

- 4 JAN 1999

SURVEILLANCE

SURVEILLANCE DE LA SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES SALMONELLES ET SHIGELLES ISOLÉES DANS 77 HÔPITAUX FRANÇAIS

J. BREUIL¹, L. ARMAND-LEFEVRE², I. CASIN^{2,3}, A. DUBLANCHET¹, E. COLLATZ²

Et le Collège de Bactériologie, Virologie et Hygiène des Hôpitaux

Selon l'OMS, on a récemment assisté à une augmentation spectaculaire, en incidence et en gravité, des cas de salmonellose humaine, certains pays ayant vu cette incidence multipliée par 20 en 10 ou 15 ans ; on s'attend maintenant à ce que la fréquence des résistances aux antibiotiques de ces bactéries, qui a déjà augmenté à un rythme alarmant, continue de croître aussi vite sinon plus rapidement à l'avenir [1].

En France, les sources d'informations principales concernant les salmonelloses humaines sont le Centre National de Référence des Salmonelles et Shigelles, et les déclarations obligatoires des infections alimentaires collectives et des causes de décès ; aucune structure n'assure de manière systématique la surveillance de la résistance aux antibiotiques de ces microorganismes. Cette constatation avait déjà conduit le Collège de Bactériologie, Virologie et Hygiène des Hôpitaux (Col BVH), composé de plus de 150 laboratoires de microbiologie répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain, La Martinique, La Réunion et la Guyane, à réaliser une enquête d'envergure nationale sur la résistance des salmonelles en 1994 [2]. La répétition, tous les trois ans, d'une étude comparable permet de disposer des informations nécessaires à l'analyse de l'évolution de la résistance aux antibiotiques des salmonelles et shigelles à un moment où des évolutions défavorables sont redoutées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le protocole proposé comprenait le relevé du nombre de souches de *Salmonella enterica* spp *enterica* et de *Shigella* spp isolées par chaque laboratoire avec leurs phénotypes de résistance aux antibiotiques et l'étude centralisée des souches présentant certains caractères de résistance.

Les identifications bactériennes étaient réalisées selon les méthodes conventionnelles de bactériologie. La détermination des sérovars de *Salmonella enterica* était effectuée par les laboratoires participants dans la majorité des cas, puis confirmée en cas de doute par le C.N.R. ; les souches identifiées incomplètement ont été écartées du décompte final.

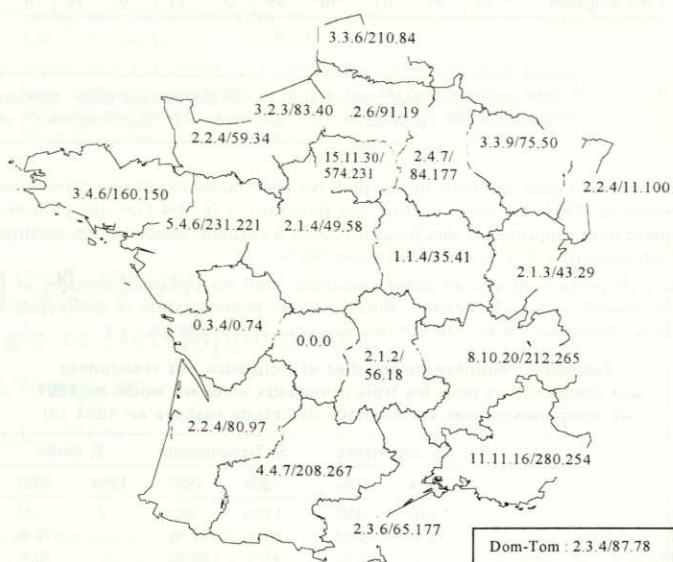
Les laboratoires participants, leur distribution sur le territoire et le nombre des souches envoyées sont indiqués sur la figure 1.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques était réalisée selon la technique habituellement mise en œuvre par chacun des 77 laboratoires participants : diffusion en milieu gélosé ($n = 31$), méthode automatisée ($n = 44$), non précisée ($n = 2$). Les souches étaient rapportées comme sensibles ou résistantes (dont « intermédiaires ») d'après les critères d'interprétation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Il était demandé aux microbiologistes participants d'envoyer les isolats présentant une résistance à une ou plusieurs familles d'antibiotiques (β -lactamines, aminosides, cyclines, quinolones, chloramphénicol et sulfaméthoxazole), sélectionnées pour leur activité théorique sur les salmonelles, dans le but de corrélérer les résistances détectées épidémiologiquement à leur support génétique. Ce travail a comporté l'identification des gènes de résistance aux β -lactamines du sérotype *Typhimurium* à l'aide de sondes ADN préparées par PCR, et la détection d'intégrons typiquement observés au sein de la famille des éléments Tn21 à l'aide d'une sonde *intl* (cf. 3), dans le but de mieux caractériser les vecteurs de dissémination des gènes précédemment mis en évidence.

