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 2017

Rapport 2017

Antimicrobiële resistentie bij commensale *E. coli*, *Campylobacter* spp. en *Salmonella* spp. geïsoleerd uit karkassen,vlees van gevogelte, runds- en varkensvlees in 2017

Verslag 2017

Nationaal Referentielaboratorium antimicrobiële resistentie van kiemen overgedragen door de voeding, levensmiddelenmicrobiologie en tweekleppige weekdieren

Direction scientique Maladies infectieuses humain
Wetenschappelijke directie Infectieziekten mens

Wetenschappelijke dienst voedselpathogenen

Service Scientifique Pathogènes alimentaires | Octobre 2018 | Bruxelles, Belgique
Editeur responsable : Dr Pierre Kerkofs, Directeur général | Rue J. Wytsman 14 | 1050 Bruxelles
N° de référence interne :
N° de dépôt: **D/2018/14.440/47**

Auteurs: C. Garcia-Graells, N. Botteldoorn, M. Polet, K. Dierick

TABLE DE MATIERES

1 INTRODUCTION 5

2 MATÉRIEL ET MÉTHODE 5

2.1 Tests de sensibilité aux agents antimicrobiens 5
2.2 Critères de classification de sensibilité aux antimicrobiens selon l'EFSA 2015 7
2.3 Critères de classification des β-lactames selon l'EFSA 2016 7
2.4 Définition de multi-résistance 8

3 RÉSULTATS 9

3.1 Surveillance antimicrobienne chez les *Campylobacter* 9
3.2 Résistance antimicrobienne chez *Salmonella* spp. 10

3.2.1 Salmonella FOOD 10
3.2.2 Salmonella spp. dans le cadre du programme EU-AMR dans les carcasses de porc 13
3.2.3 *Salmonella* spp. résistantes aux céphalosporines de troisième génération. 16

3.3 *E.* coli productrices de ß-lactamases 17

3.3.1 Détection de *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans des matrices alimentaires d'origine animale. 17
3.3.2 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les préparations de viande de bœuf 18
3.3.3 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les préparations de viande de porc 19
3.3.4 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les préparations de viande de volaille 19
3.3.5 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans le lait cru 21
3.3.6 Surveillance spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans le poisson 22

4 CONCLUSIONS 23

4.1 *Campylobacter jejuni* 23
4.2 *Salmonell*a spp.. 23
4.3 *E. coli* BLSE indicateurs 23

5 ABRÉVIATIONS 24

6 RÉFÉRENCES 24

7 REMERCIEMENTS 24

8 LISTE DE TABLEAUX 24

9 LISTE DES FIGURES 25

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 2017, 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*

Antimicrobien	Abréviation	Seuils d'interprétation de la RAM > (mg / l)
Tétracycline	Tet	1
Acide nalidixique	Nal	16
Ciprofloxacine	Cip	0.5
Erythromycine	Ery	4
Gentamicine	Gen	2
Streptomycine	Str	4

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

Antimicrobien	Abréviation	Seuils d'interprétation de la RAM > (mg / l)
Ampicilline	Amp	8
Céfotaxime	Fot	0.5
Ceftazidime	Taz	2
Méropénème	Mer	0.125
Acide Nalidixique	Nal	16
Ciprofloxacine	Cip	0.064
Tétracycline	Tet	8
Colistine	Col	2
Gentamicine	Gen	2
Triméthoprime	Tmp	2
Sulfaméthoxazole	Smx	256*
Chloramphénicol	Chl	16
Azithromycine	Azi	16*
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 2017.

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

Antimicrobien		ECOFF (R>mg/l)
Céfoxitin	Fox	8
Céfépime	Fep	0.125
Cefotaxime+clavulanic acid	Fot/Cl	0.5*
Ceftazidime+clavulanic acid	Taz/Cl	2*
Méropénème	Mer	0.125
Temocilline	Tem	32*
Imipénèm	Imi	1
Ertapénème	Ert	0.06
Céfotaxtime	Fot	0.5
Ceftazidime	Taz	2

*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 2017.

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

Antimicrobien	Abréviation	Seuils d'interprétation de la RAM > (mg / l)
Ampicilline	Amp	8
Céfotaxime	Fot	0.25
Ceftazidime	Taz	0.5
Méropénème	Mer	0.125
Acide Nalidixique	Nal	16
Ciprofloxacine	Cip	0.064
Tétracycline	Tet	8
Colistine	Col	2
Gentamicine	Gen	2
Triméthoprime	Tmp	2
Sulfaméthoxazole	Smx	256*
Chloramphénicol	Chl	16
Azithromycine	Azi	16*
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 2017.

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

Antimicrobien	Abréviation	ECOFF (R>mg/l)
Céfoxitin	Fox	8
Céfépime	Fep	0.125
Cefotaxime+clavulanic acid	Fot/Cl	0.25*
Ceftazidime+clavulanic acid	Taz/Cl	0.5*
Méropénème	Mer	0.125
Temocilline	Tem	32*
Imipénèm	Imi	1
Ertapénème	Ert	0.06
Céfotaxtime	Fot	0.25
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 2017.

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 B-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	Other phenotypes	Céfotaxime or ceftazidime > 1mg/L (R) Céfoxitine < 8mg/L (S) Pas de Synergie céfotaxime/acide clavulanique ou ceftazidime/acide clavulanique Céfoxitine < 8mg/L (S) Cefotaxime and Ceftazidime ≤ 1mg/L Céfoxitine > 8mg/L (R) Céfotaxime or ceftazidime > 1mg/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 la bactérie *Campylobacter,* exclusivement *Campylobacter jejuni* isolé à partir de la viande de volaille. En 2017, la concentration minimale inhibitrice a été réalisée sur 379 *C. jejuni* identifiés à l'espèce via l'utilisation d'un Maldi-Tof.

L'interprétation des résultats a été effectuée selon les seuils d'interprétation repris dans la publication de 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 la 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 à partir de la viande de volaille de 2014 à 2017.

Tableau 7. *Nombre d'isolats et pourcentage de résistance aux antimicrobiens (n=379)*

Antimicrobiens		cut-off (>)	% (2016)	% (2017)
Ciprofloxacine	CIP	0.5	56.49	61.21
Erythromycine	ERY	4	2.43	0.79
Gentamicine	GEN	2	1.08	0.53
Acide nalidixique	NAL	16	55.68	60.16
Streptomycine	STR	4	2.16	1.32
Tétracycline	TET	1	46.49	51.45

