

Le réseau Résapath de **surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez les animaux** : évolution du réseau et des résistances depuis dix ans

Jean-Yves Madec (1) (jean-yves.madec@anses.fr), Eric Jouy (2), Marisa Haenni (1), Didier Calavas (1), Emilie Gay (1)

(1) Anses, Laboratoire de Lyon, France

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

Résumé

Cet article décrit les évolutions ayant conduit le réseau Résapath (www.resapath.anses.fr) à acquérir aujourd'hui un positionnement central sur les enjeux liés à la résistance aux antibiotiques des principales bactéries pathogènes des animaux. Il présente également les principales tendances épidémiologiques dégagées en matière d'antibiorésistance chez l'animal, y compris au travers de l'expertise moléculaire adossée à la collecte de données.

Mots clés

Antibiorésistance, réseau d'épidémiosurveillance, bactéries animales, évolution

Abstract

RESAPATH, a network for surveillance of antibiotic resistance in pathogenic bacteria in animals in France: evolution of the network and of the resistance since 10 years

This paper reports on the evolution and the current central role of the Resapath network in the surveillance of antimicrobial resistance in diseased animals in France (www.resapath.anses.fr). The main trends in resistance observed in France are discussed as well, together with recent knowledge gathered from molecular data on the collected resistant isolates.

Keywords

Antimicrobial resistance, surveillance network, animal pathogens, evolution

Chez l'Homme comme chez l'animal, l'exposition aux antibiotiques constitue un facteur majeur de sélection de bactéries résistantes. A l'instar de la médecine humaine, le suivi de l'évolution de l'antibiorésistance chez l'animal permet de mieux identifier les familles d'antibiotiques sur lesquelles le prescripteur doit porter une attention particulière dans le cadre de leur utilisation raisonnée. Un tel suivi apporte également une contribution essentielle aux démarches d'analyse de risque (par exemple l'autosaisine Anses en cours sur le sujet (<http://www.anses.fr/ET/PPN8117.htm?pageid=452&newsid=601>) et de mises en place de mesures réglementaires, comme le plan national de réduction des risques d'antibiorésistance chez l'animal « EcoAntibio2017 » (http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Plan_ABR-171111-2_cle0118ea.pdf). L'objectif de cet article est de présenter les évolutions ayant conduit le réseau Résapath à acquérir aujourd'hui un positionnement central sur ces enjeux, ainsi que les principales tendances épidémiologiques dégagées en matière d'antibiorésistance chez l'animal, y compris au travers de l'expertise moléculaire adossée à la collecte de données.

Un renforcement de ses compétences, de son périmètre et de sa gouvernance

Le réseau de surveillance de l'antibiorésistance chez les bactéries pathogènes des animaux (Résapath) a été créé en 1982 sous le nom de Resabo (bo pour bovins). En 2001, il s'est étendu aux filières porcine et avicole, puis à un nombre de plus en plus important d'espèces animales, et notamment en 2007 aux ovins et aux caprins, aux carnivores domestiques, aux équins et aux animaux de parcs zoologiques. Des marges de progrès subsistent encore pour certaines espèces animales, qu'elles soient fortement exposées aux antibiotiques (poissons d'élevage et fluoroquinolones, abeilles et tétracyclines) ou *a priori* plutôt épargnées (faune sauvage, par exemple). Ce réseau, de type événementiel (remontée spontanée par les laboratoires de données issues de la pratique vétérinaire, cf. infra) et basé sur le volontariat de ses participants, est aujourd'hui structuré autour de soixante-trois laboratoires d'analyse et collecte les données d'antibiogrammes de bactéries provenant de quatre-vingt-quatorze départements de France métropolitaine.

Ces dernières sont isolées de prélèvements d'animaux malades soignés par les vétérinaires praticiens dans le cadre de leur activité de clientèle. Sous la gouvernance de l'Anses, le Résapath est co-animé par les laboratoires de Lyon et de Ploufragan-Plouzané et bénéficie de l'expertise de vétérinaires praticiens et de directeurs de laboratoires d'analyses vétérinaires constituant son comité de pilotage. En 2011, plus de 25 000 antibiogrammes individuels non agrégés (données exprimées en diamètres) ont été transmis (voie informatique ou voie papier) et enregistrés à l'Anses (base de données interne), positionnant ce réseau à un rang de couverture proche de celui des plus grands réseaux médicaux français sur ce sujet (rapport Résapath; www.resapath.anses.fr).

