

# Les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de dernières générations : de l'animal à l'Homme

Jean-Yves Madec (1) (jean-yves.madec@anses.fr), Marisa Haenni (1), Eric Jouy (2), Sophie Granier (3), François-Xavier Weill (4), Simon Le Hello (4)

(1) Anses, Laboratoire de Lyon, France

(2) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, France

(3) Anses, Laboratoire de sécurité des aliments, Maisons-Alfort, France

(4) Institut Pasteur, Unité des bactéries pathogènes entériques, Centre national de référence des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella*, Paris, France.

## Résumé

Cet article a pour but de présenter un état des lieux rapide sur les entérobactéries animales résistantes aux C3G/C4G, et d'en discuter les conséquences pour l'Homme.

## Mots clés

Antibiorésistance, C3G/C4G, entérobactéries, animal

## Abstract

**Enterobacteria resistant to third/fourth generation cephalosporins: from animals to humans**

*This paper aims at presenting a short overview on resistance to third/fourth generation cephalosporins in enterobacteriaceae in animals, and to discuss possible issues for public health.*

## Keywords

**Antimicrobial resistance, third/fourth generation cephalosporins, enterobacteriaceae, animals**

L'expansion de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième et quatrième générations (C3G/C4G) constitue probablement l'un des faits les plus marquants des deux dernières décennies en matière d'antibiorésistance humaine et animale. Cette résistance est principalement assurée par la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) et - dans une moindre mesure en Europe - de céphalosporinases plasmidiques (AmpC). Ces enzymes confèrent une résistance élevée à la plupart des bêta-lactamines thérapeutiques (à l'exception notable des carbapénèmes chez l'Homme), et leurs gènes, principalement localisés sur des plasmides, diffusent très facilement entre bactéries. Ces bactéries s'échangent également entre espèces animales, conduisant au constat d'un réservoir animal commun, malgré la diversité des filières et des systèmes de production. La sélection de ces gènes est sans doute très largement à mettre en regard avec l'usage des C3G/C4G en médecine humaine et vétérinaire, même si leur co-sélection par d'autres antibiotiques (tétracyclines ou sulfamides chez l'animal) est probablement aussi une réalité. Cet article a pour but de présenter un état des lieux rapide sur les entérobactéries animales résistantes aux C3G/C4G, et d'en discuter les conséquences pour l'Homme.

## Une tendance à la hausse au sein du réservoir animal

Chez l'animal, en Europe, la production d'enzymes de type BLSE ou AmpC a été décrite chez la plupart des entérobactéries d'importance clinique (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*,...). Néanmoins, c'est chez *E. coli* que les BLSE ont été le plus fréquemment décrites, et de très loin. En France, les premières souches d'*E. coli* animales productrices de BLSE ont été isolées à partir de 2003 dans les trois principales filières de production (porcs, volaille, bovins) (Meunier *et al.*, 2006). Elles ont été identifiées dans le cadre de l'activité du réseau Résapath, qui assure depuis 1982 la surveillance de l'antibiorésistance chez les bactéries pathogènes des animaux en France (voir l'article consacré au Résapath dans ce numéro). Depuis lors, les taux de prévalence des résistances aux C3G/C4G (ceftiofur et cefquinome) sont en constante augmentation chez cette bactérie. Ils affichent néanmoins des niveaux très variables selon les types de pathologies et les espèces animales, les plus élevés étant retrouvés dans les colibacillooses du jeune (diarrhées néo-natales du veau, par exemple). L'augmentation de ces résistances est également majeure dans la filière poules/poulets, où la proportion de souches résistantes est passée de 7 % en 2008 à 22 % en 2010 (voir le rapport Résapath;

www.resapath.anses.fr). De façon générale, aucune espèce animale n'est épargnée, y compris les animaux de compagnie chez lesquels la céfrovécine (C3G) est la molécule thérapeutique la plus concernée.