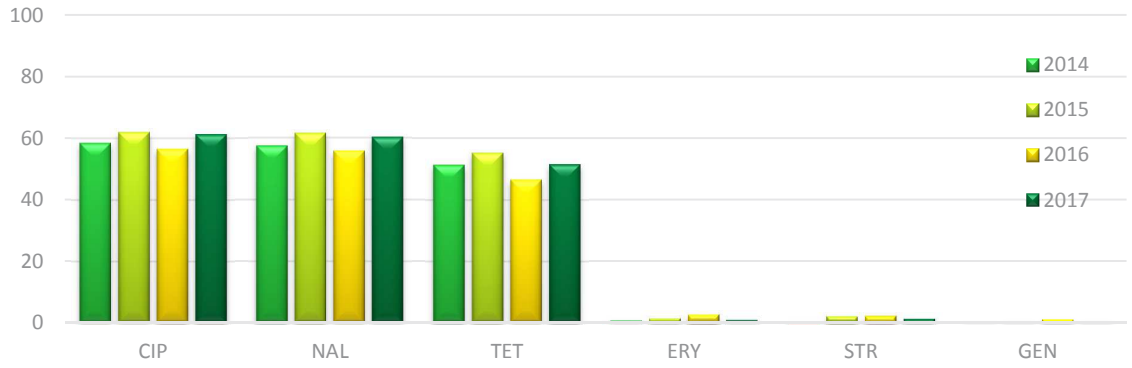

Figure 1. *Evolution de la résistance chez C. jejuni isolé à partir de la viande de volaille (2014-2017).*

Le taux de résistance de *C. jejuni* aux antimicrobiens est similaire à celui observé en 2015. On remarque une légère augmentation d'environ 5% par rapport à 2016 pour la ciprofloxacine, l'acide nalidixique et la tétracycline. 44% des isolats montrent un profil de résistance qui inclut la co-résistance aux fluoroquinolones et à la tétracycline (CipNalTet), en effect, 8 % de plus qu'en 2016. Ce profil prédomine depuis 2010. En 2017, 31.66% des isolats sont sensibles à tous les antibiotiques testés, valeur légèrement moins élevée qu'en 2016 (35.41%).
Il faut également noter une diminution du nombre d'isolats résistants à 3 ou plusieurs familles d'antibiotiques : 0.79% en 2017 par rapport à 2.70% en 2016, 2.08% en 2015 et 0.3% en 2014 (Figure 2). Ceci est dû à la diminution de la résistance à l'érythromycine en 2017 (0.79%) par rapport à 2016 (2.43%).

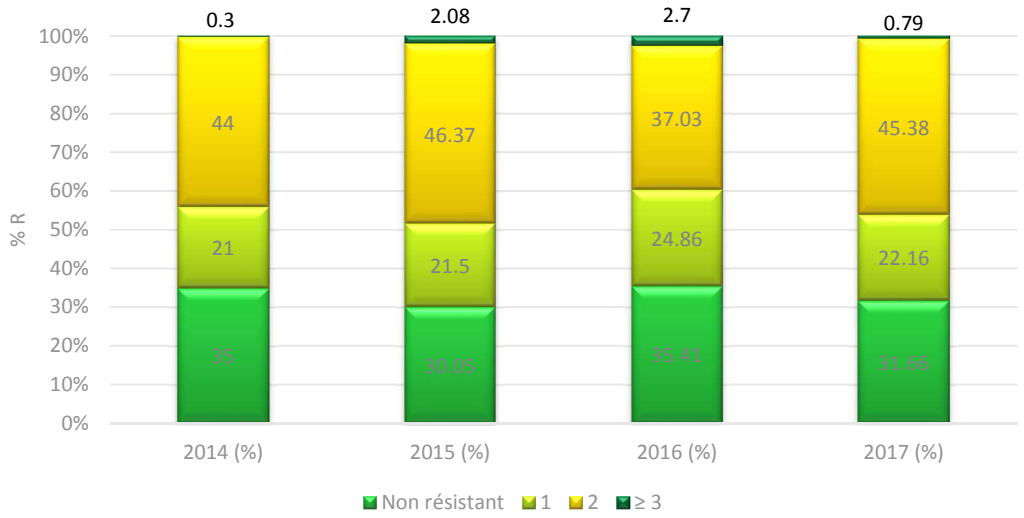

***Figure 2**. Comparaison du taux de résistance chez C. jejuni isolé à partir de la viande de volaille en 2014, 2015, 2016 et 2017*

3.2 RÉSISTANCE ANTIMICROBIENNE CHEZ *SALMONELLA* SPP.

Cette section comprend les analyses du programme Salmonella FOOD et du programme Salmonella EU-AMR qui porte en 2017 sur les carcasses de porc.
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 2017, dans le cadre du programme Salmonella Food, 104 isolats ont été testés pour leur sensibilité aux antimicrobiens. Les matrices prédominantes étaient les carcasses de poules (31.7%), suivies des carcasses de poulet de chair (26.9%), mais une large variété des produits font aussi partie de la surveillance, parmi eux les préparations de viandes (12.5%) et autre.
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 2017 et faisant partie de ce programme sont Infantis (32%) et Enteritidis (13%). Le nombre de *Salmonella* qui ont été soumises à un test de susceptibilité aux antimicrobiens est détaillé par matrice dans le tableau 8.

Les figures 3 et 4 montrent le taux de résistance aux antimicrobiens de toutes les *Salmonella* spp. analysées en 2017 dans le cadre du programme Salmonella Food.

Tableau 8. *Description des matrices à partir desquelles les Salmonelles ont été isolées.*

Matrice	n
Inconnu	1
Préparations de viande - pas specifié	1
Carcasses de poulet de chair	6
Carcasses de poule	33
Carcasses de caprins et ovins	3
Peau du cou de volaille	28
Viande de découpe de volaille avec peau	13
Préparation de viande	2
Produits à base de viande de volaille destinés à être consommés cuits	2
Découpes de viande de porc	2
Préparations de viande destinées à être consommées cuites	1
Viandes séparées mécaniquement	3
Préparations de viande de volaille	5
Viande de poulets de chair (Volailles entières)	3
Fruits et légumes	1

