

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DE SANTE
DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2023

THESE 2023/TOU3/2047

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Justine MADAULE

***SALMONELLA* SPP ET AZITHROMYCINE : ÉTAT DES LIEUX DE LA RÉSISTANCE
AU CHU DE TOULOUSE DE 2016 À 2021**

Le 23 Juin 2023

Directeur de thèse : Docteur Pauline FLOCH

JURY

Président : Professeur Peggy GANDIA
1er assesseur : Docteur Camille BREHIN
2ème assesseur : Docteur Alexa DEBARD
3ème assesseur : Docteur Damien DUBOIS

PERSONNEL ENSEIGNANT
du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé
au 20 février 2023

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
Mme DERA EVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A.	Pharmacie Galénique
(*)	Pharmacognosie
Mme VANSTEELANDT M.	Mathématiques
Mme WHITE-KONING M. (*)	

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie clinique
Mme DINTILHAC A.	Droit Pharmaceutique
Mme ROGOLOT L	Bio cellulaire,immuno

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

M	TABTI Redouane	Chimie thérapeutique
Mme	HAMZA Eya	Biochimie
Mme	MALLI Sophia	Pharmacie galénique

Serment de Galien

En présence des Maîtres de la Faculté, je fais le serment :

- D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances
- D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;
- De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité
- En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.
- De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession
- De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens
- De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Remerciements

À la Présidente du jury, Madame le professeur **Peggy Gandia**,

Pour l'honneur que vous me faites de présider mon jury de thèse. Je vous remercie pour ces années d'enseignement à la Faculté de Pharmacie ainsi que pour le stage que j'ai pu réaliser dans votre service, au Laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie, qui m'ont beaucoup appris sur la discipline et m'ont permis de réaliser de nombreux projets enrichissants.

À ma directrice thèse, Madame le docteur **Pauline Floch**,

Tu me fais l'honneur d'être la première interne que tu encadres en tant que directrice de thèse, et c'était un plaisir de travailler avec toi. Merci pour ce projet intéressant que tu m'as proposé, pour ta disponibilité, tes réponses toujours rapides, ta gentillesse et l'aide précieuse que tu m'as apportée dans les manipulations et dans la rédaction de la thèse.

Aux membres du jury :

Madame le docteur **Alexa Debard**,

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de nous apporter ton expertise de médecin spécialisé dans les maladies infectieuses. J'ai beaucoup appris à tes côtés lors de mon passage à l'équipe mobile d'infectiologie, et c'était un réel plaisir de travailler avec toi.

Monsieur le docteur **Damien Dubois**,

Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à ce projet en acceptant de participer à ce jury de thèse. Merci également pour la formation à la validation biologique en bactériologie que vous m'avez apportée, et pour vos précieux conseils en la matière que je tâcherai d'appliquer dans ma pratique future.

Madame le Professeur **Camille Bréhin**,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail en participant à ce jury de thèse. Soyez assurée de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

Aux biologistes et techniciens rencontrés pendant mon parcours, en particulier ceux du laboratoire de Bactériologie-Hygiène. Merci à Pauline, Marion, Damien, Clémence, Camille pour vos enseignements, vos nombreux conseils et votre bienveillance pendant la rédaction de cette thèse. Merci également à toute l'équipe du laboratoire de Pharmacocinétique et Toxicologie, Peggy, Sarah, Thomas et Michel, pour le semestre enrichissant et toujours dans la bonne humeur que j'ai passé avec vous.

À ma famille,

À mes parents, merci de m'avoir toujours encouragée et soutenue. Je sais que ce parcours n'a pas été simple pour vous non plus, que vous avez vécu les examens et concours en même temps que moi, et c'est grâce à vous et à votre soutien que j'en suis là aujourd'hui. Merci d'avoir cru en moi. Maman, obligée d'évoquer ce jour du choix de poste pour l'internat où nous avons stressé ensemble jusqu'à la dernière minute. Merci d'être ma première confidente. Papa, je suis fière de suivre tes traces et de devenir bientôt biologiste à mon tour, c'est toi qui m'as transmis cette passion, je me revois regarder les globules rouges dans ton microscope à la sortie du collège.

À Clément, pour tes encouragements avant mes concours et pour toujours avoir su me faire rire (entre deux crises de nerfs). Une pensée émue à tous les membres de la famille à qui on a fait les 400 coups, entre iPhone finissant dans une baignoire ou bagarres dans des hôtels (tu sais de laquelle je parle). Je te souhaite de réussir tant dans ta vie personnelle que dans ta vie professionnelle, je sais que tu sauras trouver ce qu'il te plaît et où t'épanouir.

À mes grands-parents, papi Henri, mamie Nadine et papi Alain. Merci pour votre soutien durant toutes ces années, vous avez su croire en moi et m'encourager. A mamie Clo, à qui je pense chaque jour. Je sais que tu aurais été fière de moi si tu avais pu être présente pour ma thèse. Ton absence aujourd'hui est ma plus grande tristesse.

À Matthieu, bientôt 10 ans de nous, années au cours desquelles ton soutien a été sans faille. Merci d'avoir toujours été là pour moi, pour ta joie de vivre et pour tous nos fous-rires, pour les moments passés avec ta famille, et avec la mienne, les festivals de musique, les concerts, pour nos voyages, nos week-end à l'Océan, à la mer ou à la montagne, nos randonnées sans compter celles où on s'est perdus, pour tous ces plats que tu as cuisinés pour me permettre de travailler plus longtemps, ou de me reposer, merci aussi d'être le meilleur papa-chat pour Luna... Je pense également à ta famille qui m'a toujours si bien intégrée, Babeth, Thierry, Marie et Gérard, Colette et René, Éric et Ingrid, Thibault et Nono, Manon et Micka. Tellement de bons moments à vos côtés et plein d'autres à venir.

À mes amies du lycée,

Ilona, Stella, Émilie, Sophie et Sarah, ou plutôt maman Ilo, Stellouch, Eminem et Sarrakech. A tous nos fou rires inarrêtables, aux soirées passées au repère rue Pargaminières, et à nos pâtes le midi. Je souhaite rendre hommage à nos voisins qui ont supporté notre bazar toutes ces années ! Blague à part, vous m'avez permis de croire en moi quand j'étais au lycée et que je doutais plus que jamais par rapport à mon orientation, et je vous en remercie. **Ilona,** je te souhaite tout le bonheur avec la petite Faustine, j'ai déjà hâte de vous revoir. **Stella,** tu as beau être au Canada, je sais que nous resterons amies et que nous nous reverrons dès qu'on le pourra. Je pourrais dire pareil pour vous, **Émilie** (mon pingouin pour toujours), **Sarah,** vous êtes parties loin mais quand on se retrouve c'est comme si on s'était quittées la veille.

A ma **Léa**. On s'est rencontrées brièvement en seconde puis retrouvées pour de vrai en première, maintenant 11 ans qu'on se connaît et on est toujours aussi proches. Tu es une fille en or, solaire et courageuse. Je nous revois faire des photos avec des filtres en PACES, et devoir sortir d'une salle de cours faute de pas pouvoir s'arrêter de rire (la Reine d'Angleterre et son escorte en voiture le savent). J'ai hâte de passer de nouveaux moments avec toi et je te souhaite tout le bonheur et la réussite que tu mérites dans ton internat à Lille.

Aux copines de la fac de pharmacie,

Au **Crazy Paradize**, Ding Dong Flolatong et Bord d'Aile de Merle le Flamand Rose, ou Floflo et Sarah, et à notre trio formé pendant les révisions de l'internat. Vous avez toujours été là pour moi et je vous en suis reconnaissante. Je suis heureuse qu'on ait toutes les trois trouvé notre voie et qu'on ait su rester proches malgré les emplois du temps parfois chargés et la distance avec Sarah à Limoges. A tous les beaux moments qu'on a passés ensemble, nos vacances à Contis (ou MIMIZAN !) qui peuvent se terminer très bien comme se finir sur un drama bactériologique, et bien sûr à la Crazy Italy qui nous attend cet été.

A **Sophie, Claire et Marion**, pour ces bons moments passés ensemble à la fac ou en dehors ! Topie, à notre passion commune pour les corgi et leur booty, nos vacances parisiennes dédiées à la boutique Stranger Things (et littéralement au tour de Paris en 1 journée à pied). Je vous souhaite tout plein de belles choses.

Aux copains rencontrés pendant l'internat,

Tout commence en bactériologie, merci à **Bryan, Elie, Lucie**, pour ce premier semestre dans la bonne humeur. Ça n'aurait pas pu mieux commencer et j'en garderai toujours un bon souvenir. Elie, je te remercie (ou pas) pour les crises de rire que tu m'as fait avoir au téléphone. Bryan Boy Papa, BBOY, notre marseillais pur souche, merci pour toutes les fois où tu m'as fait relativiser (« oue »), et pour ton statut de Référent Excel/Informatique pendant la rédaction de ma thèse !

A **Roxane et Camille**, un coup de foudre amical grâce aux soirées d'internat. **Chatoune** (N°1) et **Camcam**, je suis fière de compter dans mes amies des filles comme vous, merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté, je serai aussi toujours là pour vous. Merci pour tous ces bons moments passés ensemble, je pense à nos soirées et à cette (petite) journée ski qui démarrait en catastrophe à la sortie du métro. Hommage à Francis le serveur Tony qui nous supporte à chaque soirée.

Au trio innommable de la soirée Péniche, formé avec **Nicolas et Benjamin**, alias **Nicoloso et Benjos**. Nicolas, je ne devrais pas l'admettre en laissant une trace écrite mais tu es un véritable ami, toujours attentionné et prêt à nous soutenir quand on en a besoin, ou à organiser des chasses aux œufs de Pâques en chambre de garde pour encourager tes potes. (Tu es quand même un sale gosse). Benji, je passerai outre ta passion pour les chouettes

(Leviosaaaa) pour te dire que j'ai passé de supers moments avec toi aussi. Au passage, je te remercie d'avoir sauvé ma thèse de tout ce que je lui ai fait endurer sur Word (Bryan, attention à la concurrence). A toutes nos conversations Marvel, Harry Potter, Pokémon... Et à d'autres Jésus-Christ j'espère !

Aux toxicopines : Blandivudine, Flofénicol et Josémicine

J'ai passé un super stage de pharmaco à vos côtés. Je garderai en souvenir tous nos gâteaux, les toxibonbons, les toxigaufres, les gougnetts (ok, on a fait que manger...), nos chiffres tensionnels affichés au tableau, et j'en passe. Blandine et Joséphine, je suis ravie de vous avoir découvertes pendant ce stage, vous avez été un coup de cœur amical pour moi. Je ne peux pas parler de pharmacologie sans remercier **Sarah**, qui a essayé de travailler pendant 6 mois au milieu de 4 pipelettes affamées. Merci pour ta bienveillance pendant ce stage et pour tous les délires qu'on a pu avoir, je te souhaite le meilleur, notamment pour ta thèse de sciences (je sais à quoi tu penses en lisant ça mais je ne l'écrirai pas...).

A la jolie team Fatma, Jess, Rima, Silvia.

Fatma, notre amitié a commencé en tant que « jumelles de style » (merci les fripes) mais avec le temps on se rend compte qu'on est jumelles de bien plus que ça. Je ne sais pas comment je ferai sans tes conseils, on se comprend parfois sans même avoir à s'expliquer. Tu es une amie en or et je te souhaite tout le meilleur, sur le plan personnel mais aussi professionnel (j'ai confiance et je sais que tu arriveras là où tu le souhaites).

Jess, tu nous manques en PMA ! C'est toujours agréable de parler avec toi de ta vie trépidante (tu pourrais en faire un livre) et tu es aussi toujours de bons conseils. Ne change pas (je sais que tu n'avais pas prévu de le faire).

Rims, tu es la personne la plus profondément gentille que je connaisse. On a beaucoup de points communs, entre gémeaux un peu démoniaques sur les bords mais qui se font quand même souvent avoir. Tu es une fille en or et tu as toujours les mots justes qui font du bien.

Sisi, la Silve, j'ai l'impression de t'avoir découverte en deuxième année d'internat alors qu'on est de la même promotion. On aura pu s'inquiéter ensemble pour nos thèses rapprochées. J'adore nos conversations existentielles (ou pas) avec les filles, j'ai hâte qu'on remette ça. Merci aussi pour ces parties de babyfoot endiablées, ou pour les fois où on a été reléguées au rôle de pom-pom girl.

Merci à **Joy** pour ta bonne humeur (un cappuccino, molto bene !), **Maëlys** pour nos fou-rires au babyfoot et notre stage en bactériologie (j'y reviens après), **PP6** pour ta gentillesse, pour notre stage en hématologie et nos petites pauses sur la terrasse de l'IUC. A **Marionnette** si douce, gentille et drôle, **Alexandrino** et nos conversations sur les Converse et les vestes

pépites japonaises, à **La Guille** parce que je sais que tu adores quand je t'appelle comme ça, une pensée aux quelques parties de baby où tu as pu perdre des points d'audition.

A la team Bactério de mon niveau 2 :

Maelys j'ai beaucoup aimé ce semestre avec toi, on aura pu stresser ensemble pour nos thèses mais aussi se soutenir et bien rigoler (entre deux shooting photo de géloses ou de cupules). Comment parler de rigoler sans évoquer **La Ligne**, merci de nous avoir fait rire tout le semestre, je penserai à toi quand j'aurai ma Fiat 500 électrique et que je retournerai en Corse... **Ophé**, c'est toujours un plaisir de parler Disney et animaux avec toi (et de recevoir des gâteaux de Ranguel pendant les gardes de Noël). **Lamia** j'ai beaucoup aimé ce semestre avec toi malgré votre alliance avec Ines contre le premier degré... Aux nouveaux internes arrivés ce semestre : **Inesquik** et ses chaouineurs, **Angie** (à la colombienne), **Anoukiss**, **Claclou**, je suis heureuse de vous avoir rencontrées.