1. Collège de Bactériologie, Virologie et Hygiène des Hôpitaux et CHI, 40, allée de la Source, 94190 Villeneuve Saint-Georges Cedex.
2. Laboratoire de Recherche Moléculaire sur les Antibiotiques (LRMA), 15, rue de l'École de Médecine, 75270 Paris Cedex 06.
3. Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis, 1 avenue Claude-Vellefaux, 75010 Paris.

Figure 1 - Répartition des laboratoires participants et nombre des souches envoyées.



Les chiffres donnés par région correspondent à :

Nombre des laboratoires ayant participé à l'enquête en 1994, idem en 1997.

Nombre de laboratoire faisant partie du Col BVH (septembre 1998)/Nombre de souches envoyées en 1994, idem en 1997

RÉSULTATS

Souches et sérovars.

Dans la présente enquête, 2 464 souches ont été répertoriées. La distribution en sérovars ou espèces des souches analysées ($n = 2 231$) est montrée dans le tableau I. Il convient d'ajouter 220 salmonelles de sérovars très minoritaires ou non déterminés, et 13 shigelles. Les salmonelles isolées appartenaient majoritairement aux sérovars *Typhimurium* ($n = 992$) et *Enteritidis* ($n = 880$), suivis par le sérovar *Hadar* ($n = 141$). Les shigelles se répartissaient en *S. sonnei* ($n = 46$), *S. flexneri* ($n = 32$) et *S. boydii* ($n = 3$).

Sensibilité aux antibiotiques

Le nombre des souches de salmonelles et shigelles sensibles et résistantes aux antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique est rapporté dans le tableau 1. La fréquence des résistances aux antibiotiques pour les trois principaux sérovars de salmonelles isolés en 1997, en comparaison avec les données de 1994, est rapportée dans le tableau 2.

Il n'a pas été relevé de différences des taux de résistance selon la technique d'antibiogramme mise en œuvre. L'importance épidémiologique du phénomène de la résistance aux antibiotiques concerne aujourd'hui, comme en 1994, le sérovar *Typhimurium*, la multirésistance apparaissant la plus fréquente, avec 82 % de quintuple résistance (ampicilline – streptomycine – sulfamides – tétracycline – chloramphénicol).

Tableau 1 - Nombre de souches de salmonelles et shigelles sensibles et résistantes Col BVH, 77 hôpitaux.

