



Biodiversité des *Salmonella* à Abidjan : Etude des isolats de 2003 à 2009 par le centre de référence de l'Institut Pasteur

K.J. COULIBALY¹✉, S. BAKAYOKO¹, K.E. COULIBALY¹, G.T. KAROU²,
G.B. GOUALIE^{1,2}, L. AKESSE³, C. GBONON⁵, C. BONI-CISSE^{3,4}, K.S. KOFFI⁵
E. EKAZA⁶, A. N'DOUBA⁵ et M. DOSSO^{1,5}

¹ Centre de National de Référence des Salmonelle / U.E.R. des Contaminants Chimiques et Organiques des Aliments/Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

² UFR en Biosciences - Université d'Abidjan Cocody, Côte d'Ivoire

³ Laboratoire de Bactériologie CHU de Yopougon, Côte d'Ivoire

⁴ Unité de Bactériologie Clinique - Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

⁵ Laboratoire de Bactériologie - Virologie/UFR Sciences Médicales - Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

⁶ Unité de Biologie Moléculaire / Institut Pasteur de Côte d'Ivoire

✉ Correspondance et tirés à part, e-mail : jc_kalpy@yahoo.fr

Résumé

Le genre *Salmonella* compte 2501 sérotypes différents à ce jour. Cette bactérie est responsable de toxi-infections alimentaires fréquentes. La recherche de *Salmonella* s'est faite selon la méthode bactériologique classique et le sérotypage par les tests d'agglutination sur lame avec les immuns sérums spécifiques (Kauffmann-White). La sensibilité aux antibiotiques est étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Kirby-Bauer). De 2003 à 2009, 727 souches de *Salmonella* dont 55,6 % d'origine humaines et 44,4% d'origine aviaire ont été sérotypées. Cette étude a identifié 36 sérotypes différents circulant. *Hadar* (26%) ; *Typhimurium* (27%) ; *Enteritidis* (7%) ; *Typhi* (4%) et *Essen* (3%) sont les principaux sérovars. Les souches non typhi (*S. Typhimurium* avec 48,30% des cas) étaient les plus retrouvés chez l'homme. La résistance aux Céphalosporine de 3^{ème} génération et aux fluoroquinolones a progressé en 2009. La situation épidémiologique des *Salmonella* à Abidjan nécessite la mise en oeuvre d'une politique de surveillance intégrée et multisectorielle. (RASPA, 8 (S) : 19-23).

Mots-clés : *Salmonella* - Biodiversité - Sérotype - Antibiotiques - Aviaires.

Abstract

Biodiversity of the *Salmonella* in Abidjan: Study of the isolates of 2003 to 2009 by the center of reference of the Pasteur Institute.

The *Salmonella* kind counts 2501 sérotypes to date different. This bacterium is responsible for frequent food toxoinfections. The search for *Salmonella* was done according to the traditional bacteriological method and the serotyping by the tests of agglutination on blade with the specific immuns serums (Kauffmann-White). The sensitivity to antibiotics is studied by the method of diffusion in gelose medium (Kirby-Bauer). From 2003 to 2009, 727 stocks of *Salmonellas* which 55.6% of human origin and 44.4% of avian origin were studied. This study identified 36 sérotypes different circulating *Hadar* (26%); *Typhimurium* (27%); *Enteritidis* (7%); *Typhi* (4%) and *Essen* (3%) are principal the serovars. The stocks not typhi (*S. Typhimurium* with 48.30% of the cases) were found at the man. Resistance to the Cephalosporine of 3rd generation and the fluoroquinolones progressed in 2009. The epidemiologic situation of the Abidjan *Salmonellas* requires the implementation of a policy of integrated and multisector monitoring.

Key-Words: *Salmonella* - Biodiversity - Serotype - Antibiotic - Avian.

Introduction

Les salmonelloses sont la principale cause de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) chez l'homme aussi bien dans les pays développés que ceux en développement [11]. Les salmonelloses sont causées par une bactérie du genre *Salmonella* qui renferme à ce jour plus de 2500 sérovars.

