

# ANTIBIOSENSIBILITÉ ET ANTIBIORÉSISTANCE DES SOUCHES DE ROUGET (*ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIAE*) CHEZ LE PORC

## 1. Méthode de diffusion en gélose. Intérêts et limites

Josée VAISSAIRE, Micheline LAROCHE

Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Centre National d'Etudes Vétérinaires et Alimentaires (C.N.E.V.A.)  
Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, 22, rue Pierre Curie, 94700 MAISONS-ALFORT, FRANCE

126 souches d'*Erysipelothrix rhusiopathiae*, dont 52 d'origine porcine, ont été testées vis-à-vis de 27 antibiotiques différents par la méthode de diffusion en gélose. L'ensemble des souches porcines testées a montré une sensibilité aux Bétalactamines et aux macrolides et une résistance aux aminosides et aux sulfamides. Cependant des résistances semblent apparaître avec les macrolides et les tetracyclines suivant les souches, et demandent à être confirmées par des études de concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.) de ces antibiotiques.

### **Antimicrobial susceptibility of *Erysipelothrix rhusiopathiae* strains of pigs**

#### **1. Methods of diffusion in agar media.**

##### **Interest and limits**

126 stains of *Erysipelothrix rhusiopathiae*, including 52 of porcine origin, have been tested with 27 various antibiotics. The strains were generally susceptible to penicillins, cefalotine macrolides (Erythromycin, Oleandomycin, Clindamycin, Virginiamycin) and moderatly susceptible to tetracyclins and chloramphenicol. Aminosides and sulfamids showed no activity against the isolates. Some strains were resistant to macrolides and tetracyclins and it is necessary to confirm with standard methods of minimal inhibitory concentrations of these antibiotics.

## INTRODUCTION

*Erysipelothrix rhusiopathiae*, agent du Rouget, est mis en évidence à partir de prélèvements pathologiques d'organes divers (tissu cutané, articulations, reins, rate) dans différentes espèces animales.

On l'isole plus particulièrement chez les ovins, porcins, volailles ainsi que dans d'autres espèces (VAISSAIRE et al, 1989 ; PHILLIPON et al, 1982). Chez les porcins l'affection revêt différents signes cliniques : elle peut-être soit aiguë (septicémique), soit subaiguë à aiguë (urticair) soit chronique (arthrites, endocardites etc ...).

Le traitement de l'affection est basé sur l'emploi des antibiotiques et plus particulièrement des pénicillines qui sont largement employées.

Dans le cadre d'études sur la situation sanitaire de l'affection chez le porc en France, et les autres espèces animales, nous avons fait une première recherche sur l'antibiosensibilité et l'antibiorésistance des souches isolées, et nous avons voulu préciser certains résultats. (VAISSAIRE et al, 1989). La réalisation d'antibiogrammes par la méthode de diffusion en gélose doit être rigoureuse et demande de faire attention à un certain nombre de paramètres importants, de plus les antibiogrammes de germes à gram positif posent un certain nombre de problèmes particuliers.

Nous avons donc voulu tester un certain nombre de souches d'origine porcine, ovine ou aviaire vis-à-vis d'un certain nombre de molécules antibiotiques par la méthode la plus employée en laboratoire : la diffusion en gélose. Nous avons voulu en apprécier aussi l'intérêt et les limites. Dans la présente étude il s'agit des souches d'origine porcine.

## 1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1.1. Matériel

126 souches d'*Erysipelothrix rhusiopathiae* isolées entre 1984 et 1989 ont été choisies et testées dont 52 d'origine porcine (36 d'origine ovine, 34 d'origine aviaire et 4 d'origines diverses).

Les 52 souches ont été isolées de porcs atteints de rouget clinique et ont été cultivées sur gélose au sang (5 % de sang de cheval). Elles sont issues d'élevages de taille variée et d'origine géographique diverse couvrant à peu près l'ensemble du territoire français.

27 antibiotiques ont été testés pour chaque souche. Ce sont :

#### Les Bétalactamines

- Pénicillines
  - Pénicillines G
  - Pénicillines A
    - Ampicilline
    - Amoxicilline
    - Amoxicilline + Ac. clavulanique
    - Carbenicilline
  - Pénicillines M
    - Mécicilline
    - Oxacilline
- Céphalosporines
  - Céfaloine

<b>Les Aminosides et aminocyclitol</b>	[	Streptomycine Kanamycine Néomycine Gentamicine
<b>Les Phénicoles</b>		Chloramphénicol
<b>Les Tétracyclines</b>		Tétracyclines
<b>Les Macrolides</b>	[	- <i>Macrolides</i> Erythromycine Oléandomycine Spiramycine
		- <i>Lincosamides</i> Clindamycine
		- <i>Streptogramines</i> Virginiamycine
<b>Les Polypeptides</b>		Bacitracine
<b>Les Sulfamides et associations</b>	[	Sulfamides Triméthoprim + Sulfamides
<b>Les Nitrofuranes</b>		Furanes
<b>Les Quinolones</b>	[	Acide nalidixique Fluméquine
<b>Divers</b>	[	Rifampicine Vancomycine

### 1.2. Méthodes

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller - Hinton suivant les recommandations générales de l'O.M.S. (Anonyme, 1977). C'est la méthode la plus employée en laboratoire.

