

Les résultats de la détection sont illustrés dans le tableau 9.

Tableau 9. Détection d'*E. coli* BLSE dans les matrices d'origine animale

| Espèce | Échantillons testés | BLSE+/25g | % |
|--------------------|---------------------|-----------|-------|
| Viande de volaille | 279 | 194 | 69.53 |
| Viande de bœuf | 300 | 19 | 6.33 |
| Viande de porc | 300 | 42 | 14.00 |
| Poisson osseux | 71 | 1 | 1.41 |
| Crustacés | 50 | 2 | 4.00 |

De plus, depuis 2014, une surveillance spécifique de tous les isolats présentant une résistance à une céphalosporine de troisième génération et étant considérés comme *E. coli* BLSE présumés est réalisée avec le premier et deuxième panel d'agents antimicrobiens, conformément au tableau 4 et 5 (matériel et méthodes).

Le deuxième panel permet une classification précise des isolats d'*E. coli* présentant une résistance aux céphalosporines de troisième génération. Ces critères ont été mis à jour en 2016 et ont été présentés lors du meeting EFSA AMR-Network en Novembre 2016 (Matériel et méthodes).

3.3.1.1 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les préparations de viande de bœuf

Les 19 isolats isolés sur McConkey+céfotaxime 1mg/L ont été confirmés au niveau de l'espèce par Maldi-Tof et testés pour leur sensibilité aux antimicrobiens selon la méthode décrite dans la décision européenne 2013/652/UE. Les taux de résistance aux antimicrobiens sont illustrés dans la figure 11 et une comparaison des valeurs obtenues en 2015 et 2016 est représentée dans la figure 12.

La figure 13 montre la caractérisation et la classification précises d'isolats testés selon le phénotype du type BLSE, AmpC, combiné ou « autres phénotypes », selon la recommandation de l'EFSA et EURL-AR 2016.

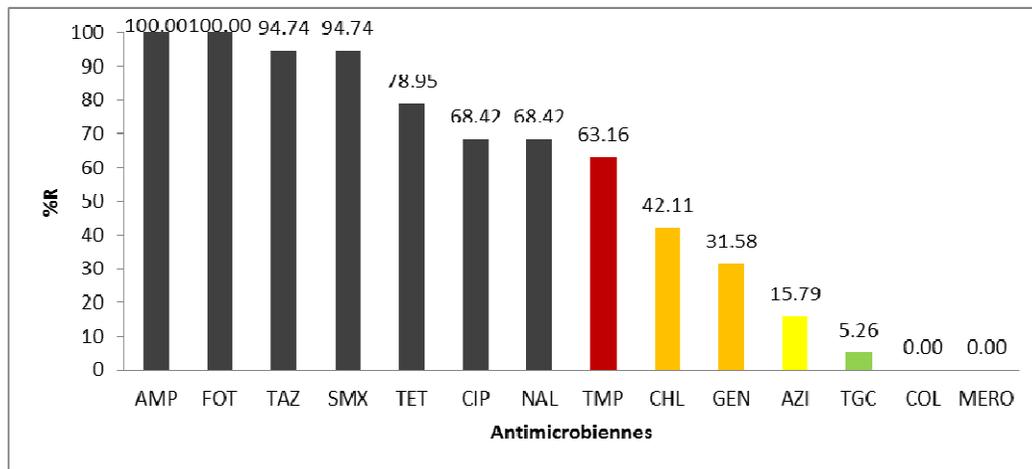


Figure 11 . Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de la viande de bœuf (n=19).