Salmonella enterica subsp. enterica sérovar Typhimurium (*S. Typhimurium*) et *Salmonella enterica subsp. enterica* sérovar Enteritidis (*S. Enteritidis*) sont largement répandues dans les différents réservoirs animaux (porcs, bovins, volailles...) et dans certaines denrées destinées à

l'homme. Ils figurent en première et deuxième position des sérotypes les plus fréquemment isolés chez l'homme en France [8]. Ces sérovars sont dit ubiquistes car ils colonisent indifféremment certaines espèces animales et l'homme.

Les produits alimentaires les plus contaminés par les Salmonelles sont principalement des ovo produits. En Côte d'Ivoire, la consommation de volaille locale et importée est en constante augmentation. Elle est passée de 0,39 Kg/habitant/an en 2004 à 0,84 Kg/habitant/an en 2008 soit une augmentation de plus 100% [14].

Cela suggère une augmentation des risques de salmonellose transmise par le poulet. Le contact entre l'homme et la volaille (marché ; restaurant populaire) augmente le risque de transmission [19].

Contrairement aux autres pathogènes provoquant des gastro-entérites, *Salmonella* est en plus responsable de certaines pathologies extra-intestinales comme l'infection du tractus urinaire, l'abcès de diverses locations et des bactériémies [18].

La contamination par *Salmonella* a aussi d'importantes conséquences à la fois pathologique, hygiénique et économique, d'une part en raison des pertes induites par la pathologie animales et où humaines et d'autre part en raison des coûts liés aux mesures de contrôle des contaminations par *Salmonella*. Le coût annuel des infections humaines à *Salmonella* est estimé à 2,3 à 3,6 milliards de dollar aux Etats-Unis et à 350 à 500 millions de Livres en Grande-Bretagne [12], [16].

On estime aux USA, que pour un cas de salmonellose rapporté, il y en aurait 38 qui ne le sont pas [12]. Cela traduit une sous-estimation de la part réel des Salmonelles dans la pathologie humaines donc une sous évaluation des risques pour la santé humaine liés aux salmonelles.

Les souches de *Salmonella* résistantes à de multiples antibiotiques émergent. L'incidence des souches de *S.Typhi* multirésistantes aux antibiotiques augmente rapidement depuis 1990, en particulier dans le sous-continent indien et en Asie du sud-est.

La résistance des salmonelles non typhiques connaît également une augmentation avec l'utilisation incontrôlée des antibiotiques dans l'élevage industriel [17].

La biodiversité des Salmonelles connaît une dynamique selon les régions géographiques et selon les hôtes. L'objectif de cette étude était de déterminer les sérotypes de salmonella circulants chez l'homme et chez le poulet de 2003 à 2009 à Abidjan.

Matériel et Méthodes

1. TYPE DE L'ÉTUDE

il s'agissait d'une étude rétrospective qui s'est déroulée de 2003 à 2009 au CNR *Salmonella* localisé au sein de l'IPCI.

2. LES ISOLATS DE SALMONELLES

Les souches humaines (404) ont été isolées de différents produits biologiques analysés en routine dans les laboratoires des CHU de Yopougon, de Treichville et de l'IPCI et envoyées au Centre Nationale de Référence des Salmonella de 2003 à 2009. Les souches d'origines animales (323) étaient essentiellement de type aviaire et provenaient de l'Unité d'étude et de recherche des contaminants chimiques et organiques dans les aliments (UNERCO) de l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire et du Laboratoire National

d'Appui au Développement Agricole (LANADA).

L'identification biochimique a été réalisée sur galeries Api 20E (Biomérieux, Marcy l'Étoile, France), suivie d'une identification antigénique complète à l'aide d'antisérums spécifiques (Bio-Rad, Marne la Coquette, France) selon la méthode décrite par Popoff et Le Minor

L'étude de la sensibilité des souches aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Kirby-Bauer. Les antibiotiques suivant ont été testé : amoxicilline (25µg) ; amoxicilline+acide clavulanique(20µg/10µg) ; céfalotine (30µg) ; céfotaxime (30µg) ; acide nalidixique (25µg) ; ciprofloxacine (5µg) ; chloramphénicole (30µg) ; tétracycline (30µg). L'antibiogramme a été effectué par la méthode de disques de diffusion sur gélose Müller Hinton (Bio-Rad, Marne la Coquette, France). L'interprétation des résultats a été faite selon les règles et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM).