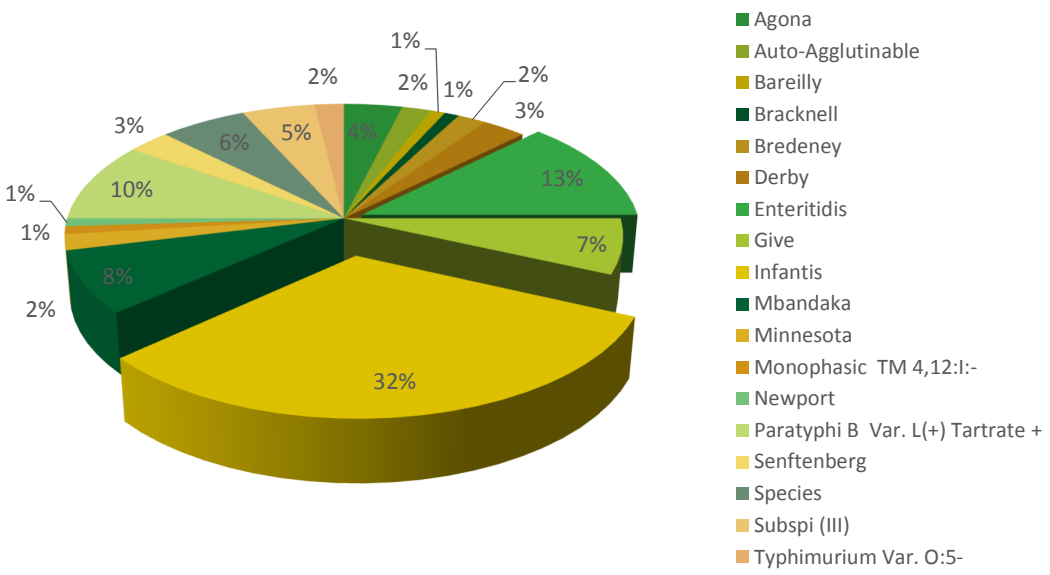

***Figure 3**. Pourcentage de sérovars de Salmonella isolés dans le programme Salmonella Food (n=104)*

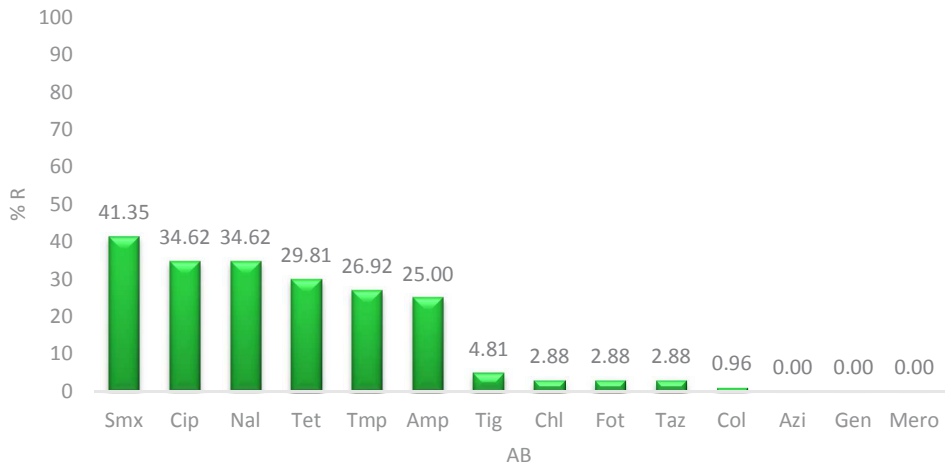

***Figure 4.** Taux de résistance aux antimicrobiens chez Salmonella spp. en 2017 (n=104).*

Environ 49% des isolats sont sensibles à toutes les familles d'antibiotiques testées et 37.50 % montrent un profil multi-résistant.
Le taux de résistance au sulfaméthoxazole est le plus élevé, suivi par le taux de résistance aux fluoroquinolones, à la tétracycline, au triméthoprime et à l'ampicilline. 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 à la ceftazidime (TAZ) est faible. Trois 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 ni au méropénème ni à l'azytromcyine.

3.2.2 SALMONELLA SPP. DANS LE CADRE DU PROGRAMME EU-AMR DANS LES CARCASSES DE PORC

En 2017, 91 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 à partir de carcasses de porc. Parmi ceux-ci, 52 provenaient du programme d'échantillonnage de l'AFSCA et 39 provenaient de l'autocontrôle des opérateurs. La distribution par sérovar est représentée dans la figure 5. Il faut noter une prédominance de la variant monophasic du sérovar Typhimurium (27%) suivi par *S.* Derby (16%) en 2017 par rapport à 2015, où le sérovar prédominant était *S.* Derby (36%) suivi de la variant monophasic du sérovar Typhimurium (17%).

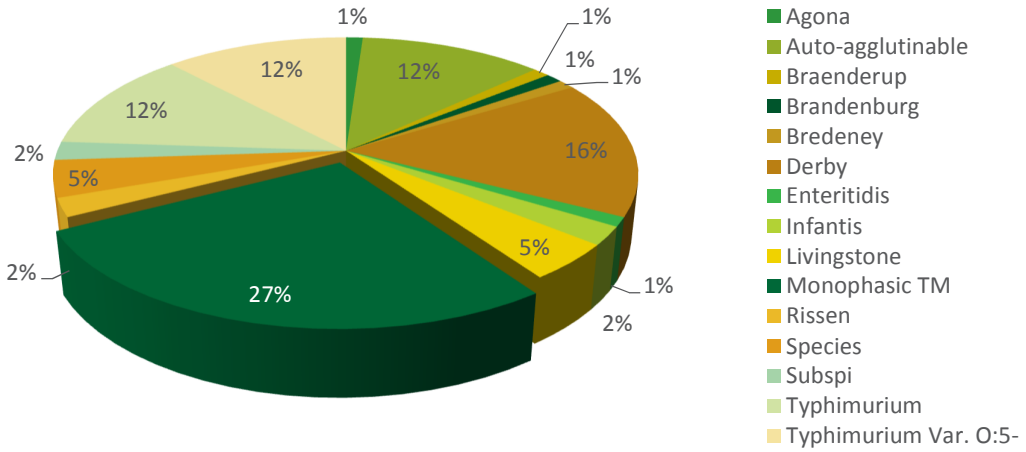

Figure 5. *Distribution des sérovars de Salmonella spp. chez les carcasses de porc en 2017 (n=91).*

Le pourcentage de résistance aux antimicrobiens est représenté dans la figure 6. Le taux de résistance à l'ampicilline, au sulfaméthoxazole et à la tétracycline est le plus élevé. 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 rare et aucun isolat n'a été identifié comme étant résistant ni aux céphalosporines de troisième génération ni au méropénème.

La figure 6 compare les données de 2017 par rapport à celles de 2015. Une augmentation importante du taux de résistance à l'ampicilline, au sulfaméthoxazole, à la tétracycline et au triméthoprime est remarquée. Cette augmentation est probablement due à la prédominance de la variant monophasic du sérovar Typhimurium qui montre une résistance de 100% à l'ampicilline et au sulfaméthoxazole. Par contre, en 2015, le sérovar prédominant était *S.* Derby (36%) avec un profil de résistance plus faible à l'ampicilline, au sulfaméthoxazole, à la tétracycline et au triméthoprime.
La résistance aux fluoroquinolones est faible et la grande majorité des isolats étaient sensibles à cette famille d'antimicrobiens (Ciprofloxacine et acide nalidixique) indépendamment du sérovar.

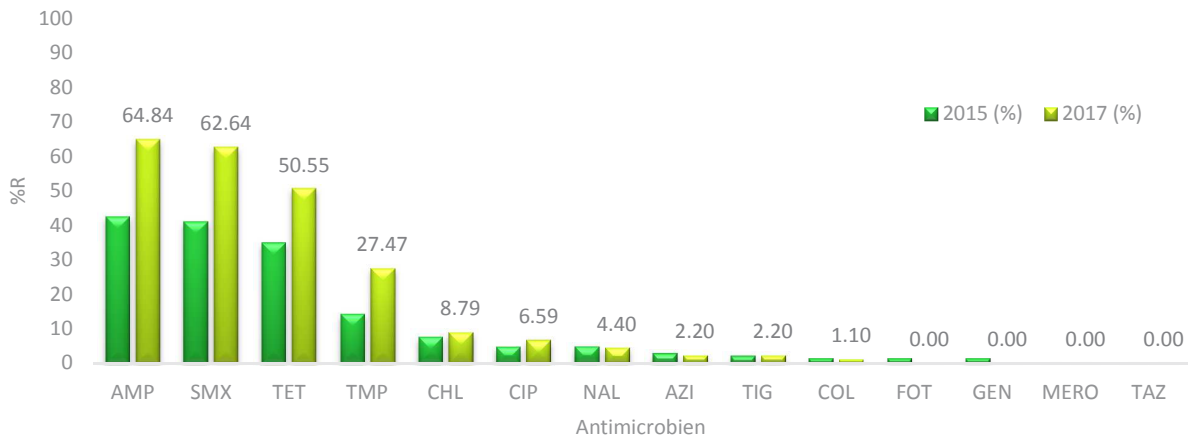

Figure 6 : *Comparaison du pourcentage de résistance aux antimicrobiens chez Salmonella spp. provenant du programme EU-AMR (carcasses de porc) en 2015 et en 2017.*

Dans le tableau 9, le profil de résistance de chaque isolat est détaillé par sérovar ainsi que le taux de multirésistance par sérovar également.
Une analyse du taux de résistance de tous les isolats de *Salmonella* à 1 ou plusieurs familles d'antibiotiques a été réalisée (voir figure 7).
Parmi les 91 isolats, 26.37% sont sensibles à tous les antibiotiques testés et 56.05% sont multi-résistants, c'est-à-dire résistants à 3 ou plusieurs familles.