À un nouveau chapitre qui s'ouvre avec **toute la team de l'internat de Saint-Gaudens**, j'ai hâte de passer des moments avec vous ce semestre.

À **l'équipe du laboratoire** du CHCP, merci pour votre accueil et votre gentillesse.

A tous ceux non cités ici mais avec qui j'ai passé de bons moments, à nos soirées péniche, EVI, soirées de Noël mouvementées, aux Week-End ski, aux nombreuses parties de babyfoot, et à tout ce qui reste à venir.

Table des matières

Serment de Galien	4
Remerciements	5
Liste des figures	13
Liste des tableaux	15
Liste des abréviations	17
Introduction	20
Revue de la littérature	21
1. Rappels sur <i>Salmonella</i> spp	21
1.1. Caractéristiques générales	21
1.2. Taxonomie	21
1.2.1. Sérovars de <i>Salmonella</i> : désignation par noms	22
1.2.2. Sérovars de <i>Salmonella</i> : désignation par formule antigénique	23
1.2.3. Caractéristiques biochimiques des <i>Salmonella</i> spp	25
1.2.4. Nombre de sérovars dans chaque espèce et sous-espèce	26
1.3. Spécificités d'hôtes des <i>Salmonella</i>	27
1.4. Épidémiologie	28
1.4.1. Épidémiologie mondiale des diarrhées	28
1.4.2. Épidémiologie des salmonelloses	29
1.5. Physiopathologie des infections à <i>Salmonella</i>	34
1.5.1. Mode de transmission des <i>Salmonella</i>	34
1.5.2. Physiopathologie des diarrhées bactériennes	35
1.5.3. Particularités des infections à <i>Salmonella</i> spp	37
1.6. Clinique des salmonelloses	41
1.6.1. Infections digestives	41
1.6.2. Fièvre typhoïde	41
1.7. Diagnostic biologique des salmonelloses	45
1.7.1. Signes biologiques aspécifiques	45
1.7.2. Indications de réalisation d'une coproculture	45
1.7.3. Diagnostic de salmonellose : prélèvement	47
1.7.4. Mise en culture du prélèvement	49
1.7.5. Identification des colonies bactériennes, typage des <i>Salmonella</i>	51
1.7.6. Kits syndromiques de PCR multiplex	53
1.7.7. Interprétation du résultat	56
1.8. Prévention des infections à <i>Salmonella</i>	56
1.8.1. Mesures d'hygiène, précautions alimentaires	56
1.8.2. Vaccination contre la fièvre typhoïde	57
2. <i>Salmonella</i> spp et antibiotiques	59
2.1. Stratégie thérapeutique de l'infection à <i>Salmonella</i> spp : recommandations	59
2.1.1. Infections à salmonelles mineures	59
2.1.2. Infections à salmonelles majeures	61
2.2. <i>Salmonella</i> spp et résistances aux antibiotiques	62
2.2.1. Rappel : détermination de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique	62
2.2.2. Historique des résistances de <i>Salmonella</i> spp aux antibiotiques	64
2.2.3. Épidémiologie actuelle des résistances en France	66
2.2.4. Mécanismes de résistance de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques : fluoroquinolones	70
2.2.5. Mécanismes de résistance de <i>Salmonella</i> aux antibiotiques : C3G	71
2.3. Azithromycine et <i>Salmonella</i> spp	72
2.3.1. Azithromycine : pharmacologie	73

2.3.2.	Place de l'azithromycine dans les infections à <i>Salmonella</i> spp	76
2.3.3.	Mécanismes de résistance des salmonelles à l'azithromycine	80
Travail expérimental		83
1.	Matériel et méthodes	83
1.1.	Recueil de données	83
1.2.	Identification et conservation des souches de <i>Salmonella</i>	84
1.3.	Réalisation des CMI de l'azithromycine.....	86
2.	Résultats.....	87
2.1.	Types de prélèvements	87
2.2.	Sérotypes des souches	88
2.3.	Services prescripteurs	93
2.4.	Âges des patients	93
2.5.	Symptomatologie	94
2.6.	Enquête étiologique	96
2.7.	Données d'antibiothérapie.....	98
2.8.	Résistance aux C3G et fluoroquinolones.....	100
2.9.	Résistance à l'azithromycine	102
Discussion		104
Conclusion.....		108
Annexes		109
Annexe 1 : Contexte clinique et épidémiologique retrouvé lors de l'isolement de souches de <i>Salmonella</i> spp mineures à partir d'hémocultures		109
Annexe 2 : Sérotypes de <i>Salmonella</i> isolés entre 2016 et 2021 au CHU de Toulouse, prélèvements associés.....		112
Bibliographie.....		117

Liste des figures

Figure 1 : Coloration de Gram, <i>Salmonella</i> Typhi (photo : microbe-canvas.com)	21
Figure 2 : Classification des bactéries du genre <i>Salmonella</i> : principales espèces et sous-espèces (1) 23	
Figure 3 : Taux d'incidence pour 100 000 personnes des fièvres typhoïde et paratyphoïde, par pays, en 2017 (12).....	29
Figure 4 : Répartition géographique de la salmonellose en France au cours de l'année 2020 (14)	30
Figure 5 : Incidence régionale des salmonelloses pour 100 000 habitants au cours de l'année 2020 (14)	31
Figure 6 : Évolution des sérotypes principaux de <i>Salmonella</i> isolés en pathologie humaine, entre 1988 et 2020 (14)	34
Figure 7 : Reconnaissance des souches de salmonelles mineures par le système immunitaire inné de l'hôte (24)	38
Figure 8 : Physiopathologie de l'infection à <i>Salmonella</i> spp (26)	39
Figure 9 : Perforation iléale d'origine typhique (photo : ePilly® 2022) (9)	43
Figure 10 : Culture de <i>Salmonella</i> sur une gélose Hektoen	50
Figure 11 : Algorithme simplifié d'identification des colonies sur gélose sélective.....	51
Figure 12 : Détermination de la CMI en milieu liquide (82).....	63
Figure 13 : Détermination de la CMI par bandelette E-test® (83)	64
Figure 14 : Structure chimique des macrolides (108)	74
Figure 15 : Distribution des CMI de l'azithromycine pour 696 souches de <i>Salmonella</i> enterica non Typhi humaines, animales et alimentaires (125).....	78
Figure 16 : Distribution des CMI de l'azithromycine pour 1 237 souches de <i>S. enterica</i> recueillies chez des patients sur 6 ans (128).....	79
Figure 17 : Culture de <i>Salmonella</i> spp sur une gélose BCP	84
Figure 18 : Exemple d'identification de <i>Salmonella</i> spp obtenue au cours du travail expérimental....	85
Figure 19 : Sites d'isolement des salmonelles majeures et mineures isolées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021	88
Figure 20 : Sérotypes des <i>Salmonella</i> spp isolées en 2016 au CHU de Toulouse, sur un total de 76 souches	89
Figure 21 : Sérotypes des <i>Salmonella</i> spp isolées en 2017 au CHU de Toulouse, sur un total de 59 souches	90

Figure 22 : Sérotypes des <i>Salmonella</i> spp isolées en 2018 au CHU de Toulouse, sur un total de 98 souches	90
Figure 23 : Sérotypes des <i>Salmonella</i> spp isolées en 2019 au CHU de Toulouse, sur un total de 74 souches	91
Figure 24 : Sérotypes des <i>Salmonella</i> spp isolées en 2020 au CHU de Toulouse, sur un total de 75 souches	91
Figure 25 : Sérotypes des <i>Salmonella</i> spp isolées en 2021 au CHU de Toulouse, sur un total de 65 souches	92
Figure 26 : Évolution des principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> isolés de patients au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021	92
Figure 27 : Services prescripteurs majoritaires des coprocultures ayant retrouvé <i>Salmonella</i> spp entre 2016 et 2021	93
Figure 28 : Âges des patients à partir desquels les souches de <i>Salmonella</i> de l'étude ont été isolées entre 2016 et 2021	94
Figure 29 : Nombre de patients ayant présenté les symptômes diarrhée, vomissements et fièvre (toutes souches de <i>Salmonella</i> confondues)	94
Figure 30 : Proportion des symptômes de diarrhée, de vomissements et de fièvre selon la souche de <i>Salmonella</i> considérée (majeure ou mineure).....	95
Figure 31 : Nombre de patients pour lesquels une notion de voyage (24% des patients chez qui l'information a été recherchée), un cas similaire dans l'entourage (33%), un repas considéré comme à l'origine des symptômes (31%) ou un NAC au domicile (5%) ont été identifiés (toutes souches confondues)	97
Figure 32 : Étiologies retrouvées selon la souche de <i>Salmonella</i> considérée (majeure ou mineure) ..	98
Figure 33 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiothérapie probabiliste des salmonelloses majeures et mineures.....	99
Figure 34 : Antibiotiques utilisés après identification des souches de <i>Salmonella</i> pour les salmonelloses majeures et mineures.....	99
Figure 35 : Évolution des résistances aux C3G (céfotaxime et/ou ceftriaxone et/ou ceftazidime) et aux FQ (ofloxacine et/ou ciprofloxacine) au CHU de Toulouse entre les années 2016 et 2021.....	101
Figure 36 : Distribution des CMI de l'azithromycine au CHU de Toulouse entre 2016 et 202.....	103

Liste des tableaux

Tableau 1 : Anciennes et nouvelles désignation des groupes O de <i>Salmonella</i> spp.....	24
Tableau 2 : Composition des antigènes H e,n,x et H e,n,z15 des espèces et sous-espèces de <i>Salmonella</i> spp	25
Tableau 3 : Caractères biochimiques différentiels des espèces et sous-espèces de <i>Salmonella</i>	26
Tableau 4 : Spécificités d’hôtes des principaux sérotypes de <i>Salmonella</i> spp et pathogénicité chez leurs hôtes principaux	28
Tableau 5 : Répartition des <i>Salmonella</i> par sites de prélèvements de 2016 à 2020 (souches reçues et typées au CNR-ESS).....	32
Tableau 6 : Distribution des infections à <i>Salmonella</i> par tranches d’âge de 2016 à 2020 (souches reçues et typées au CNR-ESS).....	32
Tableau 7 : Principaux mécanismes des diarrhées bactériennes et pathogènes associés	37
Tableau 8 : Complications de la fièvre typhoïde.....	44
Tableau 9 : Recommandations relatives aux circonstances justifiant la réalisation d’une coproculture	46
Tableau 10 : Comparatif des kits de biologie moléculaire multiplex syndromiques et des pathogènes qu’ils détectent.....	55
Tableau 11 : Vaccins contre la fièvre typhoïde disponibles en France	58
Tableau 12 : Schéma d’administration des antibiotiques recommandés en France dans le traitement des salmonelloses digestives	60
Tableau 13 : Schémas thérapeutiques utilisables dans le traitement de la fièvre typhoïde	62
Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques de souches de <i>Salmonella</i> étudiées au CNR-ESS entre 2018 et 2020.....	67
Tableau 15 : Classification structurale des macrolides.....	73
Tableau 16 : Mutations identifiées dans les protéines L4 et L22, CMI associées	81
Tableau 17 : Interprétations des scores d’identification obtenus au MALDI Biotyper®	85
Tableau 18 : Types de prélèvements à partir desquels les souches de <i>Salmonella</i> spp ont été isolées chaque année	87
Tableau 19 : Proportion des souches majeures et mineures isolées entre 2016 et 2021 au CHU de Toulouse	89
Tableau 20 : Nombre de souches de <i>Salmonella</i> spp testées chaque année pour les C3G et les FQ. 100	

Tableau 21 : Proportion de souches de *Salmonella* spp résistantes aux C3G et aux FQ entre 2016 et 2021 101

Tableau 28 : CMI moyennes, minimales et maximales de l'azithromycine pour les souches de *Salmonella* spp isolées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021..... 102

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AGC : *American College of Gastroenterology*

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : ARN messenger

ARNr : ARN ribosomique

BCP : BromoCrésol Pourpre

BGN : Bacilles à Gram Négatif

C3G : Céphalosporines de 3^{ème} Génération

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CLSI : *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CNR : Centre National de Référence

CNR-ESS : Centre National de Référence *Escherichia coli, Salmonella, Shigella*

dt : d-tartrate

EAEC : *Escherichia coli* entéro-aggrégatifs

ECOFF : *Epidemiological Cutoff Value*

EHEC : *Escherichia coli* entérohémorragiques

EIEC : *Escherichia coli* entéro-invasifs

EPEC : *Escherichia coli* entéro-pathogènes

ETEC : *Escherichia coli* entérotoxinogènes

EUCAST : *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

BLSE : Beta-Lactamase de Spectre Étendu

FDA : *Food and Drug Administration*

FQ : fluoroquinolones

GEA : Gastro-entérite aigüe

HE : Hektoen

FDA : *Food and Drug Administration*

IDSA : *Infectious Diseases Society of America*

IFN gamma : Interféron gamma

IL-6 : Interleukine 6

LIA : *Lysin Iron Agar*

LPS : Lipopolysaccharide

MALDI-TOF MS : *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight Mass Spectrometry*

MDR : *Multi Drug Resistant*

MLST : *Multilocus Sequence Typing*

MS : *Mass Spectrometry*

NAC : Nouveaux Animaux de Compagnie

NLRC4 : *Nucleotide-binding domain Leucin-rich Repeat containing-4*

NS : Non Significatif

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OR : *Odds Ratio*

PCR : *Polymerase Chain Reaction*

PLP : Protéines Liant les Pénicillines

QRDR : *Quinolone Resistance Determining Regions*

REMIC : Référentiel en Microbiologie Médicale

SGI1 : *Salmonella Genomic Island 1*

SHU : Syndrome Hémolytique et Urémique

SS : gélose *Salmonella-Shigella*

STEC : *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxine

T3SS-1 : *Type III Secretion System*

TIAC : Toxi-Infection Alimentaire Collective

TLR : *Toll Like Receptor*

TNF : *Tumor Necrosis Factor*

TNF-R : *Tumor Necrosis Factor-Receptor*

TSI : *Triple Sugar Iron*

UFC : Unités Formant Colonies

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

WGS : *Whole-Genome Sequencing*

WT : *Wild Type*

XDR : *Extensively Drug Resistant*

XLD : Xylose-Lysine-Deoxycholate

Introduction

Les salmonelles sont des entérobactéries à l'origine d'un spectre varié de pathologies chez l'humain. Les salmonelles mineures entraînent un syndrome gastro-entéritique, la salmonellose étant la deuxième cause de diarrhée bactérienne en France après la campylobactériose. Les salmonelles majeures, de sérotypes Typhi, Paratyphi A, B et C, sont à l'origine des fièvres typhoïde et paratyphoïde qui restent une cause importante de mortalité dans les pays en voie de développement.