Le système utilisé est celui commercialisé en France par Diagnostics Pasteur (D.P.).

Les seuils d'interprétation pour la caractérisation des souches sensibles, intermédiaires ou résistantes sont ceux proposés par le Comité Français de l'Antibiogramme. (ACAR et al, 1983).

Etant donné la vitesse de croissance assez lente du germe, l'inoculum est constitué par une culture d'*Erysipelothrix rhusiopathiae* de 14 à 18 heures de densité 0,5 sur l'échelle de Mac Farland.

Le milieu gélosé de Mueller Hinton est additionné de 5 % de sang de cheval.

### 1.3. Contrôle de qualité

Une souche de référence internationale : *Staphylococcus aureus* C.I.P. 7625 (= *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ne présentant pas de facteurs de résistance aux antibiotiques est utilisée en contrôles réguliers.

La sensibilité de cette souche a été précisée par la

détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) à l'aide d'une méthode de dilution en milieu gélosé selon les recommandations du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) à l'aide d'un milieu de Mueller-Hinton (Difco) additionné de 5 p 100 de sang défibriné de mouton (Bio Mérieux) par Perrin-Collioud et al 1987.

## 2. RÉSULTATS

Les 52 souches d'origine porcine testées sont :

### Sensibles :

#### aux Bétalactamines

##### Pénicillines

###### - Pénicilline G

100 % des souches testées sont sensibles bien que la moyenne des diamètres des zones d'inhibition soit de 28mm de diamètre (seuil de sensibilité 29 mm de diamètre). La souche de référence *S. aureus* C.I.P. 7625 donne les mêmes résultats (diamètre moyen 28 mm).

###### - Pénicilline A

###### Ampicilline :

100 % des souches testées sont sensibles : résultats très nets

Amoxicilline : idem Ampicilline

Amoxicilline + Ac. clavulanique : idem

Ampicilline

Carbenicilline : idem Ampicilline

###### - Pénicillines M

###### Méticilline :

35 % des souches testées sont nettement sensibles  
65 % présentent une zone d'inhibition de diamètre inférieur à celui donné pour la sensibilité.

###### Oxacilline :

résultats à peu près identiques à ceux de la Meticilline. 38 % des souches testées sont sensibles, les autres présentent un diamètre inférieur, à des degrés variés, à celui donné pour la sensibilité.

#### Céphalosporines

###### - Céfaloine

100 % de souches testées sont sensibles : résultats très nets

#### aux Macrolides

##### Macrolides

###### - Erythromycine

80 % des souches testées sont sensibles mais certaines souches avec des valeurs limites

###### - Oléandomycine

mêmes remarques que pour l'Erythromycine. 70 % des souches testées sont sensibles.

###### - Spiramycine

50 % des souches sont très nettement sensibles, 50 % ont le diamètre d'inhibition à la limite de la sensibilité.

###### - Lincosamides

###### Clindamycine

78 % des souches sont sensibles

###### - Streptogramines

###### Virgimiamycines

75 % des souches sont sensibles mais avec des valeurs limites, 18 % des souches semblent nettement résistantes.

#### aux Nitrofuranes

###### - Furanes 100 % des souches sensibles

#### aux Tétracyclines

50 % des souches très sensibles

18 % avec des valeurs limites.

### Résistantes

#### aux Aminosides et aminocyclitol

###### - Streptomycine

78 % des souches testées sont résistantes

12 % présentent des diamètres d'inhibition intermédiaire.

###### - Kanamycine

###### - Néomycine

###### - Gentamicine

100 % des souches résistantes

Résultats très nets

#### aux Phénicoles

###### - Chloramphénicol :

75 % des souches testées 25 % des souches présentent des diamètres d'inhibition intermédiaire.

#### aux Polypeptides

###### - Bacitracine : 100 % des souches testées

#### aux Sulfamides et associations

###### - Sulfamides

###### - Triméthopim et sulfamides

100 % des souches testées

#### aux Quinolones

###### - Acides nalidexiques

###### - Flumequine

idem sulfamides

#### aux Divers

###### - Rifampicine

###### - Vancomycine

idem sulfamides

## 3. DISCUSSION

Les souches de rouget (*Erysipelothrix rhusiopathiae*) testées par la méthode de diffusion en gélose donnent des résultats cohérents (sensibilité aux Bétalactamines, aux macrolides, résistance aux aminosides et aux sulfamides), comme nous l'avons montré lors d'un précédent travail (VAISSAIRE, 1989) mais certains résultats méritaient d'être précisés. Ceux obtenus avec la pénicilline G, où certaines souches pouvaient être classées comme intermédiaires,

devaient être contrôlés, ainsi que pour les pénicillines M : Oxacilline, Mécicilline.