Nb isolats	B-lactamines						Aminosides				Cyclines		Quinolones						Divers						
	AM		AMC		BLSE		GN		AN		TE		NA		PEF		OFX		CIP		C		STX		
	R	S	R	S	oui	non	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	
S. Typhimurium	992	664	249	648	332	0	940	18	920	3	860	488	99	27	546	28	751	6	362	0	664	96	75	83	826
S. Enteritidis	800	51	694	40	750	0	748	9	775	1	735	81	400	21	453	8	632	1	292	1	537	7	172	20	727
S. Hadar	141	87	34	94	40	0	132	3	122	3	116	62	11	72	6	75	25	7	40	5	75	0	20	10	123
S. Virchow	44	6	29	4	36	0	37	0	39	0	36	11	13	6	21	3	27	0	13	0	18	3	9	6	32
S. Heidelberg	38	8	28	5	33	0	36	0	36	0	32	6	15	1	27	1	34	0	2	0	18	2	1	8	30
S. Infantis	23	2	19	0	22	0	18	0	23	0	21	4	10	2	15	2	17	0	8	0	16	1	3	3	19
S. Newport	23	6	15	6	16	0	22	0	22	0	21	7	10	3	11	5	15	0	5	0	17	0	3	2	20
S. Typhi	22	3	16	3	19	0	21	0	21	0	20	1	12	0	12	0	20	0	18	0	18	0	2	2	21
S. Panama	19	1	18	1	18	0	19	0	19	0	19	0	3	0	2	0	3	0	16	0	2	0	1	0	19
S. Brandenbourg	15	4	11	2	13	0	15	1	14	0	13	5	3	1	10	0	14	0	5	0	9	1	3	5	10
S. Indiana	12	0	12	0	12	0	12	0	12	0	12	5	4	0	10	0	10	0	9	0	10	0	4	0	11
S. Anatum	8	1	7	0	8	0	8	0	8	0	8	1	7	0	3	0	7	0	5	0	8	0	2	0	8
S. Paratyphi B	8	2	5	2	5	0	7	0	7	0	7	2	3	0	6	0	5	0	3	0	7	0	1	0	7
S. Paratyphi A	4	0	3	0	4	0	4	0	3	0	3	2	0	0	3	0	1	0	3	0	1	0	2	0	4
S. Saintpaul	4	1	1	1	3	0	2	0	4	0	4	00	2	0	3	0	4	0	0	0	2	1	0	2	2
Total Salmonelles	2153	836	1141	806	1311	0	2021	31	2025	7	1907	675	592	133	1128	122	1565	14	781	6	1402	111	298	141	1859
Shigella sonnei	46	5	39	3	43	0	42	0	44	0	40	7	18	0	30	0	40	0	10	0	33	2	9	17	26
Shigella flexneri	32	16	12	16	16	0	29	0	31	0	29	6	9	0	18	0	27	0	6	0	16	4	4	10	20
Total Shigelles	78	21	51	19	59	0	71	0	75	0	69	13	27	0	48	0	67	0	16	0	49	6	13	27	46

Souches R = I + R

AM : amoxicilline, AMC : amoxicilline + acide clavulanique, BLSE : bêta-lactamase à spectre étendu, GN : gentamicine, AN : amikacine, TE : tetracycline, NA : acide nalidixique, PEF : pefloxacine, OFX : ofloxacine, CIP : ciprofloxacine, C : chloramphénicol, STX : triméthoprime + sulfaméthoxazole

Le sérovar *Hadar*, qui avec moins de 8 isolats n'apparaissait pas dans notre relevé de 1994, est devenu, trois ans plus tard, à la fois l'un des plus fréquemment rapportés et des plus résistants à certains antibiotiques, comme l'amoxicilline (72 %) ou la pefloxacine (75 %).

Les shigelles sont encore assez sensibles, sauf au sulfaméthoxazole, et à l'amoxicilline pour *S. flexneri*. Aucune étude phénotypique ni génotypique de la résistance n'a encore été réalisée pour ces bactéries.

Tableau 2 - Nombre de souches et fréquence des résistances aux antibiotiques pour les trois principaux sérovars isolés en 1997, et comparaison avec les données de l'étude réalisée en 1994 [2]

	<i>S. Enteritidis</i>		<i>S. Typhimurium</i>		<i>S. Hadar</i>	
	1994	1997	1994	1997	1994	1997
n	1 016	800	1 093	992	< 8	141
Amoxicilline	5 %	7 %	61 %	73 %	(-)	72 %
AM/acide clavulanique	3 %	5 %	48 %	66 %	(-)	70 %
B-lactamase à spectre étendu	0 %	0 %	0 %	0 %	(-)	0 %
Gentamicine	0 %	1 %	0 %	2 %	(-)	2 %
Amikacine	0 %	0 %	0 %	0 %	(-)	3 %
Tétracycline	17 %	17 %	66 %	83 %	(-)	85 %
Acide nalidixique	2 %	4 %	3 %	5 %	(-)	92 %
Pefloxacine	1 %	1 %	1 %	4 %	(-)	75 %
Ofoxacine	1 %	0 %	0 %	2 %	(-)	15 %
Chloramphénicol	2 %	4 %	37 %	56 %	(-)	0 %
Triméthoprime/ sulfaméthoxazole	2 %	3 %	14 %	9 %	(-)	8 %