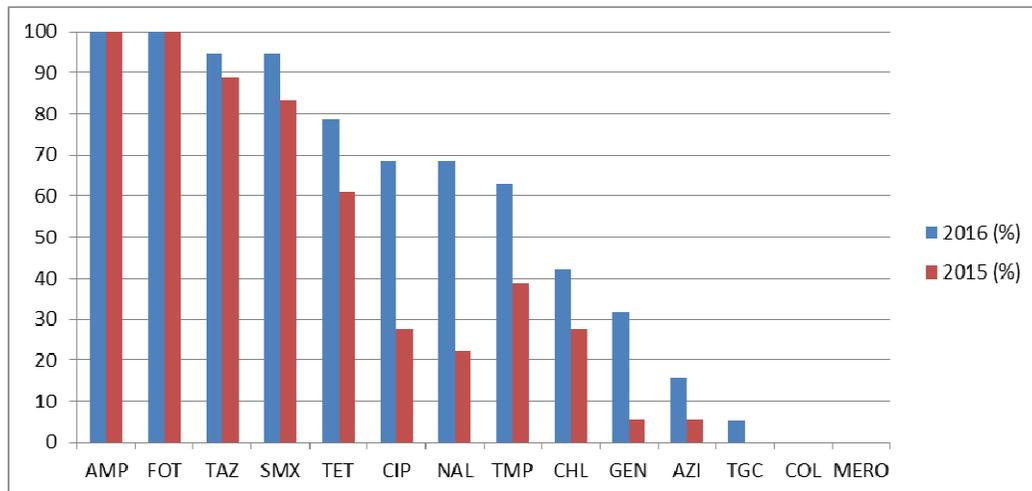


Figure 12 . Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de préparation de viande de bœuf (filet américain) en 2015-2016.

Pour les *E. coli* BLSE, une résistance au sulfaméthoxazole et à la tétracycline extrêmement élevée est détectée, suivie d'une résistance très élevée au triméthoprim et élevée au chloramphénicol et à la gentamicine. La résistance à l'azithromycine est modérée. La

résistance à la tigécycline est basse. Aucune résistance au méropénème et à la colistine n'a été détectée.

Si on compare ces résultats à ceux de 2015, on remarque que la résistance à la ciprofloxacine est beaucoup moins élevée en 2015 que en 2016. En 2016, on remarque aussi une augmentation assez importante de la résistance aux quinolones. Une étude des profils de résistance nous a permis de détecter la co-résistance aux quinolones dans 68.42% des isolats en 2016 par rapport aux 27% en 2015. Il se peut qu'un clone particulier ait prédominé en 2016, qui portait dans son matériel génétique les gènes de résistance aux quinolones. Cette hypothèse devrait se confirmer par des analyses moléculaires ultérieures.

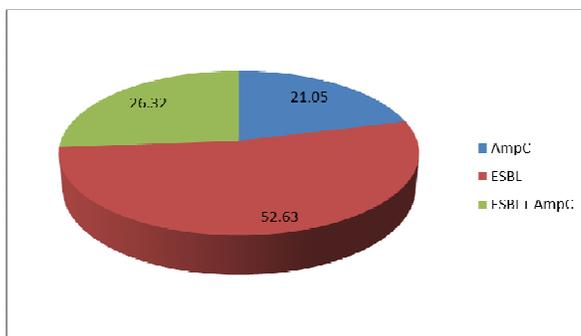


Figure 13. Représentation des phénotypes (%) chez *E. coli* isolées de la viande de boeuf (n=19).

Les résultats montrent une prédominance de *E. coli* productrices de β -lactamase du type BLSE (52.63%), suivi par les β -lactamases du type AmpC (26.32%).

3.3.1.2 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les préparations de viande de porc

Les 42 isolats isolés sur McConkey+céfotaxime 1mg/L ont été testés pour leur sensibilité aux antimicrobiens selon la méthode décrite dans la décision européenne 2013/652/UE. Les résultats sont illustrés dans les figures 14 et 15.

La figure 16 montre la caractérisation et la classification précises d'isolats testés selon le phénotype du type BLSE, AmpC, combiné ou « autres phénotypes », selon les recommandations de l'EFSA et EURL-AR 2016.