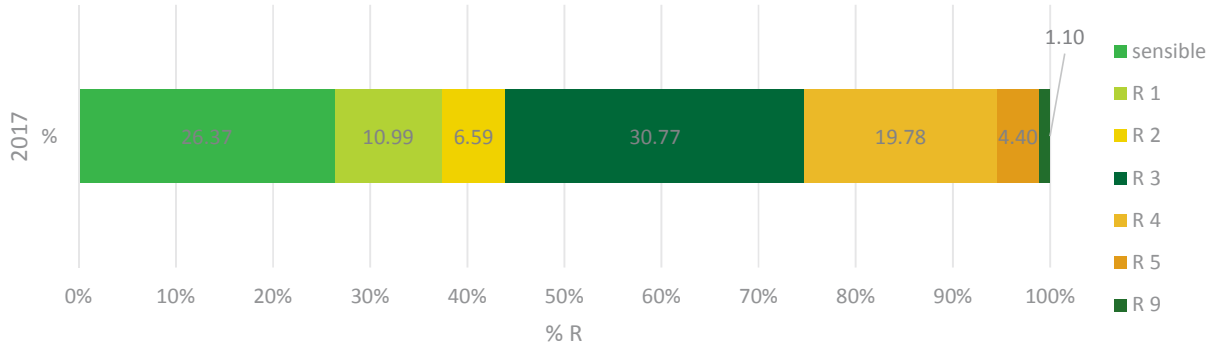

Figure 7*. Taux de résistance à 1 ou plusieurs familles d'antimicrobiens chez Salmonella spp. dans les carcasses de porc (n=91)*

Tableau 9*. Profil de résistance de Salmonella spp. isolée à partir de carcasses de porc.*

Serovar	n	MDR (n)	MDR (%)
Agona (n=1)		0	0
Sensible	1		
Auto-agglutinable (n=11)		6	54.5
Sensible	2		
AmpAziTgc	1		
AmpChlCipSmxTmp	1		
AmpSmx	1		
AmpSmxTet	3		
AmpSmxTetTmp	1		
CipNalTet	1		
Tet	1		
Braenderup (n=1)	**1**	1	100

AmpSmxTetTmp	1		
Brandenburg (n=1)	**1**	1	100
Sensible	1		
Bredeney (n=1)	**1**	1	100
AmpSmxTetTmp	1		
Derby (n=15)		4	26.7
Sensible	8		
AmpChlSmxTetTmp	1		
AmpSmxTetTmp	1		
AmpSmxTmp	1		
Smx	3		
SmxTetTmp	1		
Enteritidis (n=1)			0
Sensible	1		
Infantis (n=2)			0
Sensible	2		
Livingstone (n=4)			
Sensible	4		0
MonophasicTM 1,4,5,12:I:- (n=2)		2	100
AmpChlSmxTet	2		
Monophasic TM 4,12:I:- (n=15)		13	86.7
AmpSmx	2		
AmpSmxTet	9		
AmpSmxTetTmp	3		
AmpSmxTmp	1		
Monophasic TM 4,5,12:I:- (n=8)		8	100
AmpCipNalSmx	1		
AmpCipNalSmxTet	1		
AmpSmxTet	4		
AmpSmxTetTmp	1		
AmpSmxTmp	1		
Rissen (n=2)		0	0
Sensible	1		
SmxTmp	1		
Species (n=3)		3	100
AmpSmxTet	2		
AmpSmxTetTmp	1		
Subspi (n=2)		2	100
AmpSmxTet	1		
AmpSmxTetTmp	1		
Typhimurium (n=11)		3	27
Sensible	4		
Amp	3		
AmpChlSmxTetTmp	1		
AmpSmxTetTmp	2		

Tet	1		
Typhimurium Var. O:5- (n=11)		7	63.6
Amp	2		
AmpChlSmxTet	1		
AmpChlTmp	1		
AmpCipNalSmxTetTmp	1		
AmpColChlCipSmxTetTmpAziTgc	1		
AmpSmx	1		
AmpSmxTet	1		
AmpSmxTetTmp	2		
AmpSmxTmp	1		
Total	**91**		

Le figure 8 montre la résistance des sérovars les plus pertinents. Une analyse de la multirésistance chez les Salmonella isolées de carcasses de porc montre une grande variabilité par sérovar (figure 8). Une multirésistance a été retrouvée chez les variants monophasic du sérovar Typhimurium. Les 8 isolats de la variant antigénique 4,5,12 :I :- montrent un profil multirésistant, et parmix eux, 2 isolats montrent une co-résistance aux antibiotiques critiques tels que la ciprofloxacine et l'acide nalidixique. Il n'existe pas de résistance aux céphalosporines de troisième génération ni de co-résistance aux antibiotiques critiques (ciprofloxacine). Le profil prédominant chez *S.* Monophasic Typhimurium est AmpSmxTet.

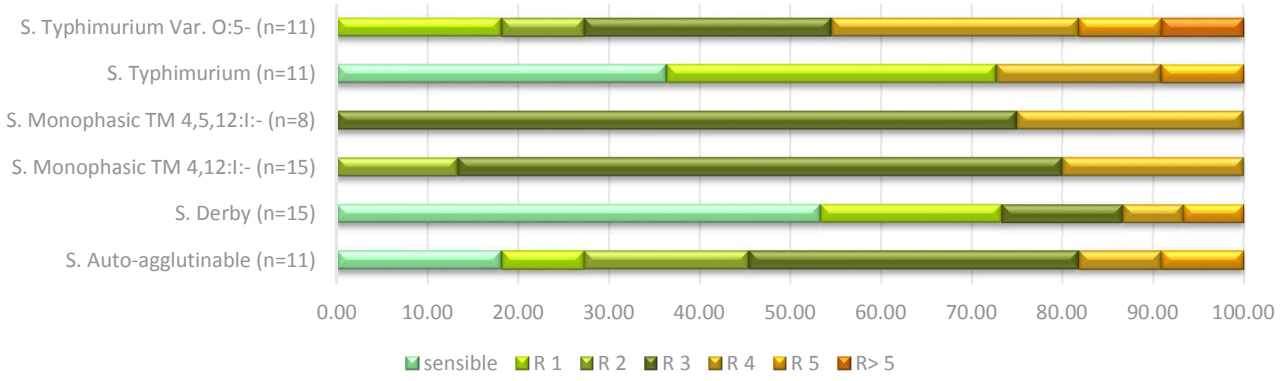

***Figure 8**. Pourcentage de résistance à une famille (R1) ou plusieurs familles d'antimicrobiens (R2 -> R5) des sérovars les plus pertinents chez Salmonella spp. provenant de carcasses de porc.*

3.2.3 *SALMONELLA* SPP. RÉSISTANTES AUX CÉPHALOSPORINES DE TROISIÈME GÉNÉRATION.