Un investissement majeur a été fourni depuis plusieurs années par les équipes de l'Anses Lyon et de l'Anses Ploufragan-Plouzané pour apporter aux laboratoires adhérents la meilleure compétence possible en matière de détection de l'antibiorésistance. Plusieurs dispositifs fiabilisent la qualité des données du Résapath, comme l'organisation annuelle d'Essais inter-laboratoires d'aptitude (EILA), le recueil exhaustif des commémoratifs associés aux souches isolées ou la tenue de journées de formation annuelles au cours desquelles les points méthodologiques pertinents sont abordés en détail (panels d'antibiotiques à tester, identification de phénotypes particuliers, évolution des référentiels...). La cohésion des acteurs et l'évolution de leurs compétences sont également confortées dans le cadre de l'animation d'un site internet, d'une aide technique en ligne ou de l'accueil de personnel dans les laboratoires de l'Anses à des fins de formation technique.

Il est également important de noter la double valence, microbiologique et épidémiologique, de la gouvernance du Résapath. Il s'agit là d'une évolution essentielle depuis 2004, par la complémentarité qu'elle apporte entre une expertise de laboratoire sur les bactéries et leurs mécanismes de résistance, et la mise en perspective des tendances observées et de leur sens à l'échelle des populations. Par ailleurs, la place du Résapath dans les dispositifs de surveillance épidémiologique nationaux et européens de l'antibiorésistance est singulière. Unique en Europe chez l'animal de par son mode de fonctionnement et la quantité de données récoltées, il est également le seul réseau vétérinaire membre de l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (Onerba), qui fédère par

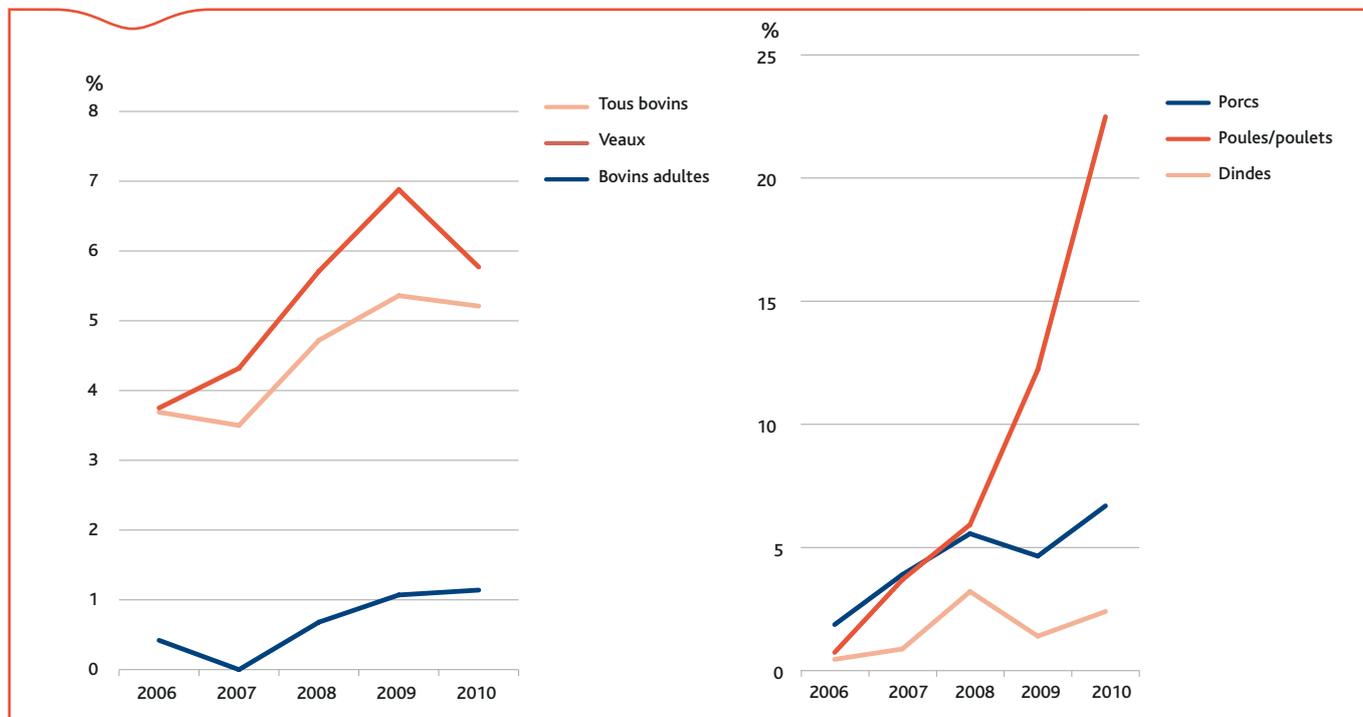


Figure 1. Evolution des proportions de souches d'*E. Coli* non sensibles au ceftiofur dans différentes filières de production en France (rapport Résapath 2010)

