

Comparaison de souches de *Salmonella enterica* sérotype Derby isolées du porc et d'humains en France sur la base de leurs profils de PFGE et d'antibiorésistances

Annaëlle KEROUANTON (1), François-Xavier WEILL (2), Sophie GRANIER (3), Marianne CHEMALY (1), Martine DENIS (1)

(1) AFSSA, Unité HQPAP, BP 53, 22440, Ploufragan

(2) CNR *Salmonella* (Centre National de Référence pour *Salmonella*), Institut Pasteur, Paris

(3) AFSSA, Unité CEB, LERQAP, Maisons-Alfort

Comparison of PFGE and antibioresistance profiles of *Salmonella* Derby isolated from pig and human salmonellosis in France

In France, *Salmonella* Typhimurium and Derby are the most often isolated serotypes in pigs, and serotype Derby ranks usually between 3rd and 4th in prevalence among human strains isolates. The aim of this study was to evaluate the similarity between human and pig Derby isolates on both their PFGE patterns after *Xba*I restriction and on their antimicrobial resistance profiles. Seventy four *S. Derby* isolated from lymph nodes of pigs in 2006-2007 were compared to 96 Derby isolates collected in humans during the same period. Seventeen *S. Derby* isolated from turkey were also considered. Forty-three PFGE *Xba*I patterns were identified: 12 were specifically attributed to pig isolates, 2 to turkey isolates and 21 to human isolates. Thirty-one PFGE patterns (72.1%) were encountered for only one isolate while a major pattern (DXB01) was identified for 96 isolates (56.3%). Resistance to at least one antibiotic is shown by 85.5% of the 134 tested isolates; 70% of them resist to at least streptomycine, sulfonamides and tetracycline simultaneously. The majority of these isolates presented the DXB01 pattern. Finally human salmonellosis due to *S. enterica* serotype Derby could be related to pigs but genetic clonality of and antimicrobial resistance profile highlighted in this study, could not always allow to ensure this link at least for DXB01 patterns.

INTRODUCTION

En France, les salmonelles sont la cause principale des gastroentérites bactériennes et sont responsables de 65% des maladies d'origine alimentaire (Haeghebaert *et al.*, 2002). Des épidémies de salmonelloses sont continuellement rapportées. *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium et Derby sont les sérotypes majeurs observés chez les porcs en France (Fablet *et al.*, 2003; Beloeil *et al.*, 2004). Dans cette étude nous sommes particulièrement intéressés à ce sérotype car on le retrouve ces dernières années en France à la 3^{ème} ou 4^{ème} position des cas de salmonelloses humaines. En 2006 et 2007, respectivement 150 et 127 souches humaines ont été collectées par le centre national de référence pour *Salmonella* à l'Institut Pasteur. Notre but était d'évaluer la proximité des isolats de porcs et d'humains sur la base de leurs profils génétiques obtenus après électrophorèse en champ-pulsé (PFGE) et de leurs profils de résistance aux antibiotiques.

1. MATERIELS ET METHODES

Souches

Les souches animales ont été isolées durant l'enquête Européenne de 2006 et 2007. Soixante quatorze souches ont été isolées de ganglions lymphatiques de porcs (EFSA, 2008). Dix-sept *S. Derby* isolées de dinde ont également été considérées. Elles ont été comparées à 96 souches

collectionnées par le CNR *Salmonella* isolées de cas humains durant la même période (47 souches de 2006 et 49 de 2007).

Typage par PFGE

Le typage génétique des isolats a été réalisé par PFGE selon le protocole standardisé proposé par PulseNet (Ribot *et al.*, 2006). Un profil génétique après restriction par l'enzyme *Xba*I a été obtenu pour toutes les souches. La souche *Salmonella* Braenderup H9812 a été utilisée comme marqueur de taille (Hunter *et al.*, 2005).