Gènes de résistance et intégrons

L'hybridation en dot blot à l'aide de sondes correspondant à des fragments internes des gènes *bla_{CARB/PSE}*, *bla_{OXA}* et *bla_{TEM}* spécifiques des différentes β-lactamases, montre que *bla_{CARB/PSE}* est le gène le plus fréquemment responsable de la résistance aux β-lactamines chez *S. Typhimurium*, sans être seul en cause. Les intégrons retrouvés au sein des éléments de type Tn 21, déjà décrits chez les salmonelles [4], étaient présents dans toutes les souches porteuses des gènes *bla_{CARB/PSE}* et *bla_{OXA-1}* alors que les gènes *bla_{TEM}* n'étaient associés avec celui de l'intégrase que dans 18 % des cas. Les fréquences des différents gènes de résistance aux β-lactamines chez *S. Typhimurium* et leur association avec une structure d'intégron, sont données dans le tableau 3.

Tableau 3 - Association des différents gènes de résistance aux β-lactamines avec celui de l'intégrase (*IntI*), chez *S. Typhimurium*.

Gène(s) de β-Lactamase	IntI/bla
<i>bla_{TEM}</i>	9/49
<i>bla_{CARB/PSE}</i>	237/237
<i>bla_{TEM} + PSE</i>	4/4
<i>bla_{OXA-1}</i>	9/9
<i>bla_{PSE} + OXA-1</i>	1/1

Discussion

La résistance aux antibiotiques demeure rare chez *S. Enteritidis*, avec encore seulement 7 % de souches résistantes à l'amoxicilline. Ce n'est évidemment plus le cas pour *S. Typhimurium*, avec 73 % de souches résistantes à cet antibiotique, et 56 % au chloramphénicol. La comparaison avec les résultats de 1994 montre globalement une stabilité des fréquences de résistance, avec une légère tendance à l'augmentation (tableau 2).

Cent quarante et un cas d'infections à *S. Hadar*, sérovar pathogène prédominant chez les volailles, sont rapportés dans cette enquête. Ce sérovar, dont l'incidence semble variable en France (L. Le Minor le citait parmi les plus fréquents en 1977-1979 [5]), apparaît particulièrement résistant à l'acide nalidixique. E.J. Threlfall notait récemment [6] que la fréquence de la résistance à la ciprofloxacine chez *S. Hadar* avait très fortement augmenté après 1993, année où l'usage vétérinaire de l'enrofloxacine avait été autorisé en Angleterre, jusqu'à atteindre 60 % en 1996. Il paraît particulièrement important de suivre la résistance aux quinolones de ce sérotype, trois dérivés (marbofloxacine, enrofloxacine et danofoxacine) ayant récemment obtenu leur agrément en thérapeutique vétérinaire en France.

On notera que la détection de β-lactamase à spectre étendu reste exceptionnelle (aucune souche de shigelle ; une souche de *Salmonella Ohio* diagnostiquée à l'hôpital du Mans chez une fillette en provenance d'Inde, dont l'étude est en cours).

La caractérisation des gènes de résistance aux β-lactamines et de leur environnement génomique conjuguée à l'étude de marqueurs épidémiologiques phénotypiques et génotypiques a apporté plus d'éléments en faveur de la sélection clonale de souches multirésistantes que d'un éventuel transfert de gènes de résistance à des bactéries préalablement sensibles. L'étude de 1994 avait révélé la présence en France du clone DT104/12 atypique, identifié par lysotypie et RFLP (Casini et al., soumis pour publication) et caractérisé par la présence d'une β-lactamase de type CARB/PSE-1 et d'une résistance multiple touchant 5 antibiotiques (ampicilline, streptomycine, sulfamides, tétracyclines et chloramphénicol) ; ce clone particulier, considéré comme très pathogène par l'OMS [1], semble fortement implanté dans notre environnement.