ailleurs seize réseaux de surveillance de la résistance bactérienne chez l'Homme, en ville et à l'hôpital. Cette intégration permet la mise en commun permanente des données humaines et animales, et en assure une vision conjointe, particulièrement importante dans un contexte où les efforts pour la réduction des niveaux de résistance doivent nécessairement être couplés.

Enfin, dans le domaine de l'antibiorésistance comme dans d'autres, l'association très étroite de l'activité d'un laboratoire de référence et du fonctionnement d'un réseau de surveillance fournit des connaissances essentielles à une meilleure compréhension des phénomènes, et donc à une analyse de risques plus pertinente. C'est dans cet objectif que sont menés, par les deux équipes de l'Anses citées précédemment, les travaux de caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance et des clones bactériens qui les hébergent. Ce travail est tout particulièrement réalisé sur les grands enjeux en matière d'antibiorésistance en santé publique et animale (bêta-lactamases à spectre étendu chez les entérobactéries ou résistance à la méticilline chez les staphylocoques, par exemple).

Les grandes tendances de l'antibiorésistance chez les bactéries pathogènes des animaux

Le Résapath collecte annuellement plusieurs milliers d'antibiogrammes pour les quatre principaux groupes d'animaux (bovins (7 707), volaille (5 956), chiens (3 801), porcs (2 575), données 2010, rapport Résapath; www.resapath.anses.fr) et plusieurs centaines pour les autres. La bactérie principalement isolée est *Escherichia coli*. Les autres bactéries pathogènes incluent le groupe des pasteurelles (*Pasteurella*, *Mannheimia*...), les staphylocoques et les streptocoques. Résumer les tendances observées au cours des dix dernières années reste évidemment difficile en raison de la multiplicité des données collectées et des variables possibles pour les exploiter, incluant non seulement la diversité des espèces animales, mais également la diversité des types de production pour une espèce animale donnée, et même la diversité des stades de production pour une filière zootechnique donnée. On pourra néanmoins retenir, chez toutes les espèces animales, l'augmentation régulière des niveaux de résistance aux céphalosporines vétérinaires de troisième (C3G) ou de quatrième (C4G) générations (ceftiofur,

cefquinome, céfrovécine) chez l'espèce *Escherichia coli* (Figure 1). Cette augmentation est particulièrement marquante dans la filière poules/poulets, où la proportion de souches résistantes est passée de 7 % en 2008 à 22 % en 2010 (rapport Résapath; www.resapath.anses.fr). La multirésistance de ces souches est aussi préoccupante puisqu'elle soulève la question de leur co-sélection possible par d'anciens antibiotiques, les plus fréquemment prescrits, comme les tétracyclines ou les associations sulfamides/triméthoprime. Ainsi, chez les bovins, les porcs et les poules/poulets, la grande majorité des souches d'*E. coli* résistantes au ceftiofur le sont également à la tétracycline (bovins: 99 %, porcs: 77 %, poules et poulets: 94 %).

À l'inverse de la dynamique observée pour les résistances aux C3G/C4G, d'autres situations sont beaucoup plus stables. Depuis 2006, les niveaux de résistance aux fluoroquinolones, aux sulfamides ou aux tétracyclines chez les souches d'*E. coli* issues de diarrhées néo-natales bovines apparaissent constants, et respectivement de l'ordre de 25-28 % (fluoroquinolones) et de 80-85 % (sulfamides et tétracyclines). En parallèle, le genre *Salmonella*, aujourd'hui rarement responsable d'infections chez les bovins, affiche depuis plusieurs années une tendance nette à la réduction de son niveau de résistance aux antibiotiques, en cohérence avec la fin de l'épisode de dissémination massive du clone penta-résistant de *Salmonella Typhimurium* DT104 au cours des années 1990 (Mulvey *et al.*, 2006).