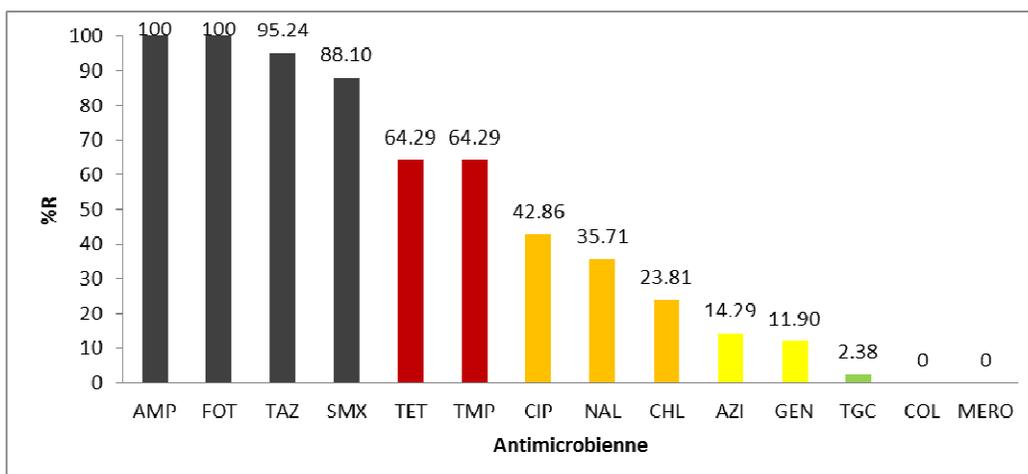


Figure 14. Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de porc (n=42).

Pour les *E. coli* BLSE, une résistance au sulfaméthoxazole extrêmement élevée est détectée, suivie d'une résistance très élevée pour la tétracycline et le triméthoprim, et d'une résistance élevée pour les quinolones et le chloramphénicol. La résistance à l'azithromycine et à la gentamicine est modérée. La résistance à la tigécycline reste basse. Aucune résistance au méropénème et à la colistine n'est détectée.

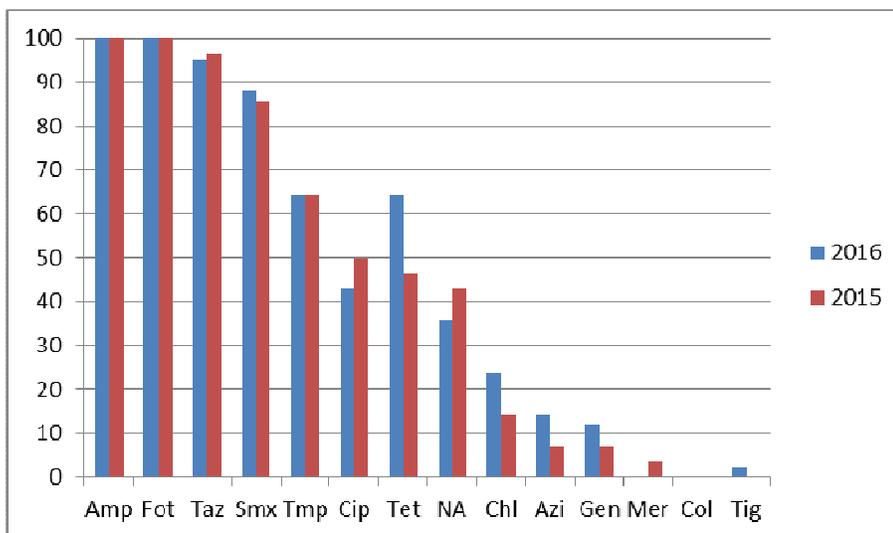


Figure 15. Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de préparations de viande de porc en 2015-2016.

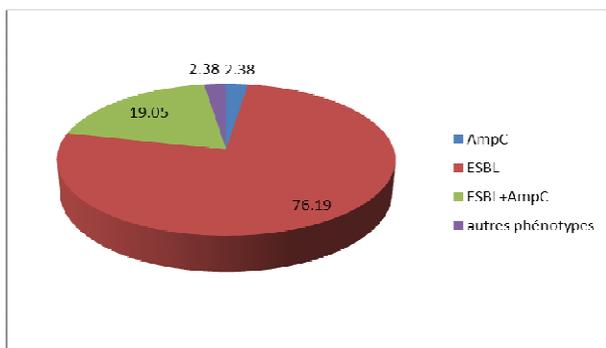


Figure 16. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de porc (n=42).

3.3.1.3 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les préparations de viande de volaille

Sur les 194 isolats isolés sur McConkey+céfotaxime 1mg/L, 188 ont été testés pour déterminer leur résistance aux antimicrobiens. Le taux de résistance est illustré dans la figure 17 et une comparaison a été effectuée avec les valeurs obtenues en 2015 (Figure 18).