Résultats

Au total 727 souches ont été incluses dans l'étude, dont 404 d'origines humaines soit 55,6% (404/727) et 323 d'origine aviaires soit 44,4%. Pour les souches de Salmonelles d'origine humaine, 36% provenaient d'hémoculture, 16% de coproculture, 5% des urines et 3% du LCR.

Dans notre étude, 35 sérovars ont été identifiés avec 19 sérovars d'origine aviaire et 16 sérovars d'origine humaine. Les cinq sérovars les plus fréquents étaient par ordre décroissant, *S.typhimurium* (27%), *S. Hadar* (26%), *S. Enteritidis* (7%), *S.Typhi* (4%) et *S.Essen* (3%)

Dans la filière avicole, *S.hadar* (58%) et *S.Essen* (4.33%) étaient les plus retrouvés au fil des années d'étude (Tableau I).

Parmi les souches d'origine humaine, *S.Typhimurium*, *S.Enteritidis* et *S.Typhi* étaient les plus fréquents avec respectivement 48,30%, 13,4% et 7,70% (Tableau II).

Au cours de l'étude, trois sérovars communs à l'homme et aux poulets ont été identifiés. Il s'agissait de *S.Typhimurium*, *S.Enteritidis*, *S.Essen*.

2. ANTIBIORÉSISTANCE : ÉTUDE DE LA SENSIBILITÉ DES SOUCHES AUX ANTIBIOTIQUES

Cette étude a montré des profils de résistance allant d'une monorésistance à une multirésistance.

Les données concernant l'étude de la sensibilité de *S.Hadar*, sérovars majeurs chez le poulet datent de 2005.

Tableau I : Evolution des sérovars de souches de *Salmonella* d'origine aviaires

<i>Salmonella</i>	2003	2004	2005	2006	Total
Hadar	61	95	6	26	188
Essen	5	6	3	-	14
Il	-	-	-	14	14
Yovokomé	-	-	-	12	12
Manhattan	-	-	-	6	6
Senftenberg	2	7	-	-	9
Reading	-	-	-	6	6
Enteritidis	-	5	-	-	5
Mbandaka	-	-	-	5	5
Typhimurium	-	-	2	3	5
Bredney	-	-	-	2	2
Loanda	-	-	-	3	3
Derby	1	1	-	-	2
Amsterdam	1	-	-	-	1
Bargny	-	-	-	1	1
Eppendorf	-	-	-	1	1
Lagos	-	-	-	1	1
Strasbourg	-	1	-	-	1
Tshingwe	-	-	-	-	1
Non Sérotypé	12	10	19	5	46
	82	125	30	85	323

Tableau II : Evolution des sérovars de souches de *Salmonella* d'origine Humaine

<i>Salmonella</i>	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	Total
Typhimurium	-	17	67	39	39	5	28	195
Enteritidis	-	1	10	14	13	3	13	54
Typhi	1	-	4	2	17	3	4	31
Dublin	-	-	3	1	2	1	3	10
Farmsen	-	-	-	-	2	-	1	3
Paratyphi B	2	-	-	-	-	-	-	2
Kentucky	-	-	-	-	-	-	2	2
Wien	-	-	-	-	-	-	1	1
Urbana	-	1	-	-	-	-	-	1
Seremba	-	-	1	-	-	-	-	1
Schleissheim	-	-	-	-	-	-	1	1
Sao	-	-	1	-	-	-	-	1
Rittersbach	-	1	-	-	-	-	-	1
Paratyphi C	-	-	-	-	1	-	-	1
Heidelberg	-	-	-	1	-	-	-	1
Essen	-	-	1	-	-	-	-	1
Non sérotypé	-	3	20	12	5	58	-	98
	3	23	107	69	79	70	53	404

Les 60 souches testées ont présenté un taux de résistance de 90.82% pour l'amoxicilline, 100% pour la tétracycline, 92.66% pour l'Acide Nalidixique et 11,11% pour la Ciprofloxacine.