Les principales bactéries à tropisme respiratoire (*Pasteurella*, *Mannheimia*...) isolées chez différentes espèces animales conservent encore un très haut niveau de sensibilité aux antibiotiques. La description des premières bêta-lactamases hébergées par ces bactéries à la fin des années 1980 pouvait faire craindre une évolution comparable à celle observée aujourd'hui chez *E. coli*. Cette situation n'a pas été constatée. Leur sensibilité au florfenicol est également restée quasi-complète, malgré l'usage important de cette molécule depuis sa mise sur le marché en 1995 pour lutter contre les infections respiratoires, en élevage bovin par exemple. A ce titre, la première (et la seule à ce jour) *Pasteurella* animale française résistante au florfenicol a été décrite en 2006 dans l'espèce *Pasteurella trehalosi* à partir d'une souche isolée d'une infection respiratoire bovine, montrant la faible portée de ce cas (Kehrenberg *et al.*, 2006).

S'agissant des pathogènes à Gram positif majeurs chez l'animal (staphylocoques, streptocoques), la tendance est également très stable.

Chez le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*), la résistance à la méticilline (SARM), indicatrice d'une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines, est exceptionnelle dans les souches infectieuses en élevage en France et – il est intéressant de le souligner – l'un des seuls clones de SARM isolé d'une infection bovine (mammite clinique) s'est révélé être un clone épidémique humain (clone Géraldine) (Haenni *et al.*, 2011b). A l'inverse, la définition récente (2005) de l'espèce *Staphylococcus pseudintermedius*, ainsi que l'augmentation actuelle du nombre de données concernant les carnivores au sein du Résapath, permettra désormais de suivre les tendances de la résistance à la méticilline (de l'ordre de 15 % aujourd'hui) chez ce pathogène fréquent (contrairement à *S. aureus*) du chien.

Plus globalement, analyser ces tendances suppose l'accès à des données temporelles issues d'un dispositif dont les biais, lorsqu'ils existent, peuvent être considérés comme relativement stables dans le temps et l'espace. Assurément, le Résapath comporte certains biais de représentativité globale, en particulier parce que les praticiens ont souvent recours à l'antibiogramme - voire à la culture et à l'isolement bactérien - en situation d'échec thérapeutique, après un ou plusieurs traitements antibiotiques ou en cas de phénomène pathologique important au niveau d'un élevage. Le niveau de résistance des souches analysées ne reflète donc pas strictement celui de la population des bactéries pathogènes animales en général. Néanmoins, l'origine et la nature des données collectées varient très peu d'une année sur l'autre, ce qui permet une analyse de tendances cohérente. Par ailleurs, leur représentativité a pu être évaluée ponctuellement en 2010, par confrontation avec les résultats issus d'une enquête épidémiologique dédiée, et qui visait à mesurer les niveaux d'antibiorésistance des bactéries responsables de mammites en élevage laitier en région Rhône-Alpes (Botrel *et al.*, 2010). En marge des résultats de l'étude, il a été constaté que la surestimation pressentie des proportions de résistance observées par le Résapath, n'était en fait que marginale. D'autres études analogues seraient sans doute utiles pour confirmer cet aspect. Au final, ce réseau constitue une approche pragmatique fiable et pour l'analyse à très large échelle de l'antibiorésistance animale, face aux difficultés méthodologiques et financières qu'il y aurait à acquérir des données de qualité épidémiologique réellement supérieure.

Évolutions moléculaires des résistances : quels enseignements ?

S'agissant de la résistance aux C3G/C4G chez les entérobactéries, ce sont les données moléculaires qui montrent que le principal mécanisme en cause est la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M (Meunier *et al.*, 2006), et que les gènes responsables sont localisés sur des structures génétiques mobiles (plasmides), parfois identiques chez différentes espèces bactériennes (*Salmonella*, *E. coli*) ou chez la même bactérie (*E. coli*) au sein de différentes filières animales (Madec *et al.*, 2008; Madec *et al.*, 2011). A l'inverse, c'est sur le chromosome que se situe le gène *mecA* conférant la résistance à la méticilline chez *S. aureus* ou *S. pseudintermedius* (cassette chromosomique SCC*mec*) (Haenni *et al.*, 2011a; Haenni *et al.*, 2011b). Ces différences de supports génétiques des gènes de résistance (plasmidique ou chromosomique) permettent de fonder des hypothèses également différentes sur des voies privilégiées de diffusion de la résistance chez l'animal (Dahmen *et al.*, 2012; Haenni *et al.*, 2012c; Sakwinska *et al.*, 2011).