En l'état des connaissances, la résistance aux C3G/C4G chez l'animal apparaît plus occasionnelle chez les entérobactéries autres que *E. coli*. Elle a été décrite à plusieurs reprises en France chez *Salmonella*, au cours d'épisodes de toxi-infections alimentaires (voir ci-dessous), mais cette bactérie ne semble pas constituer un réservoir majeur de ces gènes. De façon assez surprenante, alors que le clone de *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium de lysotype DT104 hébergeant l'îlot génomique *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1) a largement diffusé chez les bovins depuis les années 1990, la première souche de ce sérotype productrice de BLSE en France n'a été décrite que très récemment dans cette espèce animale (Madec *et al.*, 2011). Plus globalement, les données cumulées du réseau Résapath et du réseau *Salmonella* confirment cette très faible proportion de souches de *Salmonella* d'origine animale ou environnementale résistantes aux C3G/C4G. Des infections à *K. pneumoniae* productrices de BLSE ont également été rapportées chez des chiens associés à une structure de soin vétérinaire en France (Haenni *et al.*, 2012a).

## Principaux enseignements issus des données moléculaires

A l'image de la situation observée chez l'Homme, l'analyse moléculaire montre, au sein des BLSE, une prédominance des gènes des groupes CTX-M par rapport à ceux des groupes TEM ou SHV. Le gène *bla*<sub>CTX-M-1</sub> est majoritairement identifié dans les souches isolées de toutes les filières animales. Le gène *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, fréquent dans les souches d'origine humaine, est rarement identifié dans celles d'origine animale, à l'exception des souches bovines chez lesquelles il représente, en France (Valat *et al.*, 2012a; Valat *et al.*, 2012b) comme dans d'autres pays où des BLSE bovines ont été caractérisées (Royaume-Uni, par exemple), environ 15 % des gènes du groupe CTX-M-1. Sa description chez des souches de chiens a été aussi rapportée en Allemagne chez *E. coli* et en France chez *K. pneumoniae*.

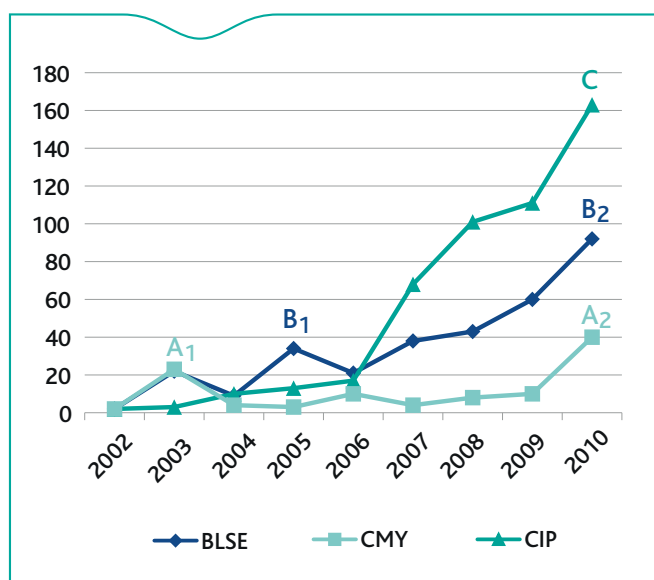
Ces gènes ont essentiellement un support plasmidique, et il est intéressant de constater que certains plasmides BLSE (le plasmide CTX-M-1/Incl1/ST3, par exemple) sont retrouvés chez des bactéries provenant d'individus sans lien épidémiologique et appartenant à une multitude d'espèces animales (chien, chat, vache, cheval, chèvre, poule,...) (Dahmen *et al.*, 2012). De la même façon, alors que le gène *bla*<sub>TEM-52</sub> est très rare chez les bovins, il est quasi-exclusivement retrouvé sur le même plasmide

Incl1/ST36 chez des souches issues de bovins et collectées entre 2006 et 2010 dans des régions françaises très distantes (Haenni *et al.*, 2012b). Le succès apparent de tels plasmides pose la question de leur aptitude à diffuser plus efficacement que d'autres au sein du monde animal, à la faveur de la pression de sélection par les C3G/C4G. Ces résultats pourraient aussi s'expliquer par une prévalence naturellement élevée de certains types et sous-types de plasmides au sein de la population animale de *E. coli* (Incl1/ST3, par exemple), qui pourraient constituer de fait un réservoir d'accueil privilégié de gènes BLSE.