Conclusion

La surveillance épidémiologique des résistances aux antibiotiques chez les salmonelles, effectuée au niveau national tous les 3 ans par le Col BVH, montre que certains sérovars sont très touchés par ce phénomène qui semble s'être installé de façon stable dans tout le pays. Il est peu probable qu'un usage plus rationnel des antibiotiques, tant en pratique vétérinaire qu'humaine, permette de revenir à un état antérieur de sensibilité aux antibiotiques, au moins en ce qui concerne le sérovar *Typhimurium* où les gènes de résistance semblent très majoritairement intégrés au chromosome. Il est par contre vraisemblable qu'un usage plus prudent des anti infectieux, quelle qu'en soit la justification, concourrait à éviter l'apparition ou la ré-emer-

gence de sérovars résistants à des antibiotiques largement utilisés en thérapeutique humaine, comme cela semble être actuellement le cas pour *S. Hadar* et les quinolones.

Participants : C.H. Avranches-Granville (H. Sep-Hieng) ; C.H. Troyes ; C.H. Perpignan (E. Lecaillon) ; C.H. Carcassonne (A. Bertrou) ; C.H. Nanterre (F. Madre) ; C.H. Bourg-en-Bresse (H. de Montclos) ; C.H. Gap (Ch. Koné et Ph. Delmas) ; C.H.N.O. des 15/20 (Y. Scat) ; C.H.D. La Roche-sur-Yon (M.A. Desailly-Chanson) ; C.H. Hyères (V. Sinhal) ; C.H. Brignoles (C. Payen) ; C.H.G. Charleville-Mézières (J.C. Reveil) ; C.H. Vesoul (P. Chautelat) ; C.H. Fréjus (M. Mora) ; C.H.I. Montfermeil (L. Guet) ; C.H. Dreux ; C.H. Périgueux (R. Sanchez) ; C.H. Laon ; C.H. Cholet (E. Laurens) ; C.H. Salon de Provence (P. Roussetier) ; Lorient (J.-F. Ygout) ; C.H. Gisors ; C.H.I. Poissy (G. Rast) ; C.H. Chalon-sur-Saône (C. Sire-Bidault) ; C.H. Voiron ; C.H. Quimper (F. Geffroy) ; C.H.G. Annonay (F. Delubac) ; C.H. Aurillac (S. Halk et M. Villemain) ; H.I.A. Toulon naval (P. Brisou) ; C.H. Elbeuf ; Lyon (C. Fuhrmann) ; C.H.U. Saint-Étienne ; C.H. Langres (D. Simeon) ; C.H. Arras (M. Marcolin) ; C.H. Saumur (E. Bichier) ; C.H. Saint-Germain-en-Laye (A. Boisivon) ; C.H. Annemasse (M.-F. Marchal) ; C.H. Rodéz (B. Dubourdin) ; C.H. Meulan (M. Leneuveau) ; C.H. Saint-Joseph-Marseille (A. N'guyen-Michel) ; C.H. La Rochelle (H. Biessy) ; C.H. Auch (D. Pierrejean) ; C.H. Saint-Omer (S. Samaille) ; C.H. Le Mans (A. Marmonnier) ; C.H. Cannes (S. Schiavini-Neri) ; C.H. Angoulême (I. Hermès) ; C.H. Antibes (V. Blanc) ; Hôp. L. Bellan-Paris (J. Deregnacourt) ; C.H. Bagnols/ceze (G. Khatib) ; C.H. Bayeux ; C.H. Aubagne ; C.H. Dax (J.P. Lafargue) ; C.H. Boulogne/mer (J.G. Paul) ; C.H. Villefranche/Saône ; C.H. Annecy (S. Blanc) ; C.H. Saint-Jean d'Angely ; C.H. Vannes (P. Pouedras) ; C.H. Meaux ; C.H. Saint-Vallier (A. Bredet-Evers) ; C.H.D. Saint-Denis-Réunion (J.C. Saly) ; C.H. Albi (A. Bailly) ; C.H. Brie/Marne (G. Otterbein) ; C.H.G. Châlons-en-Champagne (V. Doat) ; C.G.H. Wissembourg (J.L. Flipo) ; C.H. Chambéry (J. Tous) ; C.H. Tarbes ; C.H. Corbeil-Essonnes (C. Malbrunot) ; C.H. Val d'Ariège (A. Clarac) ;