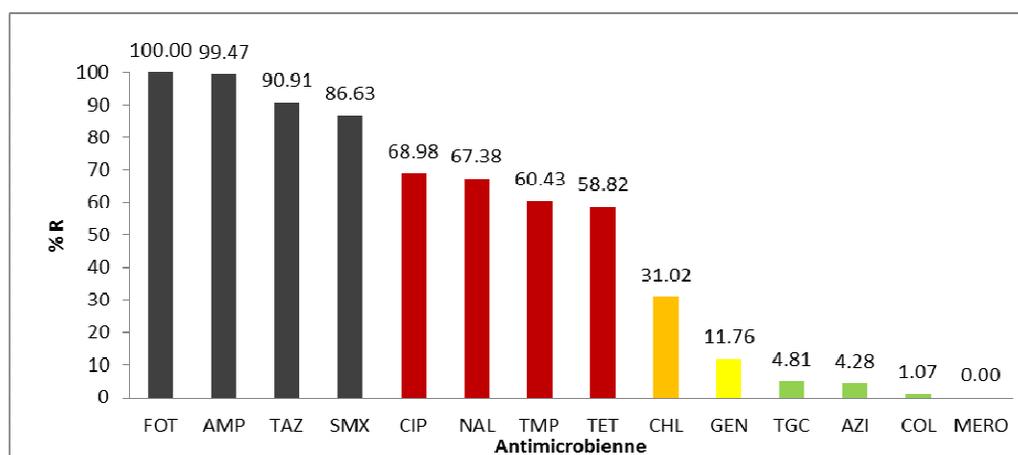


Figure 17 . Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de volaille (n=188)

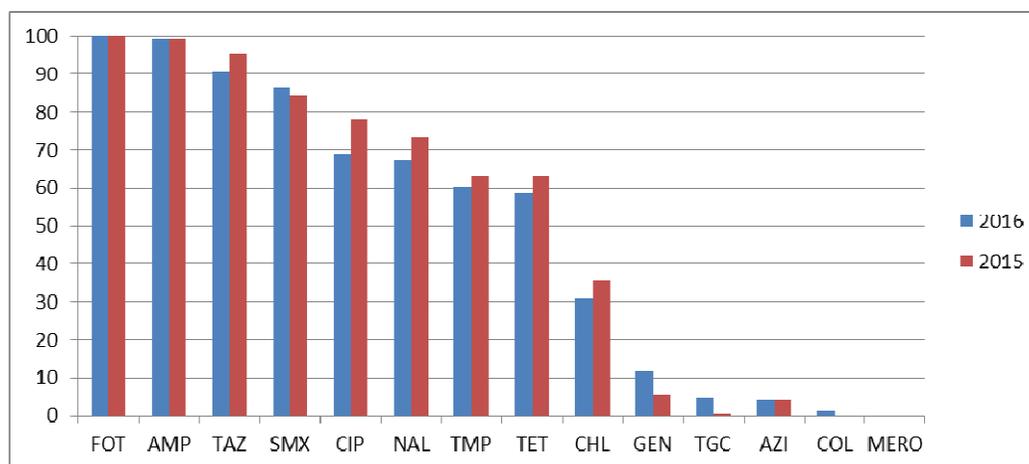


Figure 18 . Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de volaille (n=188) en 2015-2016.

Pour les *E. coli* BLSE, une résistance extrêmement élevée est détectée pour le sulfaméthoxazole, très élevée pour les quinolones, le triméthoprim et la tétracycline, suivie d'une résistance élevée au chloramphénicol. La résistance à la gentamicine est modérée suivie d'une résistance basse pour la tigécycline, l'azithromycine et la colistine. Aucune résistance au méropénème n'a été détectée. Malgré le haut niveau de résistance, une légère diminution du taux de résistance à la ciprofloxacine, l'acide nalidixique, le triméthoprim, la tétracycline et le chloramphénicol semble être détectée en 2016.