S'agissant de la transmission à l'Homme, les données scientifiques plaident davantage pour l'existence de deux réservoirs bactériens distincts, Homme et animal. Ceci est surtout vrai lorsqu'on considère la bactérie *E. coli*, pour laquelle on observe que les clones producteurs de BLSE chez l'animal sont très largement différents de ceux trouvés chez l'Homme. En particulier, le clone de *E. coli* O25:H4-B2/ST131 est rarement décrit chez l'animal, alors que des plasmides BLSE identiques (tels que ceux porteurs du gène *bla<sub>CTX-M-15</sub>*) ont été décrits chez l'Homme et les bovins (Madec *et al.*, 2012). Ce sont donc davantage les plasmides - plutôt que les populations bactériennes - qui sont retrouvés identiques entre l'Homme et l'animal (Incl1/ST3, par exemple) (Clockaert *et al.*, 2010). La situation est singulièrement différente pour *Salmonella*, qui, lorsqu'elle est à la fois productrice d'une enzyme BLSE et responsable d'infection alimentaire, constitue un exemple de transmission directe de ces gènes entre l'animal et l'Homme. Le chapitre suivant reprend ainsi certains exemples majeurs de salmonelloses humaines liées à des souches résistantes aux C3G/C4G, et dont l'origine animale a été confirmée.

## Exemples d'épidémies humaines à *Salmonella* résistantes aux C3G/C4G d'origine animale en France

La majorité des cas de salmonelloses humaines est associée à la consommation d'aliments d'origine animale contaminés (crus, peu cuits ou recontaminés après cuisson), tels que viandes, œufs et produits laitiers. Avant 1990, les souches de *Salmonella* isolées sur



**Figure 1.** Nombre de souches de *Salmonella* résistantes aux C3G/C4G et/ou à la ciprofloxacine reportées annuellement en France, données CNR 2002-2010

BLSE : souche productrice de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu. CMY : souche productrice de céphalosporinase de type CMY. CIP : souche résistante à haut-niveau à la ciprofloxacine (CMI  $\geq$  4 mg/L).

Des épidémies humaines marquantes d'origine animale sont exposées dans cet article : A1 et A2 : épidémies à *Salmonella* exprimant une enzyme de type CMY, B1 et B2 : épidémies à *Salmonella* exprimant une BLSE, C : épidémies à *Salmonella* ayant un haut niveau de résistance à la ciprofloxacine.

des cas cliniques humains présentaient peu ou pas de résistances aux antibiotiques. La situation a pris un tournant important avec l'épidémie mondiale, d'abord chez l'animal, puis chez l'Homme, causée par *S. enterica* sérotype Typhimurium DT104 penta-résistante aux antibiotiques (Threlfall, 2000). Depuis, les études menées par le Centre national de référence des *Salmonella* (CNR *Salmonella*) montrent une évolution rapide et inquiétante des souches résistantes aux antibiotiques, tant par leur nombre que par leur spectre, en particulier étendu aux C3G/C4G depuis 2002 (Figure 1).

Quelques exemples d'épidémies humaines à *Salmonella* résistante aux C3G/C4G d'origine animale peuvent être rappelés.