Pour les souches d'origine humaine, les données ont concerné les années 2008 et 2009.

En 2008, 70 souches humaines ont été analysées. Parmi ces souches 50 non-typhiques ont présenté les résultats suivant : 82,7% des souches étaient résistantes à l'amoxicilline. Nous avons par ailleurs noté 70,2% de résistance à l'association acide clavulanique + amoxicilline, 28.5% à la ciprofloxacine, 57.1% à l'acide nalidixique. En 2009, 38 souches de salmonelle non typhiques d'origine humaine ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques. Il en ressort que 78,9 % (30/38) des souches étaient résistant à l'amoxicilline, 31,57 (12/38) à la céfalotine, 31,57% (12/38) à la céfotaxime, 28,9% (11/38) à l'acide nalidixique ; 10,52% (4/38) à la ciprofloxacine, 60,52% (23/38) au Chloramphénicol et 57,9 (22/38) au cotrimoxazole.

Certaines souches de *S. Typhimurium* étaient résistantes à plusieurs antibiotiques à la fois. Les phénotypes les plus retrouvés étaient les phénotypes AmxAmcCfCSxtTicTeSu et AmxAmcCSxtTicSu.

Discussion

Le centre national de référence des *Salmonella* (CNRS) a reçu 727 souches de 2003 à 2009. Ce nombre est inférieur aux 2335 souches recensées par AHL et al [4] de 1980 à 1988 en Côte d'Ivoire, plus de 44000 souches essentiellement d'origine humaine entre 2004 et 2008 par l'Institut Pasteur de Paris (IPP)[8] et des 7913 souches de la filière avicoles recensées par l'Agence Française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) en 2006 [1]. Ces différences pourraient s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la petite taille du réseau constitué seulement de quatre laboratoires partenaires contre plus de 1300 pour l'IPP et environ 211 pour l'AFSSA, le nombre réduit de laboratoire de bactériologie, la difficulté d'accès à ces laboratoires, les ressources financières limitées, la rareté des demandes d'analyse pour les aliments.

Durant la période de l'étude, 19 sérovars différents ont été observés chez le poulet avec *S. Hadar* comme sérotype dominant. Ce taux diffère des 90 sérovars dominés par *S. Senftenberg* en France [1], [2], [3] mais est proche des 22 sérovars rapportés par PADUNGTOD et al. [17] en Thaïlande. Ces différences de nombre et de distribution des sérovars circulants pourraient s'expliquer par les systèmes de production différents (géographie, climat, type d'élevage ...).

Concernant les souches d'origine humaine, *S. Typhimurium* étaient le plus retrouvé parmi les 16 sérovars différents observés. Ce constat est aussi fait en France [8] mais différent au Maroc où *S. Enteritidis* est prédominant de même qu'en Angleterre et en Espagne [5]. Ces différences pourraient également s'expliquer par les variations géographiques mais aussi par le type d'aliment contaminant donc par les habitudes alimentaires. En effet *S. Enteritidis* serait beaucoup transmis par les oeufs et produits à base d'oeuf et *S. Typhimurium* par les aliments à base de chair de poulet mal cuite comme les fast-food [10].