Lorsqu'une antibiothérapie est nécessaire pour traiter une infection à *Salmonella*, les molécules utilisées en première intention sont l'azithromycine, les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) comme la ceftriaxone ou le céfotaxime et les fluoroquinolones (FQ) comme la lévofloxacine ou la ciprofloxacine. Cependant, les souches de salmonelles ont acquis diverses résistances aux C3G et aux quinolones. Ces résistances, décrites dans la littérature, sont actuellement en augmentation. L'azithromycine est une molécule de choix dans le traitement des salmonelloses, notamment dans les formes digestives de la pathologie, en raison de son utilisation possible par voie orale à l'inverse des C3G. De plus, les salmonelloses digestives concernent notamment la population pédiatrique, chez qui l'azithromycine peut être utilisée plus simplement que les FQ en raison de sa meilleure tolérance sur le plan des effets indésirables. Son spectre d'activité antibactérienne étant plus étroit que celui des C3G et des FQ, elle exerce une pression de sélection inférieure sur les bactéries ce qui limite le risque d'antibiorésistance. Les données actuelles de la littérature indiquent une faible proportion des résistances à l'azithromycine chez les salmonelles, mais ces résistances restent peu étudiées. L'objectif de ce travail est donc de réaliser un état des lieux de la résistance des salmonelles majeures et mineures à l'azithromycine au CHU de Toulouse, sur les années 2016 à 2021.

Revue de la littérature

1. Rappels sur *Salmonella* spp

1.1. Caractéristiques générales

Les bactéries du genre *Salmonella* sont à l'origine de pathologies diverses chez l'Homme, allant d'un portage asymptomatique jusqu'à la fièvre typhoïde. Ces bactéries sont caractérisées par leur aptitude à métaboliser le citrate comme source de carbone et la lysine comme source d'azote, ainsi que leur aptitude à produire du sulfure d'hydrogène (1). Les salmonelles sont des bacilles à Gram négatif, intracellulaires facultatifs, non sporulés, souvent mobiles à l'aide d'une ciliature péritriche. Sur le plan biochimique, ces bactéries sont oxydase négatives, ont la capacité de fermenter le glucose et possèdent une nitrate réductase (2).

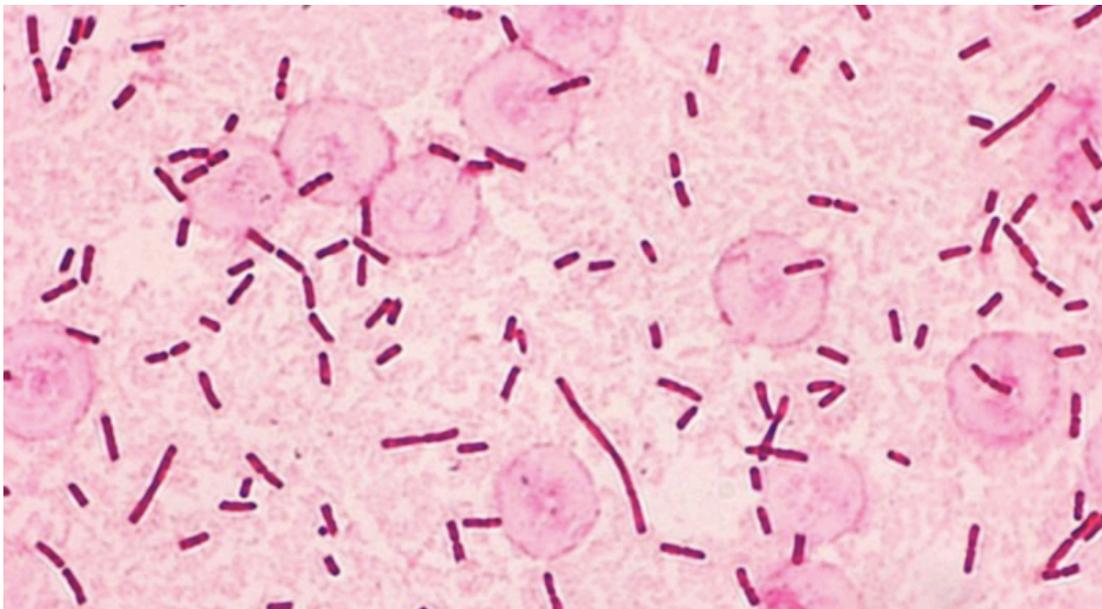


Figure 1 : Coloration de Gram, *Salmonella Typhi* (photo : microbe-canvas.com)

1.2. Taxonomie

Les salmonelles sont des bactéries de la classe des *Gammaproteobacteria*, appartenant à l'ordre des *Enterobacterales* et à la famille des *Enterobacteriaceae*. La classification la plus récente des salmonelles repose sur des méthodes moléculaires et sépare le genre *Salmonella* en deux espèces principales : *Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. *Salmonella enterica* est elle-même classée en six sous-espèces (subsp.), anciennement sous-genres (I, II, IIIa, IIIb, IV et VI) (3) :

- *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (I)

- *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (II)
- *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (IIIa)
- *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb)
- *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* (IV)
- *Salmonella enterica* subsp. *indica* (VI)

Les sous-espèces de *Salmonella* sont ensuite divisées en plus de 2500 sérovars à partir d'un sérotypage selon le schéma de Kauffmann-White-Le Minor, basé sur les antigènes somatiques (O), flagellaires (H) et capsulaires (Vi) (4). Chaque sérotype a une combinaison unique d'antigène O et d'antigènes flagellaires.

1.2.1. Sérovars de *Salmonella* : désignation par noms

L'appellation des sérovars de *Salmonella* spp a changé dans le temps. Certains noms indiquaient un syndrome (par exemple, *Salmonella* Typhi), d'autres un syndrome associé à une spécificité d'hôte confirmée (*S. abortus-ovis*, *S. abortus-equi*) ou s'étant finalement avérée erronée dans d'autres cas (*S. typhi-murium*).

Afin d'éviter ce type de confusion, les noms des sérovars ont par la suite désigné l'origine géographique de la première souche isolée du nouveau sérovar. Ces noms étaient écrits en italique et ainsi considérés à tort comme des noms d'espèces. Dans les autres espèces bactériennes (comme *Escherichia coli*), aucun nom n'est attribué aux sérovars, qui sont identifiés par leur formule antigénique. Cependant, les noms des sérovars de *Salmonella* les plus fréquemment rencontrés en pathologie humaine sont familiers aux cliniciens, c'est pour cette raison qu'ils sont conservés pour les souches de *Salmonella enterica* subsp *enterica* (représentant 99,5% des souches isolées chez l'Homme). Ils ne doivent plus être écrits en italique, et leur première lettre est une majuscule (par exemple, *Salmonella enterica* subsp *enterica* sérovar Typhimurium). Les sérovars des autres sous-espèces de *Salmonella enterica* et ceux de *Salmonella bongori* sont désignés par leur formule antigénique (5).

Le schéma ci-dessous représente les deux espèces de *Salmonella*, les 6 sous-espèces de *S. enterica* et un exemple de séparation des sérovars en deux catégories : les sérovars typhiques et non typhiques. *Salmonella bongori* est plus fréquemment isolée d'animaux à sang froid et de sources environnementales, elle est rarement à l'origine d'infections (1).

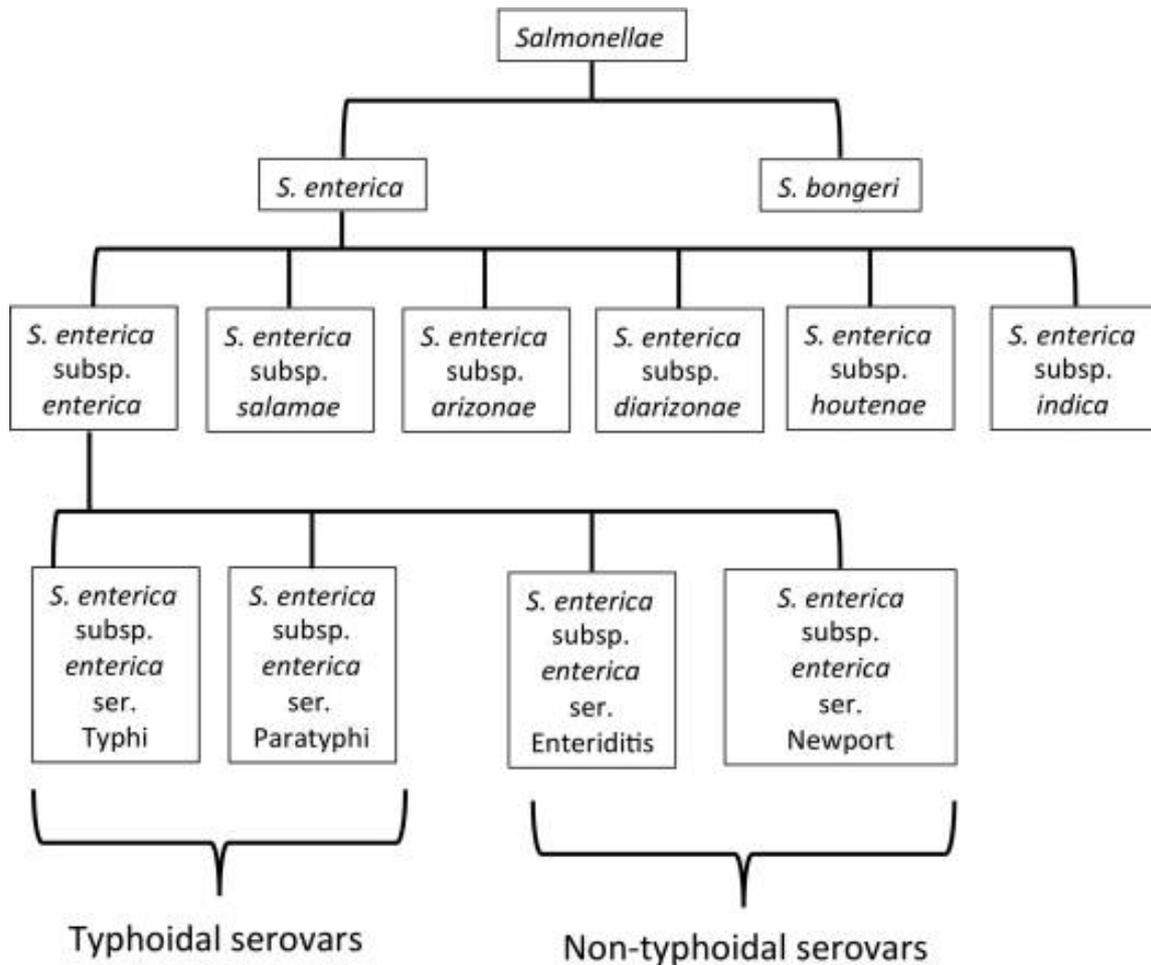


Figure 2 : Classification des bactéries du genre Salmonella : principales espèces et sous-espèces (1)

1.2.2. Sérovars de Salmonella : désignation par formule antigénique

Les souches typhiques de *Salmonella* (*Salmonella enterica* sérotype Typhi) sont généralement positives pour les antigènes lipopolysaccharidiques O9 et O12, l'antigène flagellaire Hd et l'antigène de capsule polysaccharidique Vi. Cet antigène Vi peut également être retrouvé dans quelques souches de *S. enterica* sérotype Hirschfeldii (Paratyphi C) et Dublin, et chez la bactérie *Citrobacter freundii* (6). Les souches négatives pour l'antigène Vi sont moins infectieuses et moins virulentes que celles porteuses de cet antigène capsulaire. Un type unique de flagelle, nommé Hj, est présent dans certaines souches du sérotype Typhi isolées en Indonésie. Ce sérotype est associé à une forme moins invasive de la maladie, ce qui suggère que les propriétés flagellaires des salmonelles sont une composante de la virulence de *Salmonella* Typhi (7).

Les personnes ayant contribué à l'élaboration d'une liste exhaustive de sérovars reconnus de *Salmonella* spp et la période sur laquelle ils y ont participé sont les suivantes :

- F. Kauffmann (*Statens Serum Institut*, Copenhague, Danemark) : 1934-1965
- L. Le Minor (Institut Pasteur, Paris) : 1965-1989
- M.Y. Popoff (Institut Pasteur, Paris) : 1989-2003
- P.A.D. Grimont et F.-X. Weill (Institut Pasteur, Paris) : 2003-2007

Les premiers groupes O isolés étaient désignés par des lettres de l'alphabet, puis par des chiffres de 1 à 57. Chaque groupe O est maintenant désigné par le facteur O caractéristique et les lettres sont provisoirement conservées entre parenthèses (par exemple, O:4 (B)). Le tableau ci-dessous résume les anciennes et nouvelles désignations des groupes O :

Ancienne	Nouvelle	Ancienne	Nouvelle	Ancienne	Nouvelle
A	2	G ₁ -G ₂	13	Q	39
B	4	H	6,14	R	40
C ₁ -C ₄	6,7	I	16	S	41
C ₂ -C ₃	8	J	17	T	42
D ₁	9	K	18	U	43
D ₂	9,46	L	21	V	44
D ₃	9,46,27	M	28	W	45
E ₁ -E ₂ -E ₃	3,10	N	30	X	47
E ₄	1,3,19	O	35	Y	48
F	11	P	38	Z	50

Tableau 1 : Anciennes et nouvelles désignation des groupes O de Salmonella spp (5)

Les formules des antigènes flagellaires (H) sont représentées par les complexes e,n,x et e,n,z₁₅. La plupart des phases e,n,x de *S. enterica* subsp. *enterica* contiennent les deux facteurs x et z₁₆ (formule développée : e,n,x,z₁₆). Le facteur x n'existe jamais chez les souches des sous-espèces *salamae* et *diarizonae*. Toutes les phases e,n,z₁₅ ont également le z₁₇.