**S. enterica Newport chez les chevaux et les bovins (Figure 1, A1) :** depuis 2000, des souches produisant la céphalosporinase plasmidique CMY-2 sont détectées dans ce sérotype. Ces souches sont apparues durant la dernière décennie chez les bovins aux États-Unis, et une analyse rétrospective a permis d'individualiser en 2000 un foyer de cas groupés dans la région parisienne. En 2003, une épidémie liée à la consommation de viande de cheval insuffisamment cuite a été détectée dans le Nord de la France (Egorova *et al.*, 2008). Entre 2005 et 2010, treize nouvelles souches ont été confirmées comme productrices de CMY-2. En 2011, aucune *S. enterica* Newport résistante aux C3G/C4G n'a été isolée.

**S. enterica Virchow productrice de BLSE chez les poulets (Figure 1, B1) :** à partir de 2003, des souches résistantes aux C3G/C4G ont été détectées chez le sérotype Virchow. L'analyse moléculaire des souches isolées entre 2003 et 2005 a permis d'identifier les enzymes CTX-M-2 (prévalence de 2 % en 2003, de 6,5 % en 2004 et de 1 % en 2005), CTX-M-9 (prévalence de 1 % en 2003), TEM-52 (prévalence de 1 % en 2005) et SHV-12 (prévalence de 1 % en 2005). Les souches produisant CTX-M-9 et CTX-M-2 ont été retrouvées, respectivement, chez des poulets en France et en Belgique pendant cette période (Weill *et al.*, 2004; Bertrand *et al.*, 2006). Malgré des mesures sanitaires importantes, des cas sporadiques ont été retrouvés chez l'Homme pour chacune de ces BLSE entre 2007 et 2010. En 2011, aucune souche résistante aux C3G/C4G n'a été isolée.

**S. enterica sérotype Typhimurium produisant simultanément une BLSE (CTX-M-1) et une céphalosporinase plasmidique (CMY-2) (Figure 1, A2, B2) :** en mars/avril 2010, une quarantaine de cas de salmonelloses à *S. enterica* sérotype Typhimurium multirésistante aux antibiotiques, notamment par production des enzymes CTX-M-1 et CMY-2, a été noté par le CNR *Salmonella*. Il a été établi que la souche identifiée dans cette épidémie nationale présentait le même profil d'antibiorésistance et moléculaire (PFGE) que celui identifié par la fiche d'étonnement émise par l'Anses en février 2010 chez des souches isolées de chevaux et de fromages contaminés en Normandie. Le retrait-rappel des lots de fromages incriminés ainsi que la pasteurisation des lots suivants a permis de stopper l'épidémie humaine. Cette souche a également été retrouvée en amont dans une clinique vétérinaire équine et dans différents haras de la région normande, suggérant que le réservoir est possiblement d'origine équine. Toutefois, la transmission aux bovins n'a pas été démontrée lors de l'enquête épidémiologique. Une hypothèse de transmission entre chevaux et bovins est qu'ils aient pu partager les mêmes prés, lieux de convalescence des chevaux après intervention chirurgicale (Granier *et al.*, 2010).

**S. enterica sérotype Kentucky résistante à la ciprofloxacine chez les poulets (Figure 1, C) :** depuis 2002, nous assistons à l'émergence de souches hautement résistantes à la ciprofloxacine (CipR) au sein du sérotype Kentucky lié au clone X1-ST198. La première souche de sérotype Kentucky CipR avait été isolée en décembre 2002 en France chez un touriste français qui avait souffert d'une gastroentérite au cours d'une croisière sur le Nil (Weill *et al.*, 2006). Depuis, un nombre croissant de ces souches a été isolé lors de salmonelloses en lien avec des voyages en Egypte ou en Afrique de l'Est (2000-2005), puis étendues à l'Afrique du Nord (Maroc principalement) et l'Afrique de l'Ouest (2006-2009), au Moyen Orient et au continent indien

(depuis 2010). Une collaboration internationale a révélé l'émergence, à l'échelon européen, de ce clone et la similarité des souches humaines CipR avec des souches aviaires (poulets et dindes), aquacoles (fruits de mer) et environnementales (épices) de pays d'Afrique. Le suivi de ce clone par le CNR *Salmonella* indique que cette souche s'est installée en Europe (élevage de dindes en Pologne). Enfin, des souches CipR d'importation (bassin méditerranéen) présentant une résistance additionnelle aux C3G/C4G (CTX-M-1, CTX-M-15 et CMY-2) et à l'imipénème (carbapénémases VIM-2 et OXA-48) ont été isolées entre 2009 et 2011 au CNR *Salmonella* (Le Hello *et al.*, 2011).