L'analyse moléculaire est aussi essentielle dans la compréhension de la multirésistance des bactéries et de sa dynamique d'évolution. En effet, la multirésistance s'explique souvent par le fait que plusieurs gènes de résistance sont portés par le même support génétique, mais les conclusions à tirer en matière de diffusion de la résistance (clonale ou non) sont à nouveau différentes selon que ce support est plasmidique (comme pour la plupart des BLSE) ou chromosomique (élément SCC*mec* chez *S. aureus* ou penta-résistance de *Salmonella Typhimurium* portée par l'ilôt *Salmonella* Genomic Island 1 (SGI1), par exemple).

Les résultats des travaux de caractérisation moléculaire effectués à partir des données du Résapath contribuent aussi de façon majeure au débat sur la transmission de l'antibiorésistance entre l'Homme et l'animal. Les clones sont-ils les mêmes ? Les plasmides sont-ils les mêmes ? Les gènes sont-ils les mêmes ? Autant de questions qu'il faut documenter pour contribuer à la réponse.

Ce sont ces travaux qui ont conduit au constat que les clones de SARM responsables d'infections sévères chez le chien collectées par le Résapath sont très largement des clones communautaires ou hospitaliers humains (Haenni *et al.*, 2012b). Ou à celui que des plasmides BLSE identiques sont retrouvés chez des souches d'*E. coli* différentes de l'Homme et des bovins (Madec *et al.*, 2012). De façon intéressante, un clone de *Klebsiella pneumoniae* producteur de BLSE et responsable d'une infection nosocomiale au sein d'un hôpital vétérinaire s'est avéré hautement similaire, au plan moléculaire, à un clone très connu chez l'Homme (Haenni *et al.*, 2012a). Egalement, les premières souches de SARM bovines hébergeant le nouveau variant *mecC* décrit en 2011 chez l'Homme et les bovins en Europe du Nord, ont été identifiées pendant la même année dans le cadre de la surveillance du Résapath (Laurent *et al.*, 2012).

Par ailleurs, très récemment, des souches d'*E. coli* et de *Salmonella* productrices de carbapénémases (VIM-1) ont été identifiées en portage chez le porc en Allemagne (Fischer *et al.*, 2012), posant la question de la dissémination possible, chez l'animal, de bactéries résistantes à des antibiotiques d'usage strictement hospitalier. La caractérisation moléculaire de carbapénémases chez des entérobactéries animales est, à l'évidence, un enjeu pour l'avenir. Dans l'hypothèse de la détection phénotypique d'une résistance aux carbapénèmes chez l'animal par le réseau Résapath, la caractérisation moléculaire des bactéries correspondantes serait entreprise dans l'objectif de fournir les enseignements nécessaires à l'analyse d'un tel risque.

Conclusion

Les trente années d'existence du réseau Résapath illustrent l'ancrage historique d'un dispositif consolidé au cours du temps, et devenu désormais central à l'heure d'une prise en charge politique forte de la question de l'antibiorésistance animale. Les évolutions de ce réseau résultent d'un travail collaboratif fort de ses acteurs (laboratoires de l'Anses et laboratoires adhérents) dans un souci constant de rigueur méthodologique et scientifique, ainsi que d'entretien d'une dynamique collective. Au cœur de la mesure n° 11 (inciter les laboratoires réalisant des antibiogrammes à utiliser des méthodes validées dédiées à la médecine vétérinaire et à développer des réseaux entre eux) du Plan national de réduction des risques d'antibiorésistance chez l'animal (Plan DGAL), le réseau Résapath sera à l'évidence amené à poursuivre ces évolutions, dans l'objectif de fournir le meilleur état des lieux de l'antibiorésistance chez l'animal, et donc de contribuer le plus efficacement possible aux choix stratégiques futurs en matière d'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire. Il jouera également un rôle fondamental dans la production de nouvelles données moléculaires sur les mécanismes de résistance présents chez les bactéries animales, et qui, par confrontation avec ceux identifiés chez l'Homme, permettront de mieux comprendre la réalité ou l'ampleur du lien animal-Homme sur cette problématique.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement Pierre Châtre, Karine Forest, Véronique Métayer, Cécile Ponsin, Estelle Saras (unité Antibiorésistance et virulence bactériennes, Anses Lyon), Géraldine Cazeau, Nathalie Jarrige, Christelle Philippon, Jean-Luc Vinard (unité Epidémiologie, Anses Lyon), Odile Balan, Isabelle Kempf, Laëtitia Le Devendec (unité Mycoplasmodologie-Bactériologie, Anses Ploufragan-Plouzané), Claire Chauvin (unité Epidémiologie et bien-être du porc, Anses Ploufragan-Plouzané), ainsi que les membres du comité de pilotage et l'ensemble des laboratoires adhérents du Résapath (liste disponible sur www.resapath.anses.fr)