Analyse des profils génétiques

L'analyse des profils a été réalisée à l'aide du logiciel BioNumerics (V 5.1, Applied Maths). L'index de Simpson (Hunter, 1990) a également été calculé afin d'établir le pouvoir discriminant de la méthode pour ce sérotype (D value).

Résistance aux antibiotiques

Le phénotype de résistance a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, <http://www.sfm.asso.fr/>). Concernant les souches animales (toutes les souches isolées de porcs et 13 des 17 souches isolées de dinde), 16 disques d'antibiotiques ont été testés. Les lectures automatiques des diamètres d'inhibition ont été réalisées avec le système OSIRIS (BioRad). En ce qui concerne les souches humaines, seules celles de 2006 ont été caractérisées (n=47) comme précédemment décrit (Weill *et al.*, 2004).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

43 profils *Xba*I ont été identifiés (figure 1). Le pouvoir discriminant de la méthode est de 0,73 pour le panel considéré ; il se rapproche de celui obtenu par Kerouanton *et al.* en 2007 (0,75 pour 90 souches de différentes origines). 31 profils PFGE (72,1%) ont été en mis évidence pour une seule souche et par conséquent associés à une seule origine : 1 profil spécifiquement associé à une souche isolée de dinde, 10 profils spécifiquement associés à des souches isolées de porcs et 20 à des souches humaines. Par ailleurs, un profil PFGE très fréquent a été identifié pour 56,3% des souches (42, 43 et 11 souches isolées respectivement de porcs, humains et dindes). Ce profil majoritaire est identique à celui mis en évidence dans l'étude de Kerouanton *et al.* (2007). Concernant l'origine géographique des souches présentant ce profil, il est mis en évidence pour des souches provenant de 37 départements français, sur les 52 concernés par notre étude. Par ailleurs, 10 profils PFGE, rassemblant 23 autres souches, présentent au moins 90% de similarité avec ce profil majoritaire. Six autres profils sont retrouvés à la fois pour des souches porcs et des souches humaines, un profil est mis en évidence pour une souche isolée de dinde et une souche humaine.

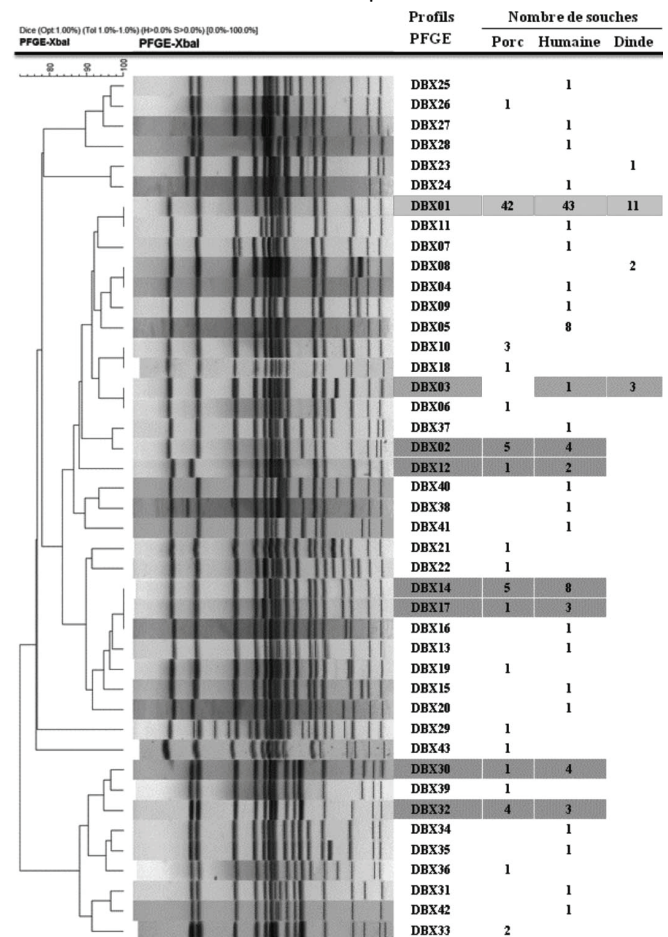
Une résistance à au moins un antibiotique a été démontrée pour 115 des 134 souches (85,5%). 94 souches (70%) ont montré une résistance simultanée à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline. Cependant, ces trois antibiotiques ne sont pas utilisés dans le traitement de première intention lors des salmonelloses humaines. 67 souches sur les 94 montrant cette résistance étaient également de profil PFGE DXB01. Toutes les souches de ce profil PFGE sont résistantes à au moins 3 antibiotiques. Par ailleurs, 4 souches sont particulièrement résistantes avec une résistance pour 5 à 7 antibiotiques.