## Conclusion

Les entérobactéries résistantes aux C3G/C4G ont probablement émergé chez l'animal au cours des années 1990, avant d'être de plus en plus régulièrement décrites à partir des années 2000. Elles semblent désormais constituer un réservoir croissant d'enzymes de type BLSE, en particulier chez *E. coli*. Même si les clones de *E. coli* impliqués dans les infections humaines et animales sont principalement différents, plusieurs plasmides BLSE communs ont été décrits, qui semblent avoir un fort succès épidémiologique. Ces plasmides pourraient constituer - plutôt que les bactéries elles-mêmes - le véritable lien entre les deux réservoirs, en diffusant au sein des clones résidants d'un hôte infecté ou colonisé (l'Homme, par exemple) à partir de bactéries transitoires provenant d'un autre hôte (l'animal, par exemple). Il sera important de déterminer à l'avenir si la dissémination des enzymes BLSE repose réellement sur un nombre limité de plasmides ou si ces résultats ne reflètent que notre connaissance encore partielle de la situation moléculaire. En parallèle, la résistance, même occasionnelle, aux C3G/C4G chez *Salmonella* reste un enjeu majeur de santé publique. Ce point est d'autant plus vrai que le traitement des salmonelloses humaines sévères n'est principalement fondé que sur deux antibiotiques (C3G et fluoroquinolones), et un seul chez l'enfant (C3G). Au final, il est clair qu'une diminution de l'usage des C3G/C4G chez l'animal constitue l'un des leviers importants pour réduire la prévalence de ces enzymes chez les entérobactéries animales, à l'image des résultats obtenus au Canada suite au retrait, puis à la ré-introduction partielle, du ceftiofur en filière volaille (Dutil *et al.*, 2010).

## Références bibliographiques

Bertrand, S., Weill, F.-X., Cloeckaert, A., Vrints, M., Mairiaux, E., Praud, K., Dierick, K., Wildemaue, C., Godard, C., Butaye, P., Imberechts, H., Grimont, P.A., Collard, J.M., 2006, Clonal emergence of extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-2)-producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003). *J. Clin. Microbiol.* 44, 2897-2903.

Cloeckaert, A., Praud, K., Lefevre, M., Doublet, B., Pardos, M., Granier, S.A., Brisabois, A., Weill, F.-X., 2010, Inc1 plasmid carrying extended-spectrum- $\beta$ -lactamase gene *bla*<sub>CTX-M-1</sub> in *Salmonella enterica* isolates from poultry and humans in France, 2003 to 2008. *Antimicrob. Agents Chemother* 54, 4484-4486.

Dahmen, D., Haenni, M., Madec, J.Y., 2012, Inc1/ST3 plasmids contribute to the dissemination of the *bla*<sub>CTX-M-1</sub> gene in *Escherichia coli* from several animal species in France. *J. Antimicrob. Chemother* in press.

Dutil, L., Irwin, R., Finley, R., Ng, L.K., Avery, B., Boerlin, P., Bourgault, A.M., Cole, L., Daignault, D., Desruisseau, A., Demczuk, W., Hoang, L., Horsman, G.B., Ismail, J., Jamieson, F., Maki, A., Pacagnella, A., Pillai, D.R., 2010, Ceftiofur resistance in *Salmonella enterica* serovar Heidelberg from chicken meat and humans, Canada. *Emerg Infect Dis* 16, 48-54.