Le facteur z₁₇ n'existe jamais avec une phase e,n,x,z₁₅ (5). La composition des antigènes flagellaires H des principales sous-espèces de *Salmonella* spp est résumée dans le Tableau 2.

<i>Salmonella</i>	Formule H du schéma	Facteurs H réels	Facteur x présent
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	e,n,x	e,n,x,z ₁₆	+
	e,n,x	e,n,x,z ₁₇ (très rare)	+
	e,n,z ₁₅	e,n,z ₁₅ ,z ₁₇	-
	e,n,x,z ₁₅	e,n,z ₁₅ ,z ₁₆	-
<i>S. enterica</i> subsp. <i>salamae</i>	e,n,x	e,n,z ₁₆	-
	e,n,z ₁₅	e,n,z ₁₅ ,z ₁₇	-
	e,n,x,z ₁₅	e,n,z ₁₅ ,z ₁₆	-
<i>S. enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	e,n,x	e,n,z ₁₆	-
	e,n,x,z ₁₅	e,n,z ₁₅ ,z ₁₆	-
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	e,n,x	e,n,x,z ₁₇	+
<i>S. enterica</i> subsp. <i>indica</i>	e,n,x	e,n,x,z ₁₇	+
<i>S. bongori</i>	e,n,z ₁₅	e,n,z ₁₅ ,z ₁₇	-

Tableau 2 : Composition des antigènes H e,n,x et H e,n,z₁₅ des espèces et sous-espèces de Salmonella spp (5)

1.2.3. Caractéristiques biochimiques des *Salmonella* spp

Historiquement, des noms différents ont été donnés à des sérovars ayant la même formule antigénique mais différant par leurs caractéristiques biochimiques, leur pathogénicité ou leur habitat. Les espèces et sous-espèces de *Salmonella* peuvent être différenciées par des critères biochimiques, résumés dans le Tableau 3 (5).

Les souches de *Salmonella enterica* sérotype Paratyphi B se différencient en fonction de leur capacité à fermenter le d-tartrate (dt). Les souches Paratyphi B sont dt-, et il existe un biotype dt+ nommé biotype Java, qui fermente le d-tartrate.

Espèce	<i>S. enterica</i>					<i>S. bongori</i>	
	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	
Caractères							
Dulcitol	+	+	-	-	-	d	+
ONPG (2 h)	-	-	+	+	-	d	+
Malonate	-	+	+	+	-	-	-
Gélatinase	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	+	-	+
Culture sur KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+)-tartrate(a)	+	-	-	-	-	-	-
Galacturonate	-	+	-	+	+	+	+
γ-glutamyltransférase	+ ^(*)	+	-	+	+	+	+
β-glucuronidase	d	d	-	+	-	d	-
Mucate	+	+	+	-(70%)	-	+	+
Salicine	-	-	-	-	+	-	-
Lactose	-	-	-(75%)	+(75%)	-	d	-
Lyse par le phage O1	+	+	-	+	-	+	d
Habitat de la majorité des souches	Animaux à sang chaud		Animaux à sang froid et environnement				

(a) = *d*-tartrate.

(*) = Typhimurium d, Dublin -.

+ = 90 % ou plus de résultats positifs.

- = 90 % ou plus de résultats négatifs.

d = résultats différents suivant les sérovars de la sous-espèce considérée.

Tableau 3 : Caractères biochimiques différentiels des espèces et sous-espèces de Salmonella (5)

1.2.4. Nombre de sérovars dans chaque espèce et sous-espèce

La première publication du schéma de Kauffmann-White contenait 44 sérovars. A son départ, il en contenait 958. Au départ de L. Le Minor puis de M.Y. Popoff, le schéma contenait respectivement 2267 et 2555 sérovars. L. Le Minor ayant majoritairement contribué à l'identification des sérovars de *Salmonella* spp, le schéma actuel des formules antigéniques se nomme « schéma de Kauffmann-White-Le Minor » et comprend les nombres suivants de sérovars dans chaque espèce et sous-espèce (5) :

- *Salmonella enterica* : 2557
 - o *S. enterica* subsp. *enterica* : 1531
 - o *S. enterica* subsp. *salamae* : 505
 - o *S. enterica* subsp. *arizonae* : 99
 - o *S. enterica* subsp. *diarizonae* : 336
 - o *S. enterica* subsp. *houtenae* : 73
 - o *S. enterica* subsp. *indica* : 13

- *Salmonella bongori* : 22
- Nombre total : 2579

1.3. Spécificités d'hôtes des *Salmonella*

La plupart des souches de *Salmonella* identifiées chez l'humain appartiennent à l'espèce *S. enterica* subsp. *enterica* : elle est retrouvée dans 99% des infections à *Salmonella* chez l'Homme. Les sérotypes responsables de fièvre typhoïde comme *Salmonella* Typhi et Paratyphi ne sont habituellement pas pathogènes chez l'animal, alors que certains sérotypes retrouvés chez les animaux comme *S. Gallinarum* (isolé chez la volaille) ou *S. Abortusovis* (retrouvé chez le mouton) peuvent entraîner des symptômes modérés chez l'humain (8).

Certaines salmonelles restreintes à des réservoirs zoonotiques peuvent occasionnellement infecter l'Homme et entraîner des infections sévères, avec une diffusion systémique de la bactérie. Il s'agit de *Salmonella* Derby et Choleraesuis retrouvées chez le porc, *Salmonella* Saintpaul retrouvée chez la volaille, et *Salmonella* Dublin retrouvée chez les bovins (1) (8).

Les sérovars *Salmonella* Typhimurium et *Salmonella* Enteritidis passent de l'Homme aux réservoirs animaux sans difficulté, ce qui explique en partie leur prévalence élevée en pathologie humaine (1) (8). Les spécificités d'hôtes des différentes salmonelles ainsi que la pathogénicité chez leur hôte principal sont résumées dans le Tableau 4.

Sérotype de <i>Salmonella</i> spp	Hôtes principaux	Pathogénicité
Typhi	Homme	Bactériémie, fièvre
Paratyphi	Homme	Bactériémie, fièvre
Typhimurium	Homme, bovins, porcins, chevaux, ovins, volailles, rongeurs	Gastro-entérite, bactériémie, fièvre
Enteritidis	Homme, volaille, rongeurs	Gastro-entérite, bactériémie, fièvre
Dublin	Bovins, porcins, ovins	Gastro-entérite, bactériémie, fièvre, avortements
Derby	Oiseaux, porcins	Gastro-entérite, bactériémie
Gallinarum	Volaille	Gastro-entérite, bactériémie
Abortusovis	Ovins	Bactériémie, avortements
Abortusequi	Chevaux	Bactériémie, avortements
Choleraesuis	Porcins	Bactériémie, fièvre

Tableau 4 : Spécificités d'hôtes des principaux sérotypes de Salmonella spp et pathogénicité chez leurs hôtes principaux

1.4. Épidémiologie

1.4.1. Épidémiologie mondiale des diarrhées

Les syndromes diarrhéiques représentent un problème majeur de santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 1,7 milliard de personnes dans le monde contractent une diarrhée chaque année. Ces diarrhées seraient responsables de 525 000 décès par an chez les enfants de moins de 5 ans, pour qui il s'agit de la 2^{ème} cause de mortalité (après les infections respiratoires).

La diarrhée est également l'une des principales causes de malnutrition chez l'enfant de moins de 5 ans. Dans les pays à faibles ressources économiques, chaque enfant de moins de 3 ans est sujet à 3 épisodes par an en moyenne (9). Un tiers des diarrhées infectieuses semblent transmises par les aliments, et une proportion plus importante des salmonelles semble être d'origine alimentaire, en comparaison aux autres pathogènes bactériens responsables de diarrhées (10).

1.4.2. Épidémiologie des salmonelloses

1.4.2.1. Épidémiologie mondiale

Le nombre de cas de salmonelloses causées par des salmonelles mineures est estimé à environ 100 millions par an, avec 180 000 décès associés, observés principalement dans les zones endémiques qui sont des pays en voie de développement (11). L'étude *Global Burden of Diseases* (GBD) estime en 2017 une incidence allant de 12 millions à 27 millions de cas par an pour les fièvres typhoïde et paratyphoïde. Les estimations de mortalité sont entre 129 000 et 223 000 décès par an (12).

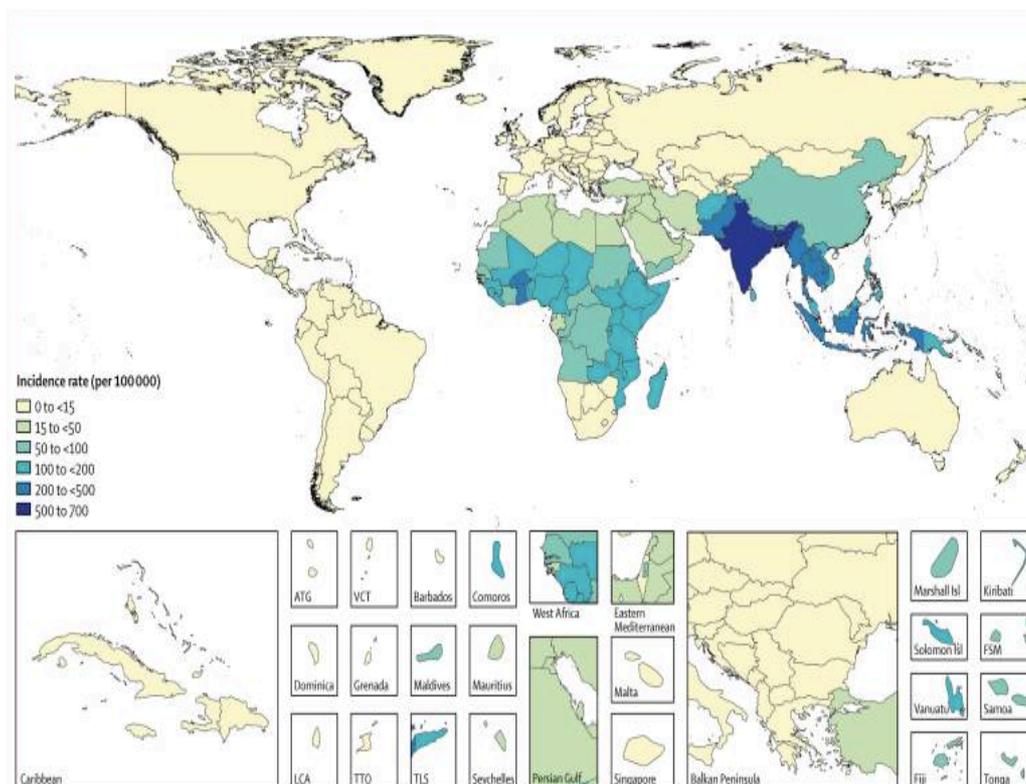


Figure 3 : Taux d'incidence pour 100 000 personnes des fièvres typhoïde et paratyphoïde, par pays, en 2017 (12)

1.4.2.2. Épidémiologie en France

En France, les salmonelloses sont la deuxième cause de gastro-entérite aigüe après la campylobactériose (13). Le CNR *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* (CNR-ESS) assure la surveillance microbiologique des maladies entériques transmissibles, telles que la dysentérie bacillaire, la shigellose, le syndrome hémolytique et urémique (SHU), les diarrhées dues aux *E. coli* entérohémorragiques (EHEC), les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC), ainsi que la surveillance des fièvres typhoïde et paratyphoïde et des salmonelloses communautaires et hospitalières. Le dernier rapport du CNR-ESS, en date de l'année 2020, a répertorié 8 793 isoléments de *Salmonella* spp contre 10 305 en 2019. Parmi elles, 7 181 souches ont été incluses dans les données épidémiologiques de 2020. 77 toxi-infections alimentaires ont été détectées au cours de cette année (14).

Les cartes ci-dessous ont été réalisées par Santé Publique France à partir des données du CNR-ESS recueillies sur l'année 2020. Elles représentent le nombre de cas de salmonelloses en France sur les différentes régions, et l'incidence pour 100 000 habitants (14).