CONCLUSION

Finley *et al.* (2008) avaient conclu que les salmonelloses humaines dues à *S. Derby* pouvaient dans certains cas être reliées au porc. Dans notre étude, la prédominance d'un type

moléculaire (DXB001) et d'un phénotype de résistance (résistance à la streptomycine, aux sulfamides et à la tétracycline), démontre la grande similarité entre les souches humaines et porcines mais n'exclut pas la possibilité de d'autres sources.

Figure 1 : Dendrogramme représentant les 43 différents profils PFGE obtenus et le nombre de souches par origine ayant données ces profils.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Beloeil, P-A., Fravallo, P., Fablet, C., Jolly, J-P., Eveno, E., Hascouet, Y., Chauvin, C., Salvat, G., Madec, F. (2004) Risk factors for *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* shedding by market-age pigs in French farrow-to-finish herds. Preventive Veterinary Medicine 63:103-120
- EFSA (2008) Report of the Task Force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007. Part A: *Salmonella* prevalence estimates. The EFSA journal, 135:1-109
- Fablet, C., Fravallo, P., Jolly J-P, Eveno, E., Madec, F., Beloeil, P-A (2003) Recherche des facteurs de risques de l'excrétion de *Salmonella enterica* par les porcs en croissance. Enquête épidémiologique analytique en élevage naisseur-engraisseur. Epidémiologie et santé animale, 43 :61-73
- Finley, R., Reid-Smith, R., Ribble, C., Popa, M., Vandermeer, M., Aramini, J., (2008). The occurrence and anti-microbial susceptibility of *Salmonella* isolated from commercially available pig ear pet treats. Zoonoses Public Health. 55, 455-461.
- Haeghebaert, S., Le Querrec, F., Bouvet, P., Gally, A., Espie, E., Vaillant V. (2002). Les toxi-infections alimentaires collectives en France en 2001. B E H. 50, 249-253.
- Hunter P. (1990). Reproductibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods. Journal of Clinical Microbiology, 28: 1903-5.
- Hunter, S.B., Vauterin, P., Lambert-Fair, M.A. *et al.*, (2005) Establishment of an universal size standard strain for use with the PulseNet standardized pulsed-field gel electrophoresis protocols. Converting the national databases to the new size standard. Journal of Clinical Microbiology, 43:1045-1050
- Kérouanton, A., Marault M., Lailler, R., Weill, F-X., Feurer, C., Espié, E., Brisabois, A. (2007) Pulsed-field gel electrophoresis database for foodborne *Salmonella enterica* serotype discrimination. Foodborne Pathogene Disease, 4:293-303
- Ribot, E.M., Fair, M.A., Gautom, R., *et al.* (2006) Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet. Foodborne Pathogene Disease, 3:59-67
- Weill, F.X., Demartin, M., Tandé, D., Espié, E., Rakotoarivony, I., and Grimont P.A.D. (2004). Extended-spectrum- β -lactamase (SHV-12 like)-producing strains of *Salmonella enterica* serotypes Babelsberg and Enteritidis isolated in France among infants adopted from Mali. J. Clin. Microbiol. 42:2432-2437.