Bien que le nombre de sérovars retrouvé chez le poulet soit proche de celui retrouvé chez l'homme dans l'étude, il est admis de par le monde que les sérovars non humains sont plus hétéroclites que les sérovars humains [13]. Selon certaines études, il existerait une relation entre les souches d'origine humaine et les souches d'origine aviaire [6]. Cette relation se justifierait par le fait que des études ont montré que les cinq premiers sérotypes retrouvés chez l'homme sont les mêmes chez le poulet mais dans un ordre différent [1], [6]. En France, depuis 2005, *S. Typhimurium* et *S. Enteritidis* sont les principaux sérotypes chez l'homme. Chez le poulet, ils arrivent en troisième et deuxième position respectivement par ordre d'importance [1], [8]. Aux USA, plusieurs cas de Salmonellose humaine ont été directement rattachés à l'exposition des malades à des poulets vivants ou aliments dérivés de poulets [6], [7]. Il a en outre été prouvé par les techniques moléculaires telles que l'Electrophorèse en champ pulsé (PGFE) que des souches ayant contaminé des repas à base de poulet pourraient entraîner une salmonellose chez l'homme [9]. Dans notre cas cette relation n'a pas été établie. Cependant, l'existence de certains sérovars d'origine aviaire de plus en plus retrouvés chez l'homme, pourrait faire supposer ce lien. En effet, *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* et *S. Essen* ont été retrouvés à la fois chez l'homme et chez le poulet.

S. Hadar, principal sérovars chez le poulet présentait 90,82% de résistance aux Aminopénicillines, 100% à la Tétracycline et 92% à l'acidenalidixique et 11,11% aux Fluoroquinolones. La sensibilité diminuée pour les Fluoroquinolones a été observée aussi en France pour un 1/3 des sérovars *Hadar* étudié par l'AFSSA en 2005 [2] quand des souches humaines de *S. Hadar* étaient toute sensibles à la Ciprofloxacine et 54% étaient résistantes à la Tétracycline [8].

Pour les sérovars d'origine humaine, les résistances aux Fluoroquinolones (10,52% en 2009) et aux Céphalosporines de troisième génération (31,57% en 2009) sont assez importantes et en augmentation.

Selon AHI et al, entre 1980 et 1988, toutes les *Salmonelles* isolées en Côte d'Ivoire étaient sensibles aux Fluoroquinolones [4]. Ces résistances bien que rapportées par PADUNGTOD *et al* [17] y sont beaucoup inférieure à celle de notre étude. Ils ont trouvé un taux de résistance de 0,5% à la ciprofloxacine. Les résistances à ces familles d'antibiotiques sont également assez faibles en France avec des taux proche de 1% [8]. Ces différences pourraient trouver leur explication dans les habitudes de consommation des antibiotiques qui diffèrent suivant les régions du monde. En occident, les réglementations imposent une conduite aux éleveurs et prescripteurs vis-à-vis de la prescription et de l'utilisation des antibiotiques aussi chez l'animal qu'en médecine humaine.

Plusieurs auteurs ont par ailleurs fait observer que le support de la résistance chez les volailles étaient plasmidique [12], [15].

Conclusion

Cette étude descriptive a mis en évidence les tendances de souches de salmonelle circulant à Abidjan aussi chez l'homme que chez la volaille. Les *Salmonelles* non typhi ont émergé au dépend des Typhi chez l'homme et leur sensibilité vis-à-vis de certaines famille d'antibiotique a fortement diminué.

Cette étude pose la question de la mise sur pied d'un système intégré de surveillance globale des souches de salmonelle circulant en Côte d'Ivoire.

L'utilisation des techniques moléculaires pourrait permettre une étude épidémiologique plus approfondie des génomes de *Salmonelles*. Ces techniques permettraient d'étudier plus finement les mécanismes de résistance aux antibiotiques et la relation souches d'origine humaine et aviaire de salmonelle.