En 2017, 3 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 10) montrent les phénotypes associés aux isolats provenant de carcasses de poulet de chair (1/3) mais aussi à ceux retrouvés dans les carcasses de poules (1/3) et dans les préparations de viande (1/3). Le profil de résistance inclut la résistance aux antibiotiques critiques tels que le (fluoro)-quinolones mais aussi aux antibiotiques interdits en usage animal tels que le chloramphénicol. Il se peut que le gène codant la résistance au chloramphénicol peut être trouvé sur des plasmides portant des résistances à d'autres molécules. Des analyses par le séquençage de nouvelle génération (NGS) pourrait clarifier ce fait.

Tableau 10. *Salmonella spp productrices de β-lactamases (n=3)*

Matrice	Sérovar	Phénotype	Profil de résistance
Carcasses de poulet de chair (peau du cou de volaille)	Paratyphi B Var. L(+) Tartrate+	Presumptive ESBL+AmpC	AmpCtxTazCipNalTmp
Carcasses de poules	Paratyphi B Var. L(+) Tartrate+	Presumptive ESBL	AmpCtxTazChlCipNalSmxTetTmp
Préparation de viande - non specifié	Derby	Presumptive ESBL	AmpCtxTazChlCipNalSmxTmp

3.3 *E.* COLI PRODUCTRICES DE ß-LACTAMASES

3.3.1 DÉTECTION DE *E. COLI* PRODUCTRICES DE BLSE, D'AMPC OU DE CARBAPÉNÉMASES DANS DES MATRICES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE.

En 2017, 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, de veau et de bœuf, filet américain (préparation de viande) et produits de pêche. Pour la première fois, la détection d'*E.coli* BLSE dans le lait cru a été inclus dans le programme national de contrôle.
Cette méthode est basée sur la méthode décrite dans la décision européenne 2013/652/EU.
Le milieu utilisé est McConkey contenant de la céfotaxime (CTX, 1mg/L) (Biorad, prêt à l'emploi) pour la détection d'*E. coli* BLSE et d'AmpC et le milieu CarbaSmart (BioMérieux) pour la détection des carbapénémases.
Les résultats de la détection sont illustrés dans le tableau 11.

Tableau 11*. Détection d'E. coli BLSE dans les matrices d'origine animale*

Espèce	Échantillons testés	BLSE+/25g/ml	%
Viande de volaille	448	338	75.45
Viande de bœuf	300	16	5.33
Viande de porc	300	13	4.33
Poisson osseux	93	4	4.30
Crustacés	78	13	16.67
Lait cru	303	62	20.46

De plus, depuis 2014, une surveillance spécifique de tous les isolats présentant une résistance à la céphalosporine de troisième génération et étant considérés comme *E. coli* BLSE présumés est réalisée avec les premier et deuxième panels d'agents antimicrobiens, conformément aux tableaux 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).

3.3.2 SURVEILLANCE SPÉCIFIQUE DES BACTÉRIES *E. COLI* PRODUCTRICES DE BLSE, D'AMPC OU DE CARBAPÉNÉMASES DANS LES PRÉPARATIONS DE VIANDE DE BŒUF

Les 16 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 9 et une comparaison des valeurs obtenues en 2015 et 2016 est représentée dans la figure 10.
La figure 10 montre la caractérisation et la classification précises d'isolats testés selon le phénotype de type BLSE, AmpC, combiné ou « autres phénotypes » en fonction des recommandations existantes de l'EFSA et d'EURL-AR.

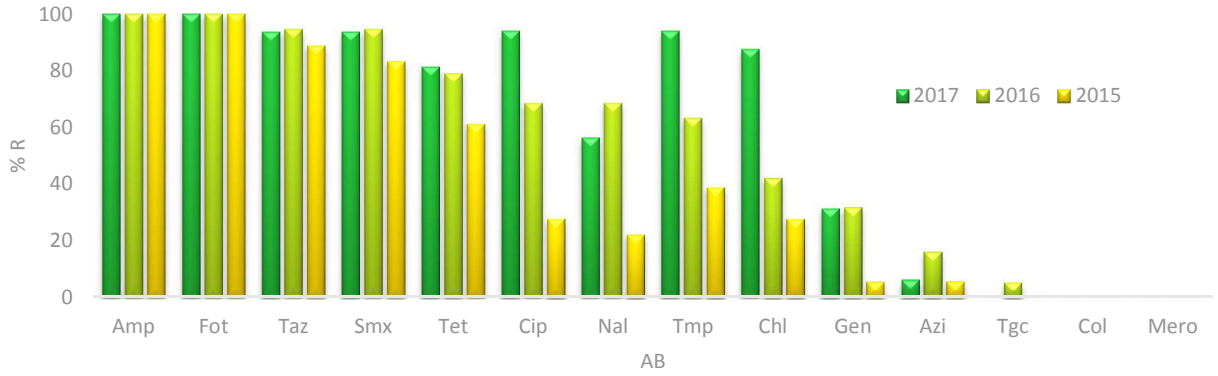

Figure 9. *Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolés à partir de la viande de bœuf (n=16).*

Pour les *E. coli* BLSE, une résistance au sulfaméthoxazole et à la tétracycline extrêmement élevée est maintenue par rapport à 2016. Par contre, une augmentation assez importante de la résistance à la ciprofloxacine, à la triméthoprime et au chloramphénicole a été détectée en 2017. Tous les isolats, sauf un, ont montré une résistance non seulement à l'ampicilline et la céfoxatine mais aussi à la ciprofloxacine. Ceci signfie qu'il y aurait une co-résistance entre ces trois familles d'antibiotiques. Des analyses plus approffondies sont en cours afin de pouvoir clarifier ce profil de co-résistance. La résistance à l'azithromycine est basse et aucune résistance à la tigécycline, à la colistine et au méropénème n'a été détectée. Tous les isolats montrent un profil multirésistant et 8 profils différents ont été retrouvés avec une présence prédominante des profils AmpFotTazChlCipSmxTetTmp (5 sur 16) et AmpFotTazGenChlCipNalSmxTetTmp (4 sur 16).

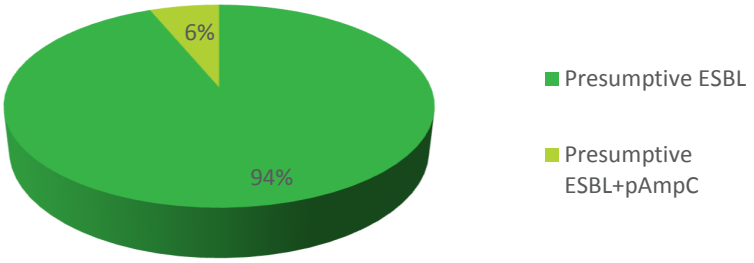

Figure 10. *Représentation des phénotypes (%) chez E. coli isolés à partir de la viande de bœuf (n=16).*

Les résultats montrent une prédominance de *E. coli* productrices de β-lactamase de type BLSE (94%).