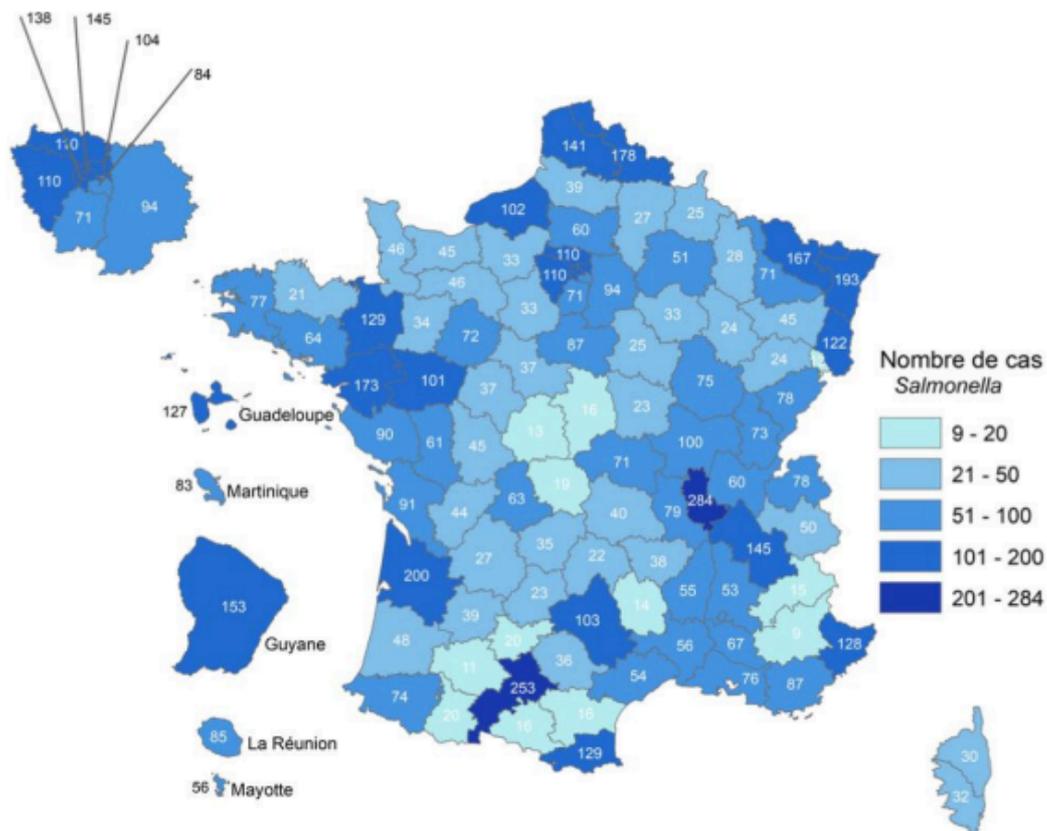


Figure 4 : Répartition géographique de la salmonellose en France au cours de l'année 2020 (14)

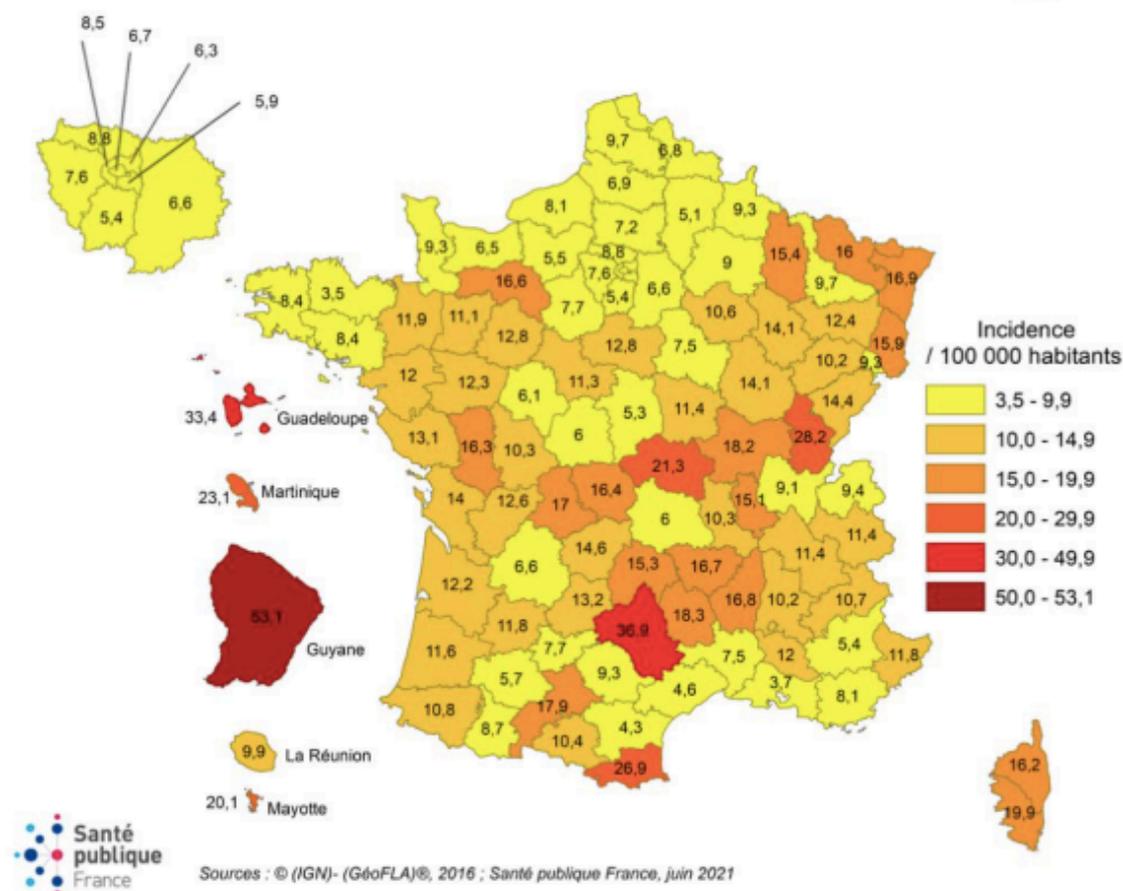


Figure 5 : Incidence régionale des salmonelloses pour 100 000 habitants au cours de l'année 2020 (14)

La répartition des *Salmonella* par site de prélèvements est résumée dans le Tableau 5 pour les années 2016 à 2021. Les salmonelles ont été isolées en majorité à partir des selles, pour les 5 années consécutives. Le deuxième site le plus fréquent à partir duquel des *Salmonella* ont été identifiées est le sang, le pourcentage renseigné dans le tableau tenant compte uniquement des sérotypes Typhi et Paratyphi A. Pour les souches non-Typhi et non Paratyphi A, B (dt-) et C, le pourcentage d'isolement à partir du sang était de 5,2% en 2016, 6,0% en 2017, 5,4% en 2018 et 2019 et 5,7% en 2020 (14).

Sites de prélèvement*	2016	2017	2018	2019	2020
	N (%)				
Selles	7 915 (87,5)	7 095 (86,9)	8 046 (88,0)	8 046 (87,3)	6301 (87,7)
Sang	616 (6,8) ¹	628 (7,7) ²	648 (7,1) ³	677 (7,3) ⁴	490 (6,8) ⁵
Urines	380 (4,2)	327 (4,0)	348 (3,8)	379 (4,1)	313 (4,4)
Pus	9 (0,1)	3 (0,1)	9 (0,1)	11 (0,1)	7 (0,1)
Bile	9 (0,1)	8 (0,1)	5 (0,05)	6 (<0,1)	11 (0,2)
LCR	3 (< 0,1)	1 (< 0,1)	2 (0,02)	6 (<0,1)	3 (< 0,1)
Autres	100 (1,1)	96 (1,2)	83 (0,9)	88 (0,9)	56 (0,8)
Inconnu	13 (0,1)	1 (< 0,1)	4 (0,1)	2 (<0,1)	0

Tableau 5 : Répartition des Salmonella par sites de prélèvements de 2016 à 2020 (souches reçues et typées au CNR-ESS) (14)

Les infections à *Salmonella* entre 2016 et 2020 se sont majoritairement produites chez des personnes appartenant à la tranche d'âge 15-64 ans.

Classes d'âge*	2016	2017	2018	2019	2020
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<1 an	498 (5,5)	514 (6,3)	612 (6,7)	508 (5,5)	444 (6,2)
1-5 ans	1 976 (21,9)	1 939 (23,8)	1 826 (20,0)	1 800 (19,5)	1469 (20,5)
6-14 ans	1 143 (12,6)	974 (11,9)	1 177 (12,9)	1 147 (12,4)	989 (13,8)
15-64 ans	3 749 (41,5)	3 226 (39,5)	3 798 (41,5)	3 962 (43,0)	2694 (37,5)
≥ 65 ans	1 671 (18,5)	1 506 (18,5)	1 731 (18,9)	1 797 (19,5)	1584 (22,1)
Inconnu	8 (< 0,1)	0	1 (< 0,1)	1 (<0,1)	1 (<0,1)

Tableau 6 : Distribution des infections à Salmonella par tranches d'âge de 2016 à 2020 (souches reçues et typées au CNR-ESS) (14)

De 2005 à 2015, le sérotype prédominant en France était *Salmonella* Typhimurium. Depuis 2016, le sérotype Enteritidis est le principal sérotype à l'origine des salmonelloses humaines, suivi par le variant monophasique de *S. Typhimurium* (1,4,[5],12:i:-). Le sérotype Kentucky est un sérotype associé à des souches hautement résistantes aux fluoroquinolones, son incidence est en forte diminution depuis 2019.

Certains sérotypes ont été identifiés comme liés à une source identifiée mais pour laquelle les mesures de prévention mises en place ne sont pas encore efficaces. Il s'agit par exemple de *Salmonella* Chester (filiale aviaire au Maroc), *Salmonella* Dublin (filiale bovine) et *Salmonella* Derby (filiale porcine) (14).

En France, la majorité des cas de fièvre typhoïde proviennent des pays en voie de développement, en lien avec les conditions sanitaires dans ces pays. Les cas de fièvre typhoïde concernent donc principalement les voyageurs en retour de zone d'endémie. Deux épidémies (de 7 à 10 cas) ont été identifiées à partir de lieux de restauration en 2003 et 2006, en lien avec des employés porteurs sains de la bactérie. En effet, après guérison clinique, 2 à 5% des individus restent porteurs de l'agent pathogène sans signes cliniques associés. Les bactéries sont alors périodiquement excrétées dans les selles et peuvent entraîner des infections dans l'entourage (13).

Le nombre d'infections dues au sérotype Typhi a augmenté entre 2017 et 2019 mais a connu une forte diminution en 2020, probablement en lien avec les mesures de santé publique et d'hygiène destinées à contrôler l'épidémie de SARS-CoV-2. Le CNR a observé à partir de 2018 une augmentation du nombre de souches de *Salmonella enterica* sérotype Typhi reçues avec une notion de voyage au Pakistan. La lutte contre le SARS-CoV-2 ayant imposé des restrictions strictes aux voyageurs internationaux, elle a joué un rôle primordial dans la diminution du nombre de cas importés de salmonellose en 2020. Cent soixante-quatorze souches de *Salmonella enterica* sérotype Typhi ont été répertoriées par le CNR au cours de l'année 2020, isolées chez 84 patients. Concernant le pays de contamination, 2 souches ont été isolées suite à un voyage en Afrique (une venant des Comores et une du Sénégal), aucune ne provenait d'Amérique, 6 provenaient d'Asie (une venant du Cambodge, 3 d'Inde et 2 du Pakistan), une venait de Suisse, 48 de France d'Outre-Mer (10 de Guyane, 38 de Mayotte), 17 de France (sans voyage effectué), et l'information de voyage était manquante pour 10 souches (14).

Concernant le sérotype Paratyphi A, 40 souches ont été répertoriées par le CNR en 2020 pour 19 patients. Aucune souche ne provenait d'Afrique, 16 souches ont été acquises suite à un voyage en Asie (8 venant du Cambodge, 4 d'Inde, 2 du Pakistan et 2 de Thaïlande), 1 souche provenait de France sans voyage effectué, et l'information de voyage manquait pour 2 souches. Une augmentation importante des cas de fièvre paratyphoïde à *Salmonella enterica* sérotype Paratyphi A avait été notée chez des touristes français au retour du Cambodge en 2013 et 2014. En 2020, dans le contexte de pandémie à SARS-CoV-2 et de restrictions aux voyageurs internationaux, le nombre de cas dus à ce sérotype a drastiquement diminué en France (14).

Cinq souches de *Salmonella enterica* sérotype Paratyphi B (dt-) ont été répertoriées au en 2020 CNR-ESS pour 4 patients, ainsi que 17 souches de sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+)

chez 14 patients. Aucune souche en provenance d’Afrique n’a été isolée, 1 souche venait d’Argentine, et 3 souches venaient de France sans notion de voyage chez les patients (14).

La Figure 6 représente l’évolution de l’épidémiologie des sérotypes principaux de *Salmonella* impliqués en pathologie humaine, entre 1988 et 2020.

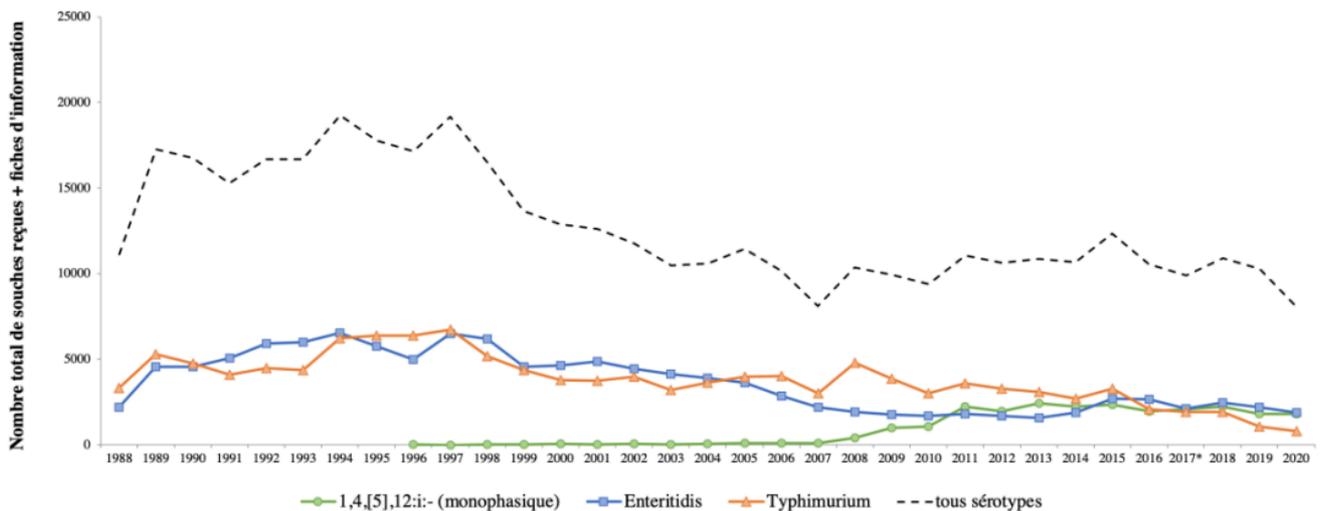


Figure 6 : Évolution des sérotypes principaux de *Salmonella* isolés en pathologie humaine, entre 1988 et 2020 (14)

1.5. Physiopathologie des infections à *Salmonella*

1.5.1. Mode de transmission des *Salmonella*

Les cas de gastro-entérite aigüe (GEA) à *Salmonella* sont le plus souvent observés après consommation d’aliments crus ou peu cuits (tels que de la viande, de la charcuterie, du lait cru, des œufs, certains fromages ou des aliments d’origine végétale mal lavés ou peu cuits). En raison de la pratique de l’épandage de fumiers animaux potentiellement contaminés par des salmonelles sur les produits de l’agriculture maraîchère, ces produits constituent une porte d’entrée majeure aux infections humaines. En effet, *Salmonella* est la principale bactérie impliquée dans les infections par consommation de fruits et légumes frais (15). À la fin des années 1980, une forte augmentation du nombre d’infections liées au sérotype Enteritidis a été observée en Europe suite à la contamination d’élevages de poules pondeuses. Les bactéries étaient présentes à la surface de la coquille de l’œuf mais également dans leur contenu (13). Certaines épidémies sont liées à la contamination de produits industriels (16) (17). Les salmonelloses d’origine alimentaire peuvent être à l’origine de foyers très importants, comme une épidémie due à la contamination de crèmes glacées aux États-Unis en 1994 qui avait atteint 224 000 personnes (13).