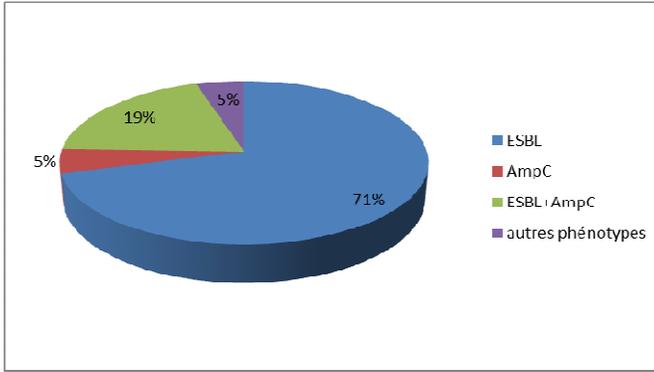


Figure 19. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de volaille (n=188)

Les résultats montrent une prédominance de *E. coli* β -lactamase du type BLSE (71%) chez la volaille (figure 19) comme les années précédentes.

3.3.1.4 Comparaison du taux de résistance d'*E. coli* BLSE isolées de matrices alimentaires

On a comparé le profil de résistance et de multirésistance des souches *E. coli* BLSE indicatrices isolées de viande de volaille, de viande de porc et de préparation de viande de bœuf (filet américain). Les antibiotiques évalués font partie du premier panel d'antimicrobiens. Chaque antibiotique a été considéré indépendamment.

Il faut tenir compte du fait que les *E. coli* BLSE sont d'office résistantes à l'ampicilline et aux céphalosporines de troisième génération (céfotaxime et/ou ceftazidime).

Comme montré dans la figure 20, tous les isolats sont résistants au moins à 3 antibiotiques. Des 188 isolats provenant de la viande de volaille, 129 (68.61%) affichent une co-résistance aux β -lactams (céfotaxime and or ceftazidime) et aux quinolones (ciprofloxacine or acide nalidixique).

Pour le filet américain, 13 des 19 (68.42%) isolats sont co-résistants aux β -lactamines et aux quinolones. En ce qui concerne la viande de porc, des 42 *E. coli* BLSE, 18 (42.85%) isolats affichent une co-résistance aux quinolones.

Aucun isolat de toutes les matrices testées n'a montré une co-résistance aux carbapénèmes.

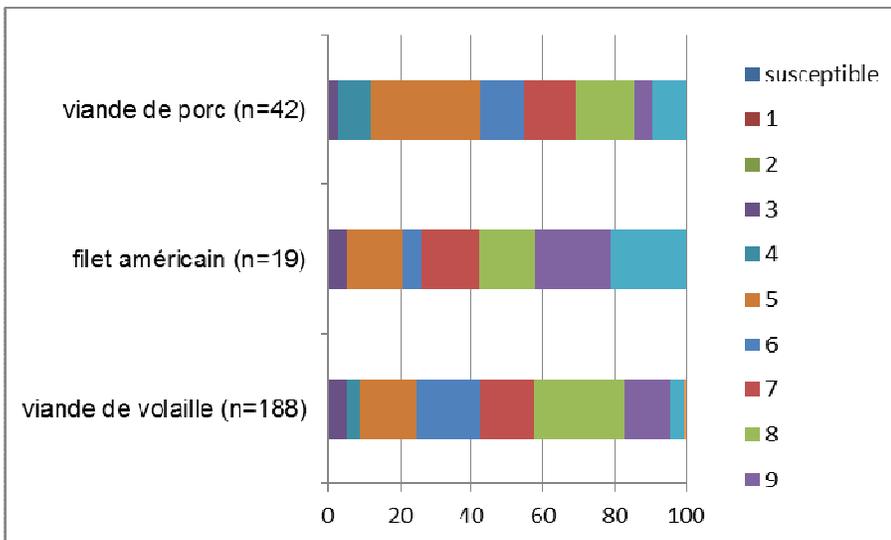


Figure 20. Taux de résistance d'*E. coli* BLSE à 1 ou plusieurs antibiotiques

4 Conclusions

4.1 Campylobacter

En 2016, les taux les plus élevés de résistance aux fluoro(quinolones) (ciprofloxacine et acide nalidixique) et aux tétracyclines ont été observés. Une légère diminution par rapport à l'année précédente a toutefois été remarquée. La résistance à l'érythromycine et à la gentamicine reste basse. Cette tendance est stable depuis 2010.