3.3.3 SURVEILLANCE SPÉCIFIQUE DES BACTÉRIES *E. COLI* PRODUCTRICES DE BLSE, D'AMPC OU DE CARBAPÉNÉMASES DANS LES PRÉPARATIONS DE VIANDE DE PORC

Les 13 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 11 et 12. La figure 13 montre la caractérisation et la classification précises d'isolats testés selon le phénotype de type BLSE, AmpC, combiné ou « autres phénotypes », en fonction de recommandations existantes de l'EFSA et d'EURL-AR.

La résistance au sulfaméthoxazole reste très élevée mais une diminution est détectée par rapport à 2016, ainsi que pour la tétracycline et l'acide nalidixique. Aucune résistance à la tigécycline, à la colistine et au méropénème n'est détectée. Douze profils de résistance ont été identifiés parmi les isolats : tous montrent un profil multirésistant. Parmi ceux-ci, 5 sur 13 (38.46%) isolats montrent une co-résistance aux céphalosporines et aux fluoroquinolones.

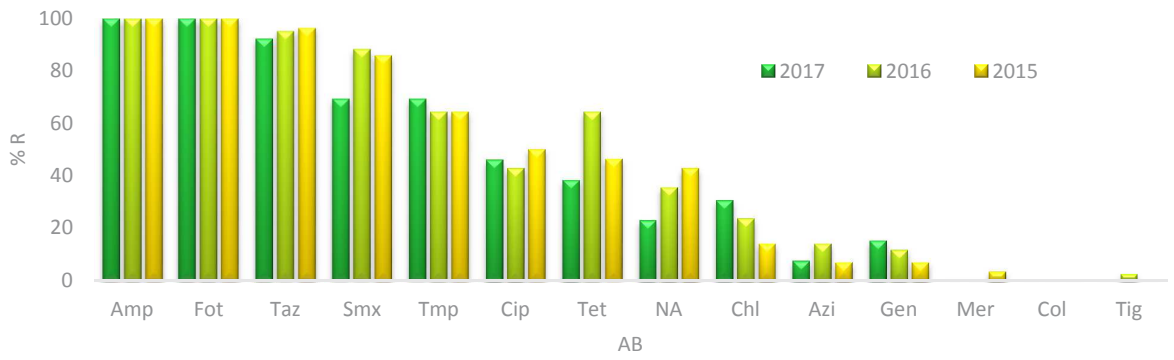

Figure 11. *Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de préparations de viande de porc en 2017, 2016 et 2015.*

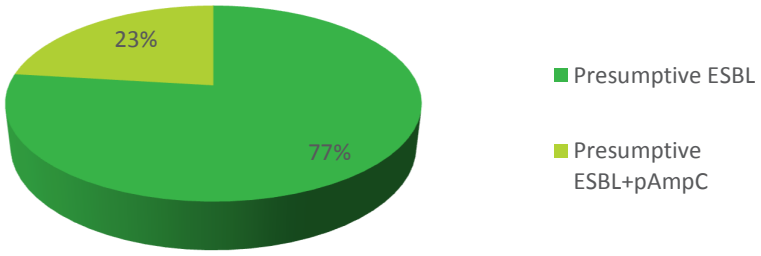

Figure 12. *Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de viande de porc (n=13).*

3.3.4 SURVEILLANCE SPÉCIFIQUE DES BACTÉRIES *E. COLI* PRODUCTRICES DE BLSE, D'AMPC OU DE CARBAPÉNÉMASES DANS LES PRÉPARATIONS DE VIANDE DE VOLAILLE

Sur les 356 isolats isolés sur un milieu spécifique, McConkey+céfotaxime 1mg/L (Tableau 12), 199 ont été testés pour déterminer leur résistance aux antimicrobiens. Une comparaison entre les taux de résistance obtenues en 2017, 2016 et 2015 est illustré dans la figure 13.

Tableau 12. *Détection d'E. coli BLSE dans la viande de volaille*

Prévalence	Echantillons testés	ESBL+	%
Carcasses de poulet de chair	204	160	78.43
Viandes découpées de volaille	126	96	76.19
Volaille entière	91	68	74.73
Viande de découpes de volailles	51	32	62.75
Total	472	356	75.42

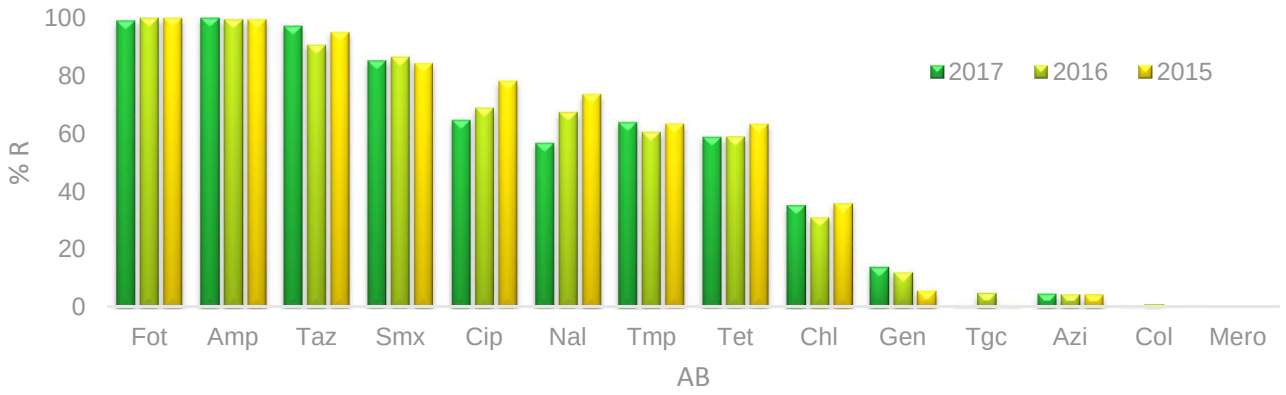

Figure 13. *Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de viande de volaille (n=199) en 2017, 2016 et 2015.*

Pour les *E. coli* BLSE, une résistance extrêmement élevée est détectée pour le sulfaméthoxazole, très élevée pour les quinolones, le triméthoprime 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 aux quinolones, une légère diminution du taux de résistance à la ciprofloxacine et à l'acide nalidixique est détectée en 2017, en concordance avec la diminution observée en 2016.