Les salmonelles peuvent également se transmettre à partir d'animaux domestiques de type NAC (Nouveaux Animaux de Compagnie), notamment les tortues, iguanes et hérissons, et à partir de la nourriture destinée aux animaux de compagnie (4) (18) (19). La majorité des reptiles sont des porteurs sains de *Salmonella* (13).

Dans le cas de la fièvre typhoïde, le réservoir est humain et les porteurs sains jouent un rôle dans la dissémination de la maladie. Il s'agit d'une maladie liée au péril fécal : la contamination se fait généralement par ingestion d'eau ou d'aliments ayant subi une contamination fécale (aliments manipulés par des porteurs de la bactérie), ou plus rarement par transmission directe de personne à personne (9) (13).

1.5.2. Physiopathologie des diarrhées bactériennes

La diarrhée est définie par l'IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) et l'AGC (*American College of Gastroenterology*) comme l'émission de 3 ou plus selles liquides par jour (4) (20). Les diarrhées sont ensuite classifiées en fonction de la durée des symptômes : les symptômes des diarrhées aiguës durent moins de 14 jours, ceux des diarrhées persistantes durent entre 14 jours et 1 mois, et les patients ayant des symptômes depuis plus de 30 jours sont atteints de diarrhée chronique (4).

1.5.2.1. Mécanisme toxinique/sécrétoire

Il s'agit d'une sécrétion excessive de fluides au niveau proximal de l'intestin, due à des toxines exprimées par des bactéries entérotoxigènes. Les bactéries à l'origine de ces diarrhées aqueuses sont *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* entérotoxigène (ETEC), *Escherichia coli* entéro-aggrégatif (EAEC), *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus* (4).

Le mécanisme toxinique ou sécrétoire est en lien avec l'action d'une toxine sur les entérocytes. La toxine peut être préformée au sein d'un aliment avant d'être ingérée, ou néoformée dans le tractus digestif suite à l'ingestion de l'aliment.

Les bactéries entérotoxigènes sont à l'origine d'un syndrome cholériforme entraînant des diarrhées sécrétoires. Elles adhèrent à la muqueuse de l'intestin grêle sans la pénétrer, et y modifient les mécanismes d'absorption ou de sécrétion des entérocytes. Les toxines produites peuvent par exemple stimuler la sécrétion d'eau et d'électrolytes, ce qui entraîne une fuite hydrique importante vers la lumière intestinale. La diarrhée observée dans ce syndrome est aqueuse en raison de l'absence de lésions tissulaires et de réaction inflammatoire au niveau de la muqueuse intestinale, qui provoquerait l'apparition de sang et de pus dans les selles. Cette diarrhée est généralement profuse, dite « en eau de riz » et est associée à une perte de poids et à un risque important de déshydratation en raison de l'excrétion massive d'eau qu'elle provoque (21).

1.5.2.2. Mécanisme entéro-invasif

Les bactéries présentant un mécanisme entéro-invasif envahissent l'épithélium ou la muqueuse intestinale. Ce mécanisme entraîne deux syndromes distincts (21) :

- Le syndrome dysentérique, dû à des bactéries comme *Shigella*, *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxine (STEC), également appelé *Escherichia coli* entéro-hémorragique (EHEC), *Escherichia coli* entéro-invasif (EIEC), *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium difficile*

Ces bactéries à l'origine d'un syndrome dysentérique envahissent les cellules épithéliales et se multiplient à l'intérieur, ce qui provoque la destruction des cellules ainsi que des dommages au niveau de la muqueuse digestive et une réaction inflammatoire locale à l'origine de l'émission de sang et de leucocytes dans les selles. Les diarrhées observées lors de ce syndrome sont donc glairo-sanglantes. Il existe un risque de dissémination de la bactérie dans l'organisme à partir du compartiment digestif, entraînant une réponse inflammatoire systémique et une hyperthermie chez le patient. Cette situation de sepsis peut amener à l'apparition de foyers bactériens secondaires et à une défaillance multiviscérale.

- Le syndrome gastro-entéritique, dû à des bactéries comme les salmonelles mineures, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* entéropathogène (EPEC)

Dans le syndrome gastro-entéritique, les bactéries vont traverser les entérocytes sans provoquer leur destruction. Cela induit une déstabilisation de l'épithélium ainsi qu'une réaction inflammatoire localisée, pouvant entraîner, dans une moindre mesure que le syndrome dysentérique, l'émission de sang et de glaires dans les selles. Il existe également un risque de bactériémie chez les sujets ayant un terrain à risque.

	Syndrome cholériforme	Syndrome dysentérique	Syndrome gastro-entéritique
Type de diarrhée	Diarrhée aqueuse	Diarrhée glairo-sanglante	Diarrhée aspécifique, pouvant être glairo-sanglante
Mécanisme	Entérotoxine modifiant les mécanismes d'excrétion et d'absorption d'eau et d'électrolytes au niveau intestinal	Envahissement des cellules épithéliales digestives, destruction de la muqueuse, syndrome inflammatoire majeur	Traversée des entérocytes sans destruction de la muqueuse, syndrome inflammatoire modéré
Principaux pathogènes	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Vibrio cholerae</i> ETEC, EAEC	<i>Shigella</i> EIEC, EHEC <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Clostridium difficile</i>	Salmonelles mineures <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Campylobacter</i> EPEC

Tableau 7 : Principaux mécanismes des diarrhées bactériennes et pathogènes associés

1.5.3. Particularités des infections à *Salmonella* spp

Les infections à *Salmonella* peuvent être séparées en deux groupes en fonction de la souche de *Salmonella* à l'origine de l'infection : les infections gastro-intestinales dues aux souches de *Salmonella* non typhiques, et les fièvres typhoïde et paratyphoïde en lien avec les *Salmonella* Typhi, Paratyphi A et C mais également avec certains variants de *Salmonella* Paratyphi B (4). Les souches de sérotype Paratyphi B dt- sont associées à des fièvres paratyphoïdes et celles de sérotype Paratyphi B sérotype Java (dt+) sont associées à de simples diarrhées.

1.5.3.1. Infections digestives à *Salmonella*

La sévérité de l'infection à *Salmonella* dépend de la quantité de bactéries inoculées, du sérotype à l'origine de l'infection et des prédispositions de l'hôte (4) (22) (23).

Pour pénétrer dans la muqueuse iléale et colique, les souches de salmonelles mineures utilisent un système de motilité médié par des flagelles et par le système de sécrétion associé à l'invasion de type III ou T3SS-1 (*type III secretion system*). Ce système de sécrétion est détecté par NLRC4, une protéine associée aux caspases qui permet *in fine* d'activer les polynucléaires neutrophiles. Un deuxième système de sécrétion (T3SS-2) leur permet ensuite de survivre dans les macrophages tissulaires. La présence de la bactérie peut être détectée par le système immunitaire inné de l'hôte via la détection de motifs moléculaires conservés, comme la flagelline bactérienne qui est reconnue par le *Toll-like-receptor* 5 (TLR-5). Une partie du lipopolysaccharide (LPS) bactérien est reconnue par un complexe de récepteurs TLR4/MD2/CD14, une autre est reconnue par le complément. L'ensemble des signaux générés par le système du complément, TLR5, TLR4/MD2/CD14 et NLRC4 orchestrent ainsi le recrutement des polynucléaires neutrophiles (24).

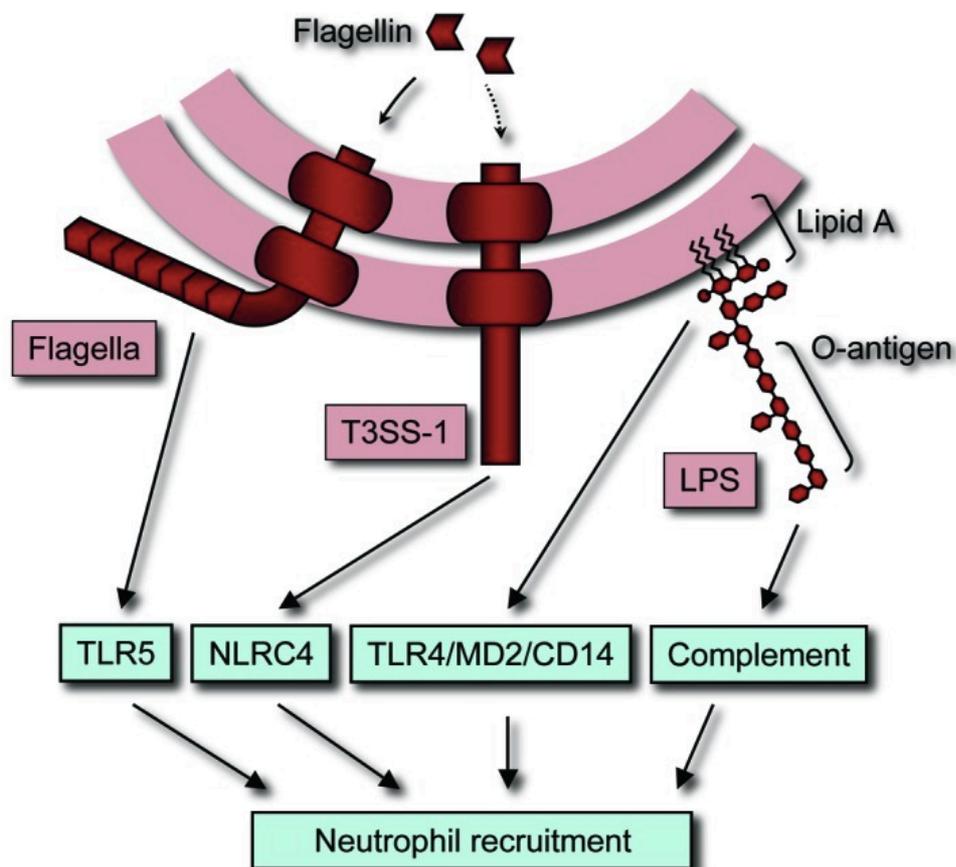


Figure 7 : Reconnaissance des souches de salmonelles mineures par le système immunitaire inné de l'hôte (24)

Un des mécanismes d'échappement des bactéries à la phagocytose par les polynucléaires neutrophiles est leur capacité de survie à l'intérieur des macrophages. Ils peuvent cependant détecter l'agent pathogène via NLRC4 et réagir en libérant des bactéries par un mécanisme de pyroptose, ce qui les expose aux polynucléaires neutrophiles (24). La pyroptose est un processus de mort cellulaire initié par les cellules eucaryotes. Également appelée mort

cellulaire dépendante de la caspase 1, elle est intrinsèquement inflammatoire et déclenchée par différents stimuli pathologiques, tels qu'un accident vasculaire cérébral ou un cancer. Elle est également cruciale pour contrôler les infections microbiennes (24).

Une fois au niveau de la muqueuse iléale et colique, les salmonelles mineures entraînent des dommages cytotoxiques et inflammatoires, à l'origine du syndrome gastro-entérique habituellement retrouvé dans les salmonelloses digestives. Celui-ci se traduit par des selles diarrhéiques parfois glairo-sanglantes.

1.5.3.2. Fièvre typhoïde

La dose infectieuse de *S. enterica* sérotype Typhi varie entre 1000 et 1 millions de micro-organismes (25). De la même manière que les salmonelles non typhiques, les souches de salmonelles majeures utilisent leurs flagelles et les systèmes T3SS-1 pour envahir l'épithélium intestinal et T3SS-2 pour survivre dans les macrophages (24). Les cellules M, des cellules épithéliales recouvrant les plaques de Peyer, sont le site supposé d'internalisation de *S. enterica* sérotype Typhi et de son transport jusqu'au tissu lymphoïde sous-jacent (26).