4.2 Salmonella

En 2016, une augmentation du nombre de *Salmonella* résistantes aux céphalosporines de troisième génération a été détectée. Les *Salmonella* ont été isolées de carcasses de poulet de chair et de carcasses de porc provenant de la production nationale mais aussi d'importation de pays tiers comme pour les cuisses de grenouille provenant du Vietnam. Ce dernier, appartenant au sérovar Saintpaul, présente un profil de résistance à tous les antibiotiques testés sauf au méropénème. Il est important de détecter ce type de profil de résistance afin d'éviter une propagation via un contact avec les humains ou dans la chaîne alimentaire.

La résistance à la colistine a été détectée faiblement (3.5-2.84%) chez les *S. Enteritidis* et la majorité a été isolée de carcasses de volaille provenant des Pays-Bas et de Belgique.

Une analyse de la multi-résistance par sérovar chez les *Salmonella* isolées de carcasses de volaille a montré une grande variabilité par sérovar. Parmi eux, les sérovats Infantis (65% MDR) et Paratyphi B var (L+) tartrate + (60%MDR) ont montré le plus grand niveau de multirésistance. De plus, *S. Infantis* montre un niveau de résistance à la ciprofloxacine extrêmement élevé (94.36%). Par contre, d'autres sérovats comme Enteritidis ou Give montrent un niveau de sensibilité à la plupart des antimicrobiens assez élevé et montrent un niveau de multirésistance moins fréquent.

4.3 E. coli BLSE indicateurs

En 2016, avec la nouvelle méthode de détection d'*E. coli* BLSE décrite dans la décision européenne 2013/652/EU, un nombre plus élevé de *E. coli* BLSE a été détecté par rapport aux années précédentes.

En ce qui concerne les *E. coli* BLSE dans la viande de volaille, 69.53% des échantillons ont été testés positifs pour *E. coli* productrice de BLSE. Des 188 isolats, 54 profils de résistance différents ont été identifiés. Le plus fréquent est le AmpFotTazCipNalSmxTetTmp (10.63%) suivi du AmpFotTazChlCipNalSmxTmp (9.04%). De nombreux autres profils sont aussi présents, mais avec une fréquence plus faible. Chez la viande de volaille, la co-résistance aux céphalosporines de troisième génération avec les quinolones est assez élevée (68%). Au niveau de la classification précise des isolats, 75% d'entre eux montrent un phénotype du type BLSE comme c'était le cas les années précédentes.

En ce qui concerne les *E. coli* BLSE isolés de la viande de porc, 14% des échantillons ont été testés positifs en 2016. Des 42 isolats, 24 profils de résistance différents ont été identifiés. Le plus fréquemment rencontré est AmpFotTazSmxTmp (14.28%) suivi de AmpFotTazSmxTetTmp (9.52%) et de AmpFotTazSmxTet (9.52%). Au niveau de la co-résistance aux quinolones, le niveau détecté est moins élevé que pour la viande de volaille. Le phénotype prédominant est aussi du type BLSE (76%).

En 2016, seulement 19 échantillons (6.33%) de filet américain ont été testés positifs pour la présence de *E. coli* BLSE. Des 19 isolats, 14 profils de résistance différents ont été retrouvés. Une grande variété est détectée, mais la fréquence est basse. Tous les isolats sauf 1 affichent une co-résistance à au moins 5 antibiotiques.

La résistance antimicrobienne chez les *E. coli* commensales, *Campylobacter spp.* et *Salmonella spp.* Isolés des carcasses et de la viande de volaille, de boeuf et de porc. Rapport 2016.

En ce qui concerne la classification, une plus large variété est remarquée chez les isolats provenant du filet américain : 52% affichent un phénotype BLSE contre 25% qui affichent un phénotype AmpC, le plus fréquent parmi les 3 matrices alimentaires.

5 Abréviations

AMP : Ampicilline
AmpC : céphalosporinases du type AmpC
AMR : Résistance antimicrobienne
AZT : Azithromycine
BLSE : bêtalactamases à spectre élargi
CHL : Chloramphénicol
CIP : Ciprofloxacine
CMI : Concentration minimale inhibitrice
COL : Colistine
ESBL: bêtalactamases à spectre élargi
EU-RL :Laboratoire de référence européenne
ERT : Ertapénème
FEP : Céfépime
FOX : Céfoxitin
FOT Céfotaxime
FOT/CI : Cefotaxime+acide clavulanique
GEN :Gentamicine
IMI : Imipénèm
MER : Méropénème
MIC : concentration minimal inhibitrice
NAL : Acide Nalidixique
NRC: Centre National de référence
SMX : Sulfaméthoxazole
TAZ : ceftazidime
TAZ/CL : ceftazidime+acide clavulanique
TEM : Temocilline
TET : Tétracycline
TIG : Tigécycline
TRIM :Triméthoprim