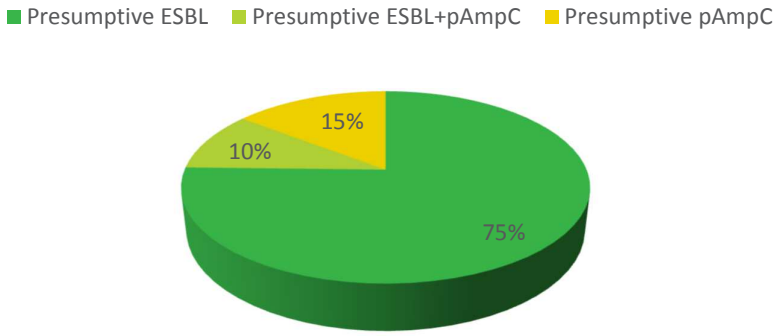

Figure 14. *Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de viande de volaille (n=199)*

Les résultats montrent une prédominance de *E. coli* β-lactamase de type BLSE (75%) chez la volaille (figure 14) comme les années précédentes.

3.3.5 SURVEILLANCE SPÉCIFIQUE DES BACTÉRIES *E. COLI* PRODUCTRICES DE BLSE, D'AMPC OU DE CARBAPÉNÉMASES DANS LE LAIT CRU

Dans le cadre de la recherche spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans le lait cru de vache, une méthode qualitative (détection/non-détection dans 25ml) a été effectuée. Le milieu utilisé est MacConkey contenant de la céfotaxime (CTX, 1 mg/L) prêt à l'emploi (Biorad) pour la détection d'*E. coli* BLSE et AmpC et le milieu CarbaSmart (BioMérieux) pour la détection de carbapénémases.

303 échantillons de lait (25ml) ont été testés pour la détermination d'*E.coli* BLSE et AmpC. Parmi ceux-ci, 62 ont été testés positifs (20.46 %) et aucun isolat n'a été testé positif pour la recherche spécifique des *E.coli* productrices de carbapénémases. La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée pour 58 isolats d'*E.coli* isolées à partir de mileu McConkey+céfotaxime. Dans la figure 15, on remarque une résistance très élevée aux ß-lactamines, au sulfamethoxazole et à la tétracycline, suivi d'une résistance modérée à la triméthoprime, à la ciprofloxacine et au choramphenicol. Aucun isolat n'est résistant à la colistine, au méropénème ou à la tigécycline. Un seul isolat affichait une valeur de concentration minimale inhibitrice pour le méropénème supérieur (0.25mg/l) aux seuil épidémiologique (0.125mg/l) pourtant interpreté en tant que résistante présumé. Ceci n'a pas été confirmé dans le deuxième panel d'antimicrobiens. Pourtant, la souche n'est pas considérée comme étant productrice de carbapénémases. Cette limite est inhérente à la méthode.

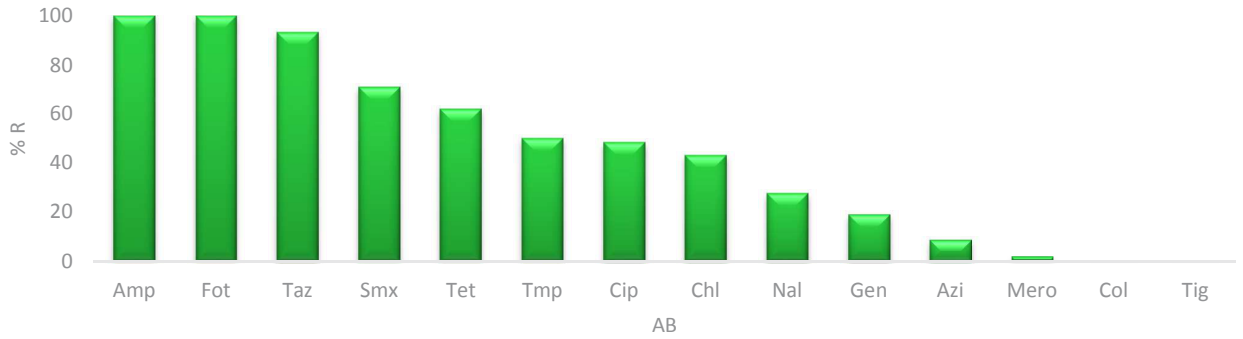

Figure 15. *Pourcentage de résistance (%) au premier panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de lait cru.*

Les isolats ont été testés pour le deuxième panel d'antimicrobiens (Fig 16), 77% ont un phénotype de type BLSE, 9 % un phénotype de type AmpC et 14% un phénotype combiné de type ESBL+AmpC.

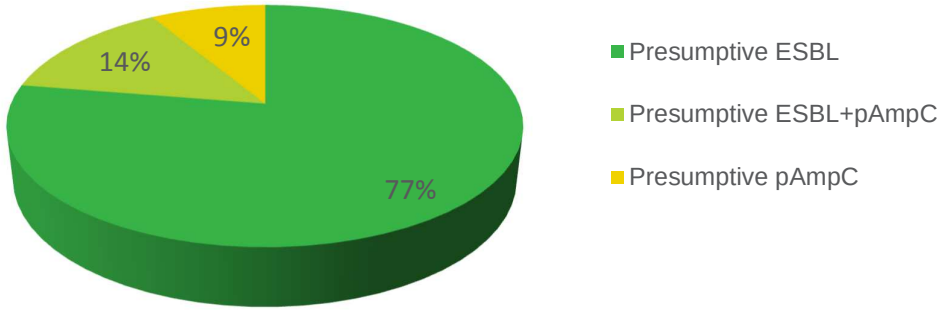

Figure 16. *Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de lait cru.*

3.3.6 SURVEILLANCE SPÉCIFIQUE DES BACTÉRIES *E. COLI* PRODUCTRICES DE BLSE, D'AMPC OU DE CARBAPÉNÉMASES DANS LE POISSON

Dans le cadre de la recherche spécifique des bactéries *E. coli* productrices de BLSE, d'AmpC ou de carbapénémases dans les poissons et crustacés, une méthode qualitative (détection/non-détection dans 25g) a été effectuée. Le milieu utilisé est MacConkey contenant de la céfotaxime (CTX, 1 mg/L) prêt à l'emploi (Biorad) pour la détection d'*E. coli* BLSE et AmpC et le milieu CarbaSmart (BioMérieux) pour la détection de carbapénémases.
En 2017, 171 échantillons ont été testés. Parmi ceux-ci, 93 échantillons provenaient de poissons et 78 des crustacés. Quatre échantillons de poisson d'aquaculture et 13 échantillons de crustacés provenant de pays tiers se sont révélés porteurs d'*E.coli* productrices de BSLE.
La susceptibilité aux antimicrobiens a été réalisée pour 10 isolats. Les résultats sont illustrés dans la figure 17, on peut réaliser une comparaison avec les profils de résistances trouvés en 2016.