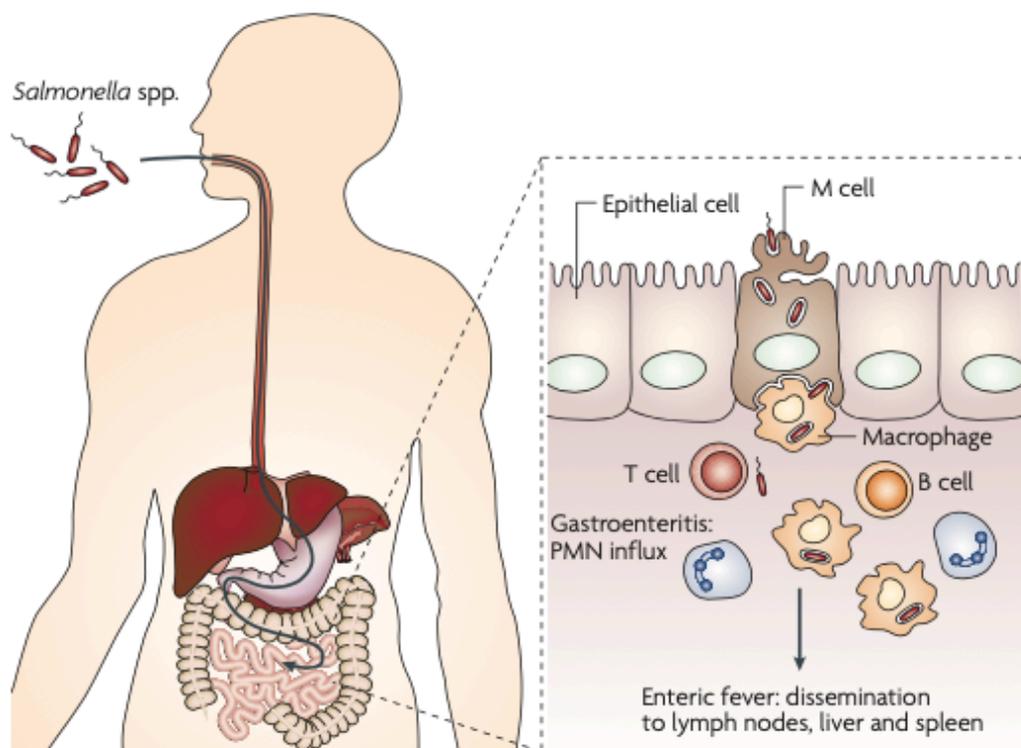


Figure 8 : Physiopathologie de l'infection à Salmonella spp (26)

Cependant, alors que le recrutement rapide des polynucléaires neutrophiles entraîne des symptômes de gastro-entérite dans les 24 heures suivant l'ingestion des souches non typhiques de salmonelles, *S. Typhi* n'évoque pas de réponse manifeste lors de l'invasion initiale de la muqueuse intestinale, comme l'indique sa période d'incubation moyenne de deux semaines. Cette pénétration de la barrière intestinale sans réaction inflammatoire marquée s'explique en partie par la présence de la capsule Vi chez les sérovars typhiques. L'antigène Vi interfère avec la détection du LPS en tant que motif moléculaire conservé et bloque la reconnaissance par le complexe TLR4/MD2/CD14, impliqué dans l'initiation de la réponse immunitaire innée. La capsule inhibe également l'attachement des anticorps aux bactéries et l'activation du complément qui en découle. Elle régule de manière négative la synthèse des protéines pro-inflammatoires et limite les phénomènes de pyroptose (24).

Après pénétration, les micro-organismes transloquent jusqu'aux follicules lymphoïdes intestinaux et aux ganglions lymphatiques, puis se retrouvent au niveau des cellules réticulo-endothéliales du foie et de la rate (6). Les salmonelles sont capables de survivre et de se multiplier dans les cellules phagocytaires des follicules lymphoïdes, du foie et de la rate (27). A un moment pouvant varier en fonction du nombre de bactéries, de leur virulence et de la réponse immunitaire de l'hôte (la période d'incubation peut durer 7 à 14 jours), les salmonelles sont libérées du milieu intracellulaire vers la circulation sanguine. Durant cette phase bactériémique, le microorganisme est largement diffusé au niveau anatomique. Les sites les plus courants de localisation secondaire sont le foie, la rate, la moelle osseuse, la vésicule biliaire et les plaques de Peyer de l'iléon. L'invasion de la vésicule biliaire peut se produire directement à partir du sang, ou par voie rétrograde à partir de la bile. Les microorganismes excrétés dans la bile pourront envahir à nouveau la paroi intestinale ou se retrouver dans les selles (6). La quantité de bactéries chez les patients atteints de fièvre typhoïde est estimée à 1 UFC (Unité Formant des Colonies) par millilitre de sang et 10 UFC/ml de moelle osseuse (28).

Bien que *Salmonella enterica* sérotype Typhi soit capable de produire une endotoxine puissante, la mortalité de la fièvre typhoïde chez les patients traités est inférieure à 1%. Sur le plan immunologique, des études montrent des taux élevés de marqueurs inflammatoires et de récepteurs de cytokines (interleukine 6 ou IL-6, interféron gamma ou IFN-gamma et *Tumor Necrosis Factor Receptor* ou TNF-R) chez les patients atteints de fièvre typhoïde en comparaison à des sujets sains. Pour des patients ayant une fièvre typhoïde prolongée, les taux de marqueurs inflammatoires restaient significativement plus élevés que ceux mesurés chez les sujets montrant une amélioration clinique sous traitement antibiotique (29). Une étude réalisée en population pédiatrique montre également des taux plasmatiques élevés de marqueurs pro-inflammatoires (IL-6 et TNF alpha) durant l'infection. Ces taux étaient corrélés à la gravité clinique quantifiée par un score. Des dosages montrent une diminution significative des taux d'IL-6 et de TNF alpha dans les 7 jours après initiation du traitement antibiotique. Ainsi, les taux de marqueurs pro-inflammatoires pourraient être corrélés à la gravité clinique et à la réponse au traitement antibiotique (30).

La fièvre typhoïde induit une réponse humorale locale et systémique ainsi qu'une réponse cellulaire. Cependant, ces dernières confèrent une protection immunitaire incomplète contre les rechutes et les réinfections (6). Les patients ayant un déficit de l'immunité cellulaire (par exemple, infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH)), ou une altération de la fonction des phagocytes présentent un risque plus élevé d'infection non invasive à *Salmonella* et de fièvre typhoïde (31). Un autre facteur de risque d'infection à *Salmonella* est la production diminuée d'acidité au niveau gastrique, retrouvée chez les patients d'âge avancé, ayant un antécédent de gastrectomie, ou prenant des médicaments anti-acide. En effet, afin d'accéder à l'intestin grêle pour provoquer la maladie, les salmonelles doivent survivre à l'acidité gastrique (6).

1.6. Clinique des salmonelloses

1.6.1. Infections digestives

Les sérovars non typhiques de *Salmonella* entraînent des symptômes tels qu'une diarrhée, des vomissements, une fièvre et des douleurs abdominales 12 à 72 heures après l'infection (32). Dans la plupart des cas, la maladie se résout spontanément en 4 à 7 jours mais, chez certains sujets à risque (notamment les personnes immunodéprimées), les bactéries peuvent diffuser en systémique et rejoindre d'autres sites anatomiques (1). Les manifestations extra-intestinales sont présentes dans 5% des cas. Il peut s'agir de bactériémies, d'arthrites septiques, d'infections du tractus urinaire et d'ostéomyélites (4) (33).

1.6.2. Fièvre typhoïde

La fièvre typhoïde est une maladie systémique causée par le sérotype Typhi de *Salmonella enterica* (6). Après pénétration via la muqueuse intestinale, les souches de salmonelles disséminent et causent une bactériémie transitoire, pouvant être associée à de la diarrhée. Une partie des individus atteints développe une fièvre typhoïde suite à cette dissémination hématogène.

1.6.2.1. Présentation clinique

Les manifestations cliniques de la fièvre typhoïde et sa sévérité varient selon la population concernée. La plupart des patients hospitalisés pour une fièvre typhoïde sont des enfants ou des adultes jeunes (6). Cependant, des études réalisées en zone d'endémie montrent que beaucoup de patients, en particulier des enfants de moins de 5 ans, ont une forme aspécifique de la maladie qui n'évoque pas cliniquement une fièvre typhoïde (34).

L'évolution naturelle de la fièvre typhoïde se déroule en 3 phases qui durent classiquement une semaine : la phase d'état, la phase d'invasion, et la phase de complications endotoxiniques (9). La contamination par *Salmonella enterica* sérotype Typhi est généralement suivie d'une période asymptomatique pouvant durer entre 7 et 14 jours.

La période d'invasion est marquée par une fièvre d'ascension progressive et une sensation de malaise. Les patients peuvent présenter des céphalées frontales, fixes, des nausées, une anorexie, des douleurs abdominales, une toux sèche et des myalgies (4) (6). Sur le plan digestif, la constipation est plus fréquemment retrouvée que la diarrhée. Le tableau clinique peut être atypique, notamment chez l'enfant, avec des vomissements et une évolution plus rapide des symptômes (9).

La phase d'état est marquée par une fièvre en plateau à 40°C associée à des signes de souffrance viscérale (9). Les patients peuvent être atteints de diarrhée, typiquement ocre, dite « en jus de melon », ou au contraire de constipation (9). Sur le plan cutané, des taches roses, maculopapuleuses, de 2 à 4 mm de diamètre sont observées dans 5 à 30% des cas. Elles sont le plus souvent localisées sur l'abdomen et la poitrine, et plus rarement sur le dos, les bras ou les jambes (4) (6) (36). Certains patients présentent une angine de Duguet, se manifestant par des ulcérations indolores sur les piliers antérieurs du voile du palais. Sur le plan neurologique, les patients peuvent être atteints d'une confusion temporaire, et présenter un état d'obnubilation nommé « tuphos » (35). Des convulsions peuvent être observées, notamment chez les enfants de moins de 10 ans (37). A l'examen clinique, il est fréquent d'observer un abdomen distendu, une hépatomégalie et une splénomégalie (6).

1.6.2.2. Complications

Les complications de la fièvre typhoïde concernent 10 à 15% des patients, elles se produisent généralement chez des personnes malades depuis plus de 2 semaines. Les complications les plus fréquentes sont des complications neurologiques (encéphalite typhique), une perforation intestinale, et l'érosion des vaisseaux sanguins au niveau des plaques de Peyer pouvant entraîner une hémorragie digestive (4) (6) (36). Dans la majorité des cas, ce saignement digestif est léger et se résout sans nécessiter de transfusion sanguine. Cependant, il est cliniquement significatif chez 2% des patients et peut mettre en jeu le pronostic vital si un grand vaisseau est impliqué (6).

La perforation intestinale se produit chez 1 à 3% des patients hospitalisés (38) (39). Elle peut se manifester cliniquement par une augmentation de la douleur abdominale, une tachycardie et une chute de la tension artérielle du patient (6).



Figure 9 : Perforation iléale d'origine typhique (photo : ePilly® 2022) (9)

L'encéphalopathie se manifeste par un niveau de conscience diminué, souvent accompagné d'un état de choc, et est associée à une mortalité élevée. Les patients peuvent être agités, délirants ou obnubilés mais le coma reste peu fréquent (6). L'incidence de ces symptômes psychiatriques varie selon les pays pour des raisons inexplicées : elle est estimée entre 10 et 40% chez les patients hospitalisés pour fièvre typhoïde en Indonésie, mais est inférieure à 2% au Pakistan et au Vietnam (6).

Chez les femmes enceintes, une transmission intra-utérine de la mère à l'enfant peut entraîner une fièvre typhoïde néonatale, rare mais entraînant un risque de décès chez le nouveau-né (40). Le Tableau 8 résume l'ensemble des complications pouvant être observées lors d'une fièvre typhoïde.

Types de complications	Clinique associée
Complications abdominales	Perforation intestinale Hémorragie digestive Hépatite Cholécystite
Complications cardiovasculaires	Myocardite Choc
Complications neuropsychiatriques	Encéphalopathie Délire, état psychotique Méningite
Complications respiratoires	Bronchite Pneumonie
Complications hématologiques	Anémie Coagulation intravasculaire disséminée
Autres complications	Pharyngite Fausse-couche Rechute Portage chronique

Tableau 8 : Complications de la fièvre typhoïde (6)

1.6.2.3. Rechutes, réinfections

La bactérie peut persister dans les ganglions lymphatiques, les ganglions mésentériques, la vésicule biliaire et la moelle osseuse pendant plusieurs années. Cinq à 10% des patients présentent une rechute de l'infection, typiquement 2 à 3 semaines après la résolution des symptômes (6). La rechute est généralement plus modérée sur le plan clinique que la première forme clinique, et la souche de *Salmonella* isolée lors de la rechute conserve généralement la même sensibilité aux antibiotiques que celle isolée lors du premier épisode (6).

Une réinfection peut également avoir lieu et peut être distinguée des rechutes grâce au typage moléculaire. En effet, le typage des souches de *S. enterica* sérotype Typhi provenant de patients faisant une rechute de fièvre typhoïde montre que la majorité des rechutes sont causées par la souche retrouvée lors de l'infection initiale, hormis quelques exceptions. Le fait séquencer la souche de *S. enterica* sérotype Typhi permet donc de distinguer une rechute d'une réinfection par une nouvelle souche (6) (41).

1.7. Diagnostic biologique des salmonelloses

1.7.1. Signes biologiques aspécifiques

Au cours d'une fièvre typhoïde, les taux d'hémoglobine, de leucocytes et de plaquettes sont habituellement normaux ou diminués. Des signes biologiques de coagulation intravasculaire disséminée peuvent être observés mais sont rarement retrouvés au niveau clinique. Les taux d'enzymes hépatiques sont généralement supérieurs à 2 ou 3 fois la norme (6).

1.7.2. Indications de réalisation d'une coproculture

Les diarrhées bactériennes sont généralement spontanément résolutes et ne nécessitent pas la réalisation d'un prélèvement pour mise en culture ni la prescription d'une antibiothérapie. Dans la plupart des cas de diarrhée aiguë, les symptômes des patients sont résolus avant l'obtention du résultat de la culture bactérienne, qui ne change généralement pas la prise en charge, l'objectif principal étant la réhydratation du patient, pouvant être associée à un traitement symptomatique (42). Cependant, la culture à partir des selles est indiquée chez les patients atteints de diarrhée sévère ou prolongée, présentant des symptômes de diarrhée invasive ou ayant des antécédents médicaux les exposant à un risque de complications (4) (20) (43). L'AGC recommande la réalisation d'une culture à partir d'un prélèvement de selles dans les cas suivants (44) :

- Diarrhée sévère ou persistante (> 7 jours)
- Température corporelle supérieure à 38,5°C
- Diarrhée sanglante ou glaireuse

Les recommandations 2017 de l'IDSA indiquent qu'une coproculture à la recherche de *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *C. difficile* et des STEC doit être effectuée chez les personnes souffrant de diarrhée accompagnée de fièvre, de selles sanglantes ou mucoïdes, de crampes abdominales, de signes de bactériémie et de déshydratation (45).