Des divergences apparaissent entre les diamètres d'inhibition et les C.M.I. de la souche étalon avec pénicilline G et pénicilline M, les diamètres observés dans certains cas semblent plus petits que ceux que l'on serait en droit d'attendre avec la souche sensible C.I.P. 7625.

Avec ces molécules, les souches de rouget présentent des zones d'inhibition de lecture difficile, avec une large zone critique floue, c'est le diamètre interne le plus net qui est noté, peut-être avec un excès de sévérité.

Face à ces résultats qui, pour certaines souches, étaient plus proches du diamètre intermédiaire, il a été fait une recherche systématique de Bétalactamase (test Padac Diagnostics Pasteur) qui s'est avérée toujours négative jusqu'à ce jour, confortant les résultats obtenus avec l'Amoxicilline et l'Amoxicilline + acide clavulanique (Augmentin).

Des essais réalisés avec un inoculum issu d'un bouillon de 6 heures, et non de 14 à 18 heures, ont donné des résultats à peu près comparables, ainsi qu'avec un inoculum plus riche, seuls les bords de la zone d'inhibition sont plus nets.

Malgré tous les soins apportés à la confection de l'antibiogramme, et à l'utilisation de disques antibiotiques de qualité (sortie très brève des distributeurs automatiques stockés au froid, disques antibiotiques de fabrication récente et loin des dates de péremption, renouvellement fréquent des cartouches) il est à noter que les divergences se produisent avec certains antibiotiques. Ce sont notamment les Bétalactamines et principalement les pénicillines G et M (Oxacilline, Mécicilline) qui peuvent avoir des pertes assez rapides de leur activité dues à l'humidité ambiante et aux chocs thermiques même minimes malgré tous les soins pris et un renouvellement rapide des cartouches.

Des travaux effectués par des équipes japonaises (TAKAHASHI et al 1984, 1987), et dont les résultats sont proches des nôtres, à partir de concentrations minimales inhibitrices (C.M.I.) de certains antibiotiques comme les

Bétalactamines, les tétracyclines et certains macrolides leur ont permis de vérifier l'apparition de résistance chez certaines souches, particulièrement avec les tétracyclines et les macrolides. Ils trouvent aussi des résistances constantes à certains aminosides et aux sulfamides.

Ces résultats nous incitent à confirmer ceux que nous avons obtenu dans ce travail, pour certaines Bétalactamines, certains macrolides, ainsi que pour le triméthoprime et sulfamides en appliquant les méthodes des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) en milieu Solide, ce qui est en cours.

Cela permettra de mieux surveiller l'apparition de résistances en fonction de l'origine des souches (espèce, répartition géographique, élevages industriels ou traditionnels en fonction de la localisation de l'isolement (arthrites endocardites, septicémies) et enfin en fonction du sérotype.

## CONCLUSION

Ce travail et les résultats qu'il apporte permettent de dire que les antibiogrammes classiques effectués par diffusion en gélose donnent des indications cohérentes : sensibilité des souches d'*Erysipélothrix rhusiopathiae* d'origine porcine aux Bétalactamines, aux macrolides, résistance aux aminosides et aux sulfamides. Ces résultats sont susceptibles d'être exploités à des fins épidémiologiques mais ils demandent à être affinés pour certains antibiotiques par la méthode des concentrations minimales inhibitrices, particulièrement dans le cadre de la surveillance d'apparition de souches résistantes suivant leurs origines. C'est le but des travaux en cours qui constitueront le deuxième volet de cette étude.

## REMERCIEMENTS

Nous remercions très vivement l'ensemble des Directeurs des Laboratoires des Services Vétérinaires qui nous ont aidés en transmettant des souches et des prélèvements.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ACAR J., BERGOGNE-BEREZIN E., CHABBERT Y., CLUZEL R., COURTIEU A., COURVALIN P., DUVAL J., FLEURETTE J., MOREL CL., THABAUT A., VERON M., 1983. Path. Biol., 31,459-460.
- ANONYME, 1977. Série de rapports techniques n° 610 vingt huitième rapport du comité O.M.S. d'expert de la standardisation biologique 143 p.
- PERRIN COLLIOD I., MARTEL J.L., COUDERT M., 1987. Bull. Lab. Vet.,26,1-9
- PHILLIPON A., PAUL G., 1982. In : I. Le Minor, M. Veron. Bactériologie Médicale, Flammarion ed Paris - 570 - 577
- TAKAHASHI T., SAWADA T., OHMAE K., TERAOKA N., MURAMAT SU M., SETO K., MARUYAMA TI, KANZAKI M. 1984. Antimicrob. Agents Chemother, 25 (3), 385-386
- TAKAHASHI T., SAWADA T., MURAMATSU M., OHMAE K., TERAOKA N., 1984. Jpn. J. Vet. Sci., 46(-), 921-923.
- TAKAHASHI T., SAWADA T., MURAMATSU M., TAMURA Y., FUJISAWA T., BENNO Y., MITSUOKA T. 1987 J. of clin Microbiology, 25 (3), 536-539.
- VAISSAIRE J., MILWARD F., PAILLE G., LAROCHE M., 1989. Journée Rech. Porcine en France, 21, 215-218