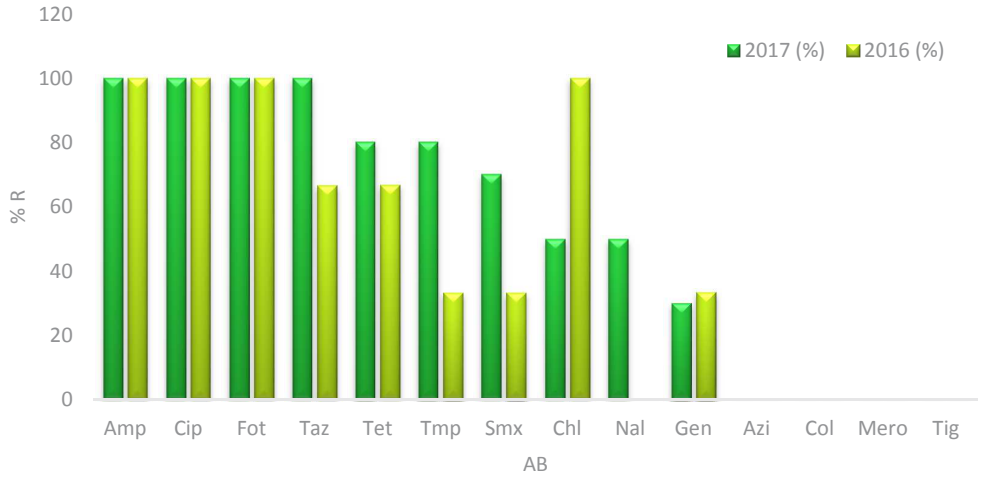

Figure 17. Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de poissons et crustacés (n=10) en 2017, (n=3) en 2016.

Le niveau de résistance des *E.coli* BLSE provenant d'aquaculture est extrêmement élevé pour les fluoroquinolones. Tous les isolats montrent une résistance au moins à l'Ampicilline, Céfotaxime, Ceftazidime et Ciprofloxacine. Par contre, tous les isolats sont sensibles à l'Azithromycine, colistine, tigécycline et méropénème.

4 Conclusions

4.1 CAMPYLOBACTER JEJUNI

En 2017, une légère augmentation de la résistance aux fluoro(quinolones) et à la tétracycline par rapport à l'année précédente a été remarquée. Les taux de résistance présentent des valeurs similaires à ceux obtenus en 2015, c'est-à-dire que 60% des isolats sont co-résistants à cette combinaison d'antibiotiques. La résistance à l'érythromycine et à la gentamicine reste basse. Cette tendance est stable depuis 2010.

4.2 SALMONELLA SPP.

En 2017, les *Salmonella* isolées à partir de carcasses de porc montrent un profil de résistance plus élevé à certains antibiotiques, tels que l'ampicilline, le sulfamethoxazole et la tétracycline, par rapport à 2016. Cette augmentation est probablement due à la variant Monophasic du sérovar *Salmonella* Typhimurium qui représente 27% du total d'isolats analysés pour leur résistance aux antimicrobiens. Tous les isolats, sauf 3, montrent un profil de résistance qui inclut l'ampicilline, le sulfamethoxazole et la tétracycline. Une résistante aux céphalosporines de troisième génération et aux carbapénèmes n'a pas été détectée. Une analyse de la multi-résistance par sérovar chez les *Salmonella* isolées à partir de carcasses de porc a montré une grande variabilité par sérovar. Parmi ceux-ci, les sérovars *S.* Derby, Infantis et Livinstogne étaient sensibles à tous les antibiotiques testés, tandis que les sérovars Typhimurium et sa variant Monophasic Typhimurium montraient un niveau de multirésistance très élevée.

4.3 *E. COLI* BLSE INDICATEURS

En 2017, la détection d'*E.coli* BLSE dans le lait cru a été inclus pour la première fois dans le programme national de surveillance de l'AFSCA. Au total, 20.6% des échantillons ont été testés positifs dans le lait cru, 75.4 % dans la viande de volaille, 5.3 % dans la viande de bœuf, 4.3% dans la viande de porc, 4.3% dans le poisson et 16.6% dans les crustacés. On a observé la présence d'*E.col*i BLSE dans le lait cru. Cette découverte est inquiétante car le lait cru est un produit facilement périssable et de plus en plus consommé au sein de la population. La présence de BLSE augmente le risque de transmission de ces bactéries chez les humains, pendant la manipulation ou bien pendant la consommation. De bonnes pratiques d'hygiène sont essentielles pour réduire la contamination du lait cru tandis que le maintien de la chaîne du froid est également important pour empêcher ou ralentir la croissance de bactéries dans le lait cru.
En ce qui concerne les *E. coli* BLSE isolées à partir de la viande fraîche de porc et de la viande fraîche de bœuf provenant de commerces de détail, leur présence est basse. Par contre, les isolats présentent un niveau de multirésistance très élevé. En particulier, les isolats provenant de la viande de boeuf montrent une résistance très élevée à la ciprofloxacine, au chloramphenicol et à la triméthoprime par rapport à 2016.

5 Abréviations

AmpC : céphalosporinases du type AmpC
AMR : Résistance aux antimicrobiens
BLSE : bêtalactamases à spectre élargi
CMI : Concentration minimale inhibitrice
ESBL: bêtalactamases à spectre élargi
EU-RL-AR : Laboratoire de référence européen pour la resistance aux antimicrobiens

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 Liste 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-lactamases selon l'EFSA 2016
Tableau 7. Nombre d'isolats et pourcentage de résistance aux antimicrobiens (n=379)
Tableau 8. Description des matrices à partir desquelles les Salmonelles ont été isolées.
Tableau 9. Profil de résistance de Salmonella spp. isolée à partir de carcasses de porc.
Tableau 10. Salmonella spp productrices de β-lactamases (n=3)
Tableau 11. Détection d'*E. coli BLSE* dans les matrices d'origine animale
Tableau 12. Détection d'*E. coli* BLSE dans la viande de volaille

9 Liste des figures

Figure 1. Evolution de la résistance chez *C. jejuni* isolé à partir de la viande de volaille (2014-2017).
Figure 2. Comparaison du taux de résistance chez *C. jejuni* isolé à partir de la viande de volaille en 2014, 2015, 2016 et 2017
Figure 3. Pourcentage de sérovars de *Salmonella* isolés dans le programme Salmonella Food (n=104)
Figure 4. Taux de résistance aux antimicrobiens chez Salmonella *spp*. en 2017 (n=104).
Figure 5. Distribution des sérovars de Salmonella spp. chez les carcasses de porc en 2017 (n=91).
Figure 6 : Comparaison du pourcentage de résistance aux antimicrobiens chez Salmonella spp. provenant du programme EU-AMR (carcasses de porc) en 2015 et en 2017.
Figure 7. Taux de résistance à 1 ou plusieurs familles d'antimicrobiens chez Salmonella spp. dans les carcasses de porc (n=91)
Figure 8. Pourcentage de résistance à une famille (R1) ou plusieurs familles d'antimicrobiens (R2 -> R5) des sérovars les plus pertinents chez Salmonella spp. provenant de carcasses de porc.
Figure 9. Pourcentage de résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolés à partir de la viande de bœuf (n=16).
Figure 10. Représentation des phénotypes (%) chez *E. coli* isolés à partir de la viande de bœuf (n=16).
Figure 11. Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez E. coli isolées à partir de préparations de viande de porc en 2017, 2016 et 2015.
Figure 12. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de viande de porc (n=13).
Figure 13. Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de viande de volaille (n=199) en 2017, 2016 et 2015.
Figure 14. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de viande de volaille (n=199)
Figure 15. Pourcentage de résistance (%) au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de lait cru.
Figure 16. Pourcentage de résistance au deuxième panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de lait cru.
Figure 17. Comparaison de la résistance au premier panel d'agents antimicrobiens chez *E. coli* isolées à partir de poissons et crustacés (n=10) en 2017, (n=3) en 2016.