Bibliographie

1. **AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS, 2008.**- Inventaire des *Salmonella* d'origine non humaine-2006. Maison Alfort : Edition AFSSA. 104 p.
2. **AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS, 2007.**- Inventaire des *Salmonella* d'origine non humaine-2005. Maison Alfort : Edition AFSSA. 95 p.
3. **AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ SANITAIRE DES ALIMENTS, 2006.**- Inventaire du réseau *Salmonella*, Sérotypage et sensibilité aux antibiotiques 2004. Maison-Alfort : Edition AFSSA. 113 p.
4. **AHI K.,1990.**- Contribution à l'étude de l'espèce *Salmonella* en Côte d'Ivoire. Thèse Méd. Abidjan. 133 p.
5. **AMMARI S., LAGLAOUI A., EN-NANEI L., BERTRAND S., WILDEMAUWE C., BARRIJAL B., ABID M., 2009.**- Isolation, drug resistance and molecular characterization of *Salmonella* isolates in northern Morocco. *J Infect Developing Ctries*, 3(1):41-49.
6. **CDC, 2009.**- Multistate Outbreaks of *Salmonella* Infections Associated with Live Poultry - United States 2007. *MMWR*, 58(02):25-29.
7. **CDC, 2000.**- Salmonellosis Associated with Chicks and Ducklings - Michigan and Missouri, Spring 1999. *MMWR*, 49(14) : 297-299.
8. **CENTRE NATIONAL DE REFERENCE DE SALMONELLA, INSTITUT PASTEUR DE PARIS, 2009.**- Rapport Annuel d'activité 2008. 67 p.
9. **DAVID J., 2009.**- Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France. Thèse Univ. Européenne de Bretagne. 276 p.
10. **DELAROCQUE-ASTAGNEAU E., DESENC LOS J.-C, BOUVET P., P. A. D. GRIMONT P.A.D., 1998.**- Risk factors for the occurrence of sporadic *Salmonella enterica* serotype enteritidis infections in children in France: a national case-control study. *Epidemiol. Infect.*, 121: 561-567.
11. **DUBROCA S. , CORREGE I., GOUSET M., GUYOMARD F., LOISEAU M., SALAUM Y., MINVIELLE B., et LE ROUX A., 2005.** - Caractérisation du statut « salmonelles » d'un élevage de porcs : Analyse comparée de la sérologie et de la bactériologie. *Epidémiol. et Santé Anim.*, 48 : 41-49.
12. **FOLEY S.L., LYNNE A.M., 2008.**- Food animal-associated *Salmonella* challenges: Pathogenicity and antimicrobial résistance. *J Anim Sci* , 86:173-187.
13. **GALANIS E., WONG D., PATRICK M., BINSZTEIN N., CIESLIK A., CHALERMCHAIKIT T., AIDARA-KANE A., ELLIS A., ANGULO FJ., WEGENER H., 2006.** - Web-based Surveillance and Global *Salmonella* Distribution, 2000–2002. *Emerg Infect Dis*, 12(3): 381-388 [Disponible internet]: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol12no03/05-0854.htm>.
14. **IPRAVI, 2010. Statistique 2008.**- [Disponible internet] : <http://www.ipravi.ci/statistique2008.pdf>.
15. **MAMMINA C, TALINI M, PONTELLO M, DI NOTO AM, NASTASI A., 2003.**- Circulation clonale de *Salmonella enterica* serovar Heidelberg en Italie. *Euro Surveill.*;8(11): 434. [Disponible Internet]: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=434>.
16. **MILLEMANN Y., 1998.**- Les marqueurs épidémiologiques des *Salmonelles*. *Vet Res*, 29 :3-19.
17. **PADUNGTOD P., KADOHIRA M., HILL G., 2008.**- Livestock Production and Foodborne Diseases from Food Animals in Thailand. *J. Vet. Med. Sci*, 70(9): 873–879.
18. **PRATS G., MIRELIS B., LLOVET T., MUNOZ C, MIRO E., NAVARRO F., 2000.**- Antibiotic resistance trends in enteropathogenic. *American Society for Microbiology*, 44 (5): 1140-1145. Disponible sur internet <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlere>.
19. **VAN IMMERSEEL F., DE BUCK J., BOYEN F., PASMANS F., BERTRAND S., COLLARD J.M., SAEGERMAN C., HOOYBERGHS J., HAESBROUCK F., DUCATELLE R., 2005.** *Salmonella* dans la viande de volaille et dans les oeufs : un danger pour le consommateur qui demande la mise en place d'un programme de lutte efficace. *Ann. Méd. Vét.*, 149 : 34-48.