6 Références

Decision 2013/652/EU on the monitoring and reporting of antimicrobial resistance in zoonotic and commensal bacteria. Official Journal of the European Union 14.11.2013

EURL-AR. List of primers for detection of antimicrobial resistance genes. <http://www.crl-ar.eu/201-resources.htm#primer>

European Food Safety Authority; Technical specifications on the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance in *Salmonella*, *Campylobacter* and indicator *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. Bacteria transmitted through food. EFSA Journal 2012; 10(6):2742. [64 pp.] doi:10.2903/j.efsa.2012.2742. Available online:www.efsa.europa.eu/efsajournal

Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes. <http://www.lahey.org/studies/>

7 Remerciements

Ce travail a été financé par le FAVV-AFSCA.

8 List de tableaux

Tableau 1. Panel de substances antimicrobiennes testées et seuil d'interprétation pour *Campylobacter jejuni*

Tableau 2. Panel de substances antimicrobiennes (premier panel) testées et seuils d'interprétation pour *Salmonella spp.*

Tableau 3. Panel de substances antimicrobiennes (deuxième panel EUVSEC2) testées et seuils d'interprétation pour *Salmonella spp.*

Tableau 4. Panel de substances antimicrobiennes testées et seuils d'interprétation pour *E. coli* indicateur

Tableau 5. Panel de substances antimicrobiennes (deuxième panel EUVSEC2) testées et seuils d'interprétation pour *E. coli* indicateur

Tableau 6. Critères de classification des β -lactames selon l'EFSA 2016

Tableau 7. Nombre d'isolats et pourcentage de résistance aux antimicrobiens (n=370)

Tableau 8. *Salmonella spp* productrices de β -lactamases

Tableau 9. Détection d'*E. coli* BLSE dans les matrices d'origine animale

9 Liste de figures

Figure 1. Evolution de la résistance chez *C. jejuni* isolé de la viande de volaille (2010-2016).

Figure 2. Comparaison du taux de résistance chez *C. jejuni* isolé de la viande de volaille en 2014, 2015 et 2016

Figure 3. Pourcentage de sérovars de *Salmonella* isolés dans le programme *Salmonella Food*

Figure 4 Taux de résistance aux antimicrobiens chez *Salmonella spp.* en 2016 (n=227).

Figure 5. Distribution des sérovars de *Salmonella spp.* chez les carcasses de poulet de chair en 2016.

Figure 6. Taux de résistance aux antimicrobiens chez *Salmonella spp.* dans les carcasses de poulet de chair.

Figure 7 : Comparaison du pourcentage de résistance aux antimicrobiens chez *Salmonella spp.* provenant du programme EU-AMR (carcasses de poulet de chair) en 2014 et en 2016.

Figure 8. Taux de résistance à 1 ou plusieurs familles d'antimicrobiens chez *Salmonella spp.*, dans les carcasses de poulet de chair (n=176)

Figure 9. Pourcentage de résistance à une famille (R1) ou plusieurs familles d'antimicrobiens (R2-R6) des sérovars les plus pertinents chez *Salmonella spp.* provenant du programme EU-AMR, dans les carcasses de poulet de chair

Figure 10. Distribution phénotypique des *Salmonella spp.* productrices d'ESBL et AmpC en 2016.

Figure 11 . Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de la viande de bœuf (n=19).

Figure 12 . Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de préparation de viande de bœuf (filet américain) en 2015-2016.

Figure 13. Représentation des phénotypes (%) chez *E. coli* isolées de la viande de bœuf (n=19).

Figure 14. Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de porc (n=42).

Figure 15. Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de préparations de viande de porc en 2015-2016.

Figure 16. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de porc (n=42).

Figure 17 . Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de volaille (n=188)

Figure 18 . Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de volaille (n=188) en 2015-2016.

Figure 19. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées de viande de volaille (n=188)

Figure 20. Taux de résistance d'*E. coli* BLSE à 1 ou plusieurs antibiotiques