Egorova, S., Timinouni, M., Demartin, M., Granier, S.A., Whichard, J.M., Sangal, V., Fabre, L., Delaune, A., Pardos, M., Millemann, Y., Espie, E., Achtman, M., Grimont, P.A., Weill, F.-X., 2008, Ceftriaxone-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport, France. *Emerg Infect Dis* 14, 954-957.

Granier S.A., Maillard K., Tapprest J. (2010). Détection d'une

contamination par *Salmonella* de sérotype Typhimurium multi-résistante dans les filières bovine et équine en Normandie. *Bulletin épidémiologique*, Afssa, 37: 15.

Haenni, M., Ponsin, C., Métayer, V., Medaille, C., Madec, J.Y., 2012a, Veterinary hospital-acquired infections in pets with a ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* ST15 clone. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 770-771.

Haenni, M., Saras, E., Métayer, V., Doublet, B., Cloeckaert, A., Madec, J.Y., 2012b, Spread of *bla*<sub>TEM-52</sub> gene is mainly ensured by Inc1/ST36 plasmids in *Escherichia coli* isolated from cattle in France. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 2774-2776.

Le Hello, S., Hendriksen, R.S., Doublet, B., Fisher, I., Nielsen, E.M., Whichard, J.M., Bouchrif, B., Fashae, K., Granier, S.A., Jourdan-Da Silva, N., Cloeckaert, A., Threlfall, E.J., Angulo, F.J., Aarestrup, F.M., Wain, J., Weill, F.-X., 2011, International spread of an epidemic population of *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198 resistant to ciprofloxacin. *J. Infect Dis* 204, 675-684.

Madec, J.-Y., Poirel, L., Saras, E., Gourguechon, A., Girlich, D., Nordmann, P., Haenni, M., 2012, Non-ST131 *Escherichia coli* from cattle harbouring human-like *bla*<sub>CTX-M-15</sub>-carrying plasmids. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 578-581.

Madec, J.Y., Doublet, B., Ponsin, C., Cloeckaert, A., Haenni, M., 2011, Extended-spectrum beta-lactamase *bla*<sub>CTX-M-1</sub> gene carried on an Inc1 plasmid in multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 in cattle in France. *J. Antimicrob. Chemother* 66, 942-944.

Meunier, D., Jouy, E., Lazizzera, C., Kobisch, M., Madec, J.Y., 2006, CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int. J. Antimicrob. Agents* 28, 402-407.

Threlfall, E.J., 2000, Epidemic *Salmonella* Typhimurium DT 104- a truly international multiresistant clone. *J. Antimicrob. Chemother* 46, 7-10.

Valat, C., Auvray, F., Forest, K., Métayer, V., Gay, E., Peytavin de Garam, C., Madec, J.-Y., Haenni, M., 2012a, Phylogenetic grouping and virulence potential of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-producing *Escherichia coli* in cattle. *Appl Environ Microbiol* 78(13), 4677-4682.

Valat, C., Haenni, M., Saras, E., Auvray, F., Forest, K., Oswald, E., Madec, J.Y., 2012b, CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase in a shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolate of serotype O111:H8. *Appl Environ Microbiol* 78, 1308-1309.

Weill, F.-X., Lailler, R., Praud, K., Kérouanton, A., Fabre, L., Brisabois, A., Grimont, P.A.D., Cloeckaert, A., 2004, Emergence of extended-spectrum - $\beta$ -lactamase (CTX-M-9)-producing multiresistant strains of *Salmonella enterica* serotype Virchow in poultry and humans in France. *J. Clin. Microbiol* 42, 5767-5773.

Weill, F.-X., Bertrand, S., Guesnier, F., Baucheron, S., Grimont, P.A.D., Cloeckaert, A., 2006, Ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Kentucky in Travelers. *Emerg Infect Dis* 12, 1611-1612.