Références bibliographiques

Botrel, M.A., Haenni, M., Morignat, E., Sulpice, P., Madec, J.Y., Calavas, D., 2010, Distribution and antimicrobial resistance of clinical and subclinical mastitis pathogens in dairy cows in Rhone-Alpes, France. *Foodborne Pathog Dis* 7, 479-487.

Dahmen, S., Haenni, M., Madec, J.Y., 2012, Inc11/ST3 plasmids contribute to the dissemination of the *bla*_{CTX-M-1} gene in *Escherichia coli* from several animal species in France. *J. Antimicrob. Chemother.* In press.

Fischer, J., Rodriguez, I., Schmoger, S., Friese, A., Roesler, U., Helmuth, R., Guerra, B., 2012, *Escherichia coli* producing VIM-1 carbapenemase isolated on a pig farm. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 1793-1795.

Haenni, M., Chatre, P., Boisset, S., Carricajo, A., Bes, M., Laurent, F., Madec, J.Y., 2011a, Staphylococcal nasal carriage in calves: multiresistant *Staphylococcus sciuri* and immune evasion cluster (IEC) genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398. *J. Antimicrob. Chemother* 66, 1927-1928.

Haenni, M., Galofaro, L., Ponsin, C., Bes, M., Laurent, F., Madec, J.Y., 2011b, Staphylococcal bovine mastitis in France: enterotoxins, resistance and the human Geraldine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone. *J. Antimicrob. Chemother* 66, 216-218.

Haenni, M., Ponsin, C., Metayer, 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., Chatre, P., Medaille, C., Bes, M., Madec, J.Y., Laurent, F., 2012b, A USA300 variant and other human-related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains infecting cats and dogs in France. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 326-329.

Haenni, M., Saras, E., Métayer, V., Doublet, B., Cloeckaert, A., Madec, J.Y., 2012c, Spread of *bla*_{TEM-52} gene is mainly ensured by Inc11/ST36 plasmids in *Escherichia coli* isolated from cattle in France. *J. Antimicrob. Chemoth.* 67, 2774-2776.

Kehrenberg, C., Meunier, D., Targant, H., Cloeckaert, A., Schwarz, S., Madec, J.-Y., 2006, Plasmid-mediated florfenicol resistance in *Pasteurella trehalosi*. *J. Antimicrob. Chemother* 58, 13-17.

Laurent, F., Chardon, H., Haenni, M., Bes, M., Reverdy, M.E., Madec, J.Y., Lagier, E., Vandenesch, F., Tristan, A., 2012, MRSA harboring *mecA* Variant Gene *mecC*, France. *Emerg Infect Dis* 18, 1465-1467.

Madec, J.Y., Lazizzera, C., Chatre, P., Meunier, D., Martin, S., Lepage, G., Menard, M.F., Lebreton, P., Rambaud, T., 2008, Prevalence of fecal carriage of acquired expanded-spectrum cephalosporin resistance in Enterobacteriaceae strains from cattle in France. *J. Clin. Microbiol.* 46, 1566-1567.

Madec, J.Y., Doublet, B., Ponsin, C., Cloeckaert, A., Haenni, M., 2011, Extended-spectrum beta-lactamase *bla*_{CTX-M-1} gene carried on an Inc11 plasmid in multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 in cattle in France. *J. Antimicrob. Chemother* 66, 942-944.

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*_{CTX-M-15}-carrying plasmids. *J. Antimicrob. Chemother* 67, 578-581.

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.

Mulvey, M.R., Boyd, D.A., Olson, A.B., Doublet, B., Cloeckaert, A., 2006, The genetics of *Salmonella* genomic island 1. *Microbes and Infection* 8, 1915-1922.

Sakwinska, O., Morisset, D., Madec, J.Y., Waldvogel, A., Moreillon, P., Haenni, M., 2011, Link between genotype and antimicrobial resistance in bovine mastitis-related *Staphylococcus aureus* strains, determined by comparing Swiss and Frenand French isolates from the Rhone valley. *Appl Environ Microbiol* 77, 3428-3432.