C.H. Martigues (M. Bietrix) ; C.H. Saint-Brieux (J. Val (A. LeCoustumier) ; C.H. Bar-le-Duc (E. Collot) ; (P.L. Courrier) ; C.H. Fort-de-France (J. Jouanne. (C. Bouquigny-Saison) ; C.H. Cayenne (B. Moreau) ; C. Georges.

uichâteau
'est-Metz
oissons
Saint-
Georges.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Anonyme. **Salmonella Typhimurium multirésistante. Aide mémoire OMS N 139, janvier 1997.** Disponible sur <http://www.who.ch/inf/am/am139/.html>.
- [2] BREUIL J., BERGER N., DUBLANCHET A., et le Col BVH. **Sensibilité aux antibiotiques de 2 800 souches de salmonelles et shigelles isolées en France en 1994.** Médecine et Maladies Infectieuses 1996 ; 26 : 420-425.
- [3] CASIN I., BRISABOIS A., BERGER N., BREUIL J. et COLLATZ E. **Phénotypes et génotypes de résistance de 182 souches de Salmonella sérotype Typhimurium résistantes à l'ampicilline d'origine humaine et animale.** Médecine et Maladies Infectieuses 1996 ; 26 : 426-430.
- [4] MEDEIROS A.A., HEDGES R.W. et JACOBY G.A. **Spread of a « Pseudomonas specific » β-lactamase to plasmids of enterobacteria.** Journal of Bacteriology 1982, 149 : 700-707.
- [5] LEMINOR L. et LEMINOR S. **Origin and frequency of the serotypes of Salmonella isolated in France and received in the French National Center during the years 1977/1979.** Revue d'Épidémiologie et Santé Publique 1981 ; 29 : 45-55.
- [6] THRELFALL E.J., WARD L.R., SKINNER J.A. et ROWE B. **Increase in multiple antibiotic resistance in nontyphoidal Salmonellas from humans in England and Wales : a comparison of data for 1994 and 1996.** Microbial Drug Resistance 1997 ; 3 : 263-266.

École d'Été – ISPED 99

Santé Publique, Épidémiologie et Développement

Méthodes et Techniques

du 7 juin au 9 juillet 1999

• **Objectifs :** fournir des connaissances actualisées sur les principales méthodes et techniques épidémiologiques appliquées aux pays industrialisés et en développement pour aborder en pratique les grands problèmes de santé.

• **Organisation des formations :** modules de 1/2 journée à une semaine complète enseignés en parallèle pendant cinq semaines.

Public : professionnels de santé ayant si possible une expérience dans les domaines traités ou désirant acquérir une ou plusieurs des techniques proposées.

• **Modalités pratiques :**

Les cours auront lieu à :

ISPED, Université Victor Segalen Bordeaux 2
146, rue Léo Saignat – 33076 Bordeaux Cedex

• **Tarifs :** 200 F par demi-journée et par participant à titre individuel

400 F par demi-journée et par participant à titre institutionnel (formation continue)

Un minimum de 10 participants par module est requis. L'ISPED se réserve le droit d'annuler un module si le nombre de participants n'est pas suffisant.

Ces tarifs comprennent l'inscription administrative et le dossier pédagogique.

Hébergement et repas (les repas de midi peuvent être pris sur place à l'Université) sont à la charge de chaque participant.

• **Inscriptions :**

Pré-inscription avant le : 15 avril 1999

Inscription définitive : 22 avril 1999

Joindre OBLIGATOIREMENT à votre demande de pré-inscription le règlement (pour une inscription individuelle) ou une attestation de prise en charge établie et signée par l'organisme payeur (pour une inscription institutionnelle).

ISPED – Tél. : 33 (0)5 57 57 10 31

Mél : muriel.petitjean@ispd.u-bordeaux2.fr

Télécopie : 33 (0)5 56 24 00 81

Site web : <http://www.isped.u-bordeaux2.fr>