Le REMIC 2022 (Référentiel en Microbiologie Médicale) indique que la prescription d'une coproculture doit être envisagée après avoir éliminé une cause non infectieuse de diarrhée par l'examen clinique et l'interrogatoire. Celle-ci est justifiée dans les cas de diarrhée aiguë survenant dans un contexte faisant évoquer une étiologie bactérienne (fièvre > 40°C, diarrhée glairo-sanglante, douleurs abdominales, retour d'un voyage en zone d'endémie), ou dans des contextes particuliers (TIAC, diarrhée survenant chez un patient immunodéprimé) (46).

Sociétés savantes	Circonstances devant amener à la réalisation d'une coproculture
IDSA 2017 (45)	<p>Fièvre > 38,5°C</p> <p>Diarrhées sanglantes ou mucoïdes</p> <p>Diarrhée persistante (> 7 jours)</p>
AGC 2016 (44)	<p>Fièvre > 38,5°C</p> <p>Diarrhée persistante (> 7 jours)</p> <p>Diarrhée sanglante ou glaireuse</p>
REMIC 2022 (46)	<p>Fièvre > 40°C</p> <p>Diarrhée glairo-sanglante</p> <p>Douleurs abdominales</p> <p>Retour d'une zone d'endémie</p> <p>Contexte de TIAC</p> <p>Patient immunodéprimé</p>

Tableau 9 : Recommandations relatives aux circonstances justifiant la réalisation d'une coproculture

L'intérêt de la culture à partir des selles est faible pour les patients hospitalisés depuis plus de 3 jours, chez qui le diagnostic d'infection à *Clostridium difficile* doit être privilégié. Les laboratoires doivent donc limiter les tests diagnostiques aux patients en ambulatoire et à ceux hospitalisés depuis moins de 3 jours, hormis pour certaines exceptions telles que les patients infectés par le VIH, ceux atteints de neutropénie sévère, les patients ayant des manifestations cliniques non diarrhéiques faisant suspecter une infection entérique, la suspicion d'une épidémie nosocomiale ou encore les populations pédiatriques chez qui le prélèvement peut être plus difficile durant les 3 premiers jours d'hospitalisation (4).

La stratégie diagnostique d'une diarrhée repose sur la recherche *a minima* des agents les plus fréquemment responsables de diarrhées, en dehors d'un contexte clinique particulier. La coproculture standard comprend donc la recherche de *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp, est complétée par la recherche de toxine de *Clostridium difficile* et par la recherche de *Yersinia* spp dans les cas où elle est recommandée (chez les enfants, sur prescription spécifique ou en cas de circonstances cliniques particulières chez l'adulte) (46).

Des pathogènes spécifiques doivent être recherchés selon le contexte clinique et épidémiologique :

- Suite à un voyage récent en pays tropical, la présence d'un syndrome cholériforme doit faire rechercher *Vibrio cholerae*
- La présence d'une diarrhée sanglante doit faire rechercher les STEC en plus des germes ciblés par la coproculture standard
- L'isolement d'un agent pathogène n'est pas indispensable pour définir une TIAC, mais les germes impliqués peuvent potentiellement être retrouvés dans des prélèvements. Les TIAC d'incubation courte (1 à 4h) sont causées par des toxines présentes dans les aliments, sécrétées par *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*. Ces toxines peuvent être recherchées dans l'aliment mais pas dans les selles. Les TIAC d'incubation longue (12 à 72h) sont dues à *Salmonella* spp, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter* spp, *V. parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens*, *B. cereus*, *Aeromonas* spp et les EHEC (46).

La réalisation d'une culture bactérienne à partir des selles présente également un intérêt de Santé Publique, permettant un suivi des épidémies au niveau local, régional, national et international.

1.7.3. Diagnostic de salmonellose : prélèvement

1.7.3.1. Infection digestive

Dans le cadre d'une infection gastro-intestinale, le diagnostic de salmonellose se fait à partir d'échantillons de selles. Ils doivent être collectés à un stade précoce de la maladie, si possible avant instauration d'une antibiothérapie.

Si les selles sont liquides, environ 5 ml doivent être collectés, autrement 0,5 g à 2 g sont nécessaires pour la mise en culture (4). Elles doivent être recueillies dans un récipient propre et sec, avec un couvercle étanche, qui doit être identifié avec le nom complet du patient et deux identifiants supplémentaires, tels que la date de naissance du patient et le numéro de dossier médical (4). Un aliquot de la selle est prélevé à l'aide d'une spatule puis transféré dans le conteneur hermétique propre à usage unique. La partie muco-purulente ou sanglante doit être privilégiée si elle est présente (46).

Les écouvillons rectaux sont en général considérés comme moins sensibles que le prélèvement de selles pour la culture bactérienne. Ils peuvent être acceptables pour certaines catégories de patients, comme les jeunes enfants, s'ils sont correctement prélevés (c'est-à-dire assez profondément insérés au niveau rectal, de sorte que les matières fécales soient collectées et visibles sur l'écouvillon). L'écouvillon doit ensuite être placé dans un milieu de transport puis envoyé au laboratoire (4). L'écouvillonnage rectal présente un intérêt notamment chez le nourrisson et le petit enfant dans le cadre d'une suspicion de SHU, lors d'un arrêt du transit intestinal après une phase diarrhéique (46).

Les biopsies de muqueuse rectale ou colique peuvent être analysées comme des matières fécales, mais il n'y a pas de supériorité à rechercher les bactéries entéropathogènes sur des biopsies par rapport au prélèvement standard de selles chez des patients non immunodéprimés (46).

La plupart des milieux de transport de selles habituellement utilisés en laboratoire, contenant un tampon pour le pH, sont compatibles avec le diagnostic des salmonelloses. Un milieu de transport privilégié est le milieu de Cary-Blair, il peut être utilisé pour le diagnostic d'autres pathogènes courants responsables de diarrhée (1). Les autres milieux disponibles sont les milieux de Stuart et d'Aimes. Sans milieu de transport, les échantillons de selles doivent être acheminés au laboratoire dans les 2 heures après le prélèvement, et ensemencés rapidement après leur arrivée. Si la mise en culture est retardée de plus de deux heures après le prélèvement, l'échantillon doit être placé dans un milieu de Cary-Blair et placé à +4°C afin de conserver au mieux les entéropathogènes bactériens. Ce milieu augmente le délai possible de traitement à 48 heures pour la culture (4). L'utilisation d'un milieu de conservation nécessite de vérifier l'absence de pouvoir inhibiteur sur les techniques de biologie moléculaire mises en œuvre (46).

1.7.3.2. Fièvre typhoïde

Les hémocultures sont la méthode de diagnostic standard de la fièvre typhoïde. Un volume important de sang (8 à 10 ml par flacon chez l'adulte) est mis à incuber dans des flacons d'hémocultures. Le résultat est positif chez 60 à 80% des patients atteints de fièvre typhoïde (6).

Le prélèvement de moelle osseuse présente un intérêt particulier si le patient a été mis sous antibiotiques avant la réalisation du prélèvement (4). En effet, la mise en culture à partir d'un prélèvement de moelle osseuse est plus sensible, le résultat est positif chez 80 à 95% des patients atteints de fièvre typhoïde (47). La sensibilité supérieure de la culture de moelle osseuse s'explique par le nombre supérieur de microorganismes dans la moelle osseuse en comparaison avec la quantité retrouvée dans le sang (28).

Les prélèvements de sang et/ou de moelle osseuse doivent être réalisés durant la première semaine de fièvre, car la sensibilité des hémocultures est plus importante au cours de la première semaine de maladie. Elle est réduite par l'utilisation d'antibiotiques (6). Les prélèvements de selles et d'urines doivent être réalisés au cours des semaines suivantes (4). Les coprocultures sont positives durant la 2^{ème} semaine (phase d'état) dans 40 à 80% des cas (9). Pour détecter des porteurs de *Salmonella Typhi*, plusieurs prélèvements doivent être réalisés en raison de l'excrétion irrégulière des bactéries (6).

Les autres types de prélèvement pouvant être réalisés afin de diagnostiquer une fièvre typhoïde sont des prélèvements d'urines, de ganglion lymphatique ou des biopsies osseuses. Des cultures peuvent également être réalisées à partir de la fraction leuco-plaquettaire du tube de sang, de caillots sanguins après traitement par une streptokinase, du contenu duodénal et des tâches rosées maculopapuleuses s'observant chez certains patients (1) (4) (47) (48) (49).

1.7.4. Mise en culture du prélèvement

Un examen macroscopique des selles doit être réalisé lors de la réception du prélèvement au laboratoire, il comprend la recherche de traces de sang et de mucus. La réalisation d'une coloration de Gram n'est pas pertinente dans le diagnostic des diarrhées bactériennes, hormis pour le diagnostic d'une infection à *Campylobacter* en raison de sa morphologie caractéristique (4).

Les prélèvements de selles doivent être ensemencés sur 4 milieux (4) :

- Une gélose sélective des BGN non exigeants, comme la gélose Mac Conkey
- Un milieu sélectif permettant l'isolement des salmonelles et des shigelles
- Un milieu spécifique des *Campylobacter*
- Un bouillon d'enrichissement

Les salmonelles peuvent être cultivées sur plusieurs types de milieux, solides et liquides :

- Des géloses sélectives : Hektoen (HE), Xylose-Lysine-Deoxycholate (XLD), gélose *Salmonella-Shigella* (SS), milieu MacConkey
- Des géloses non sélectives : milieu BCP (BromoCrésol Pourpre)

Les géloses sélectives Hektoen et XLD détectent toutes deux la production d'H₂S, ce qui facilite l'identification des *Salmonella*, qui produisent de l'H₂S contrairement aux *Shigella*. Cette production s'observe par une coloration noire des colonies sur la gélose (Figure 10). Les géloses sélectives telles que la gélose *Salmonella-Shigella* présentent l'inconvénient d'inhiber certaines souches de *Salmonella* spp. Elles sont souvent utilisées en combinaison avec des géloses moins sélectives, comme le milieu MacConkey (une gélose sélective des bacilles à gram négatif non exigeants), et avec des milieux non sélectifs pouvant varier selon les laboratoires. Ces milieux sont incubés à 35°C (plus ou moins 2°C) pendant 24h. Cependant, la pousse de la flore fécale sur ces milieux peut compliquer le diagnostic des *Salmonella* si les colonies sont présentes en faible nombre. Des études ont montré que les milieux chromogéniques apportent une sensibilité et une spécificité améliorées par rapport aux milieux sélectifs traditionnels pour l'isolement de *Salmonella*, *Shigella*, des STEC, de *Vibrio* et de *Yersinia* (4).

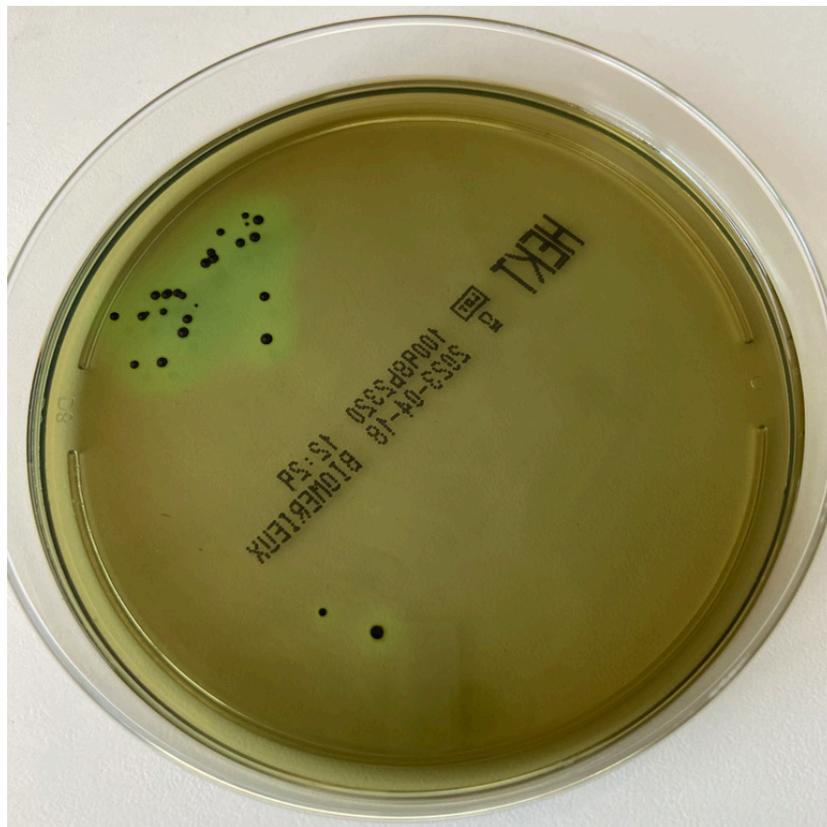


Figure 10 : Culture de Salmonella sur une gélose Hektoen

- Les bouillons d'enrichissement : tétrathionate et sélénite

Ils permettent la croissance des *Salmonella* tout en inhibant celle de la flore fécale normale. Une fois isolées, les salmonelles peuvent être mises en subculture en utilisant les méthodes standards pour obtenir des colonies qui seront identifiées et sur lesquelles un antibiogramme pourra être réalisé.

Ces bouillons d'enrichissement étaient traditionnellement utilisés dans le cadre de cultures fécales de routine, afin d'aider à la récupération de faibles quantités de *Salmonella*, *Shigella* et *Campylobacter*. Cependant, de nombreux laboratoires ont aujourd'hui abandonné cette pratique, dont le rendement ne justifie pas le coût (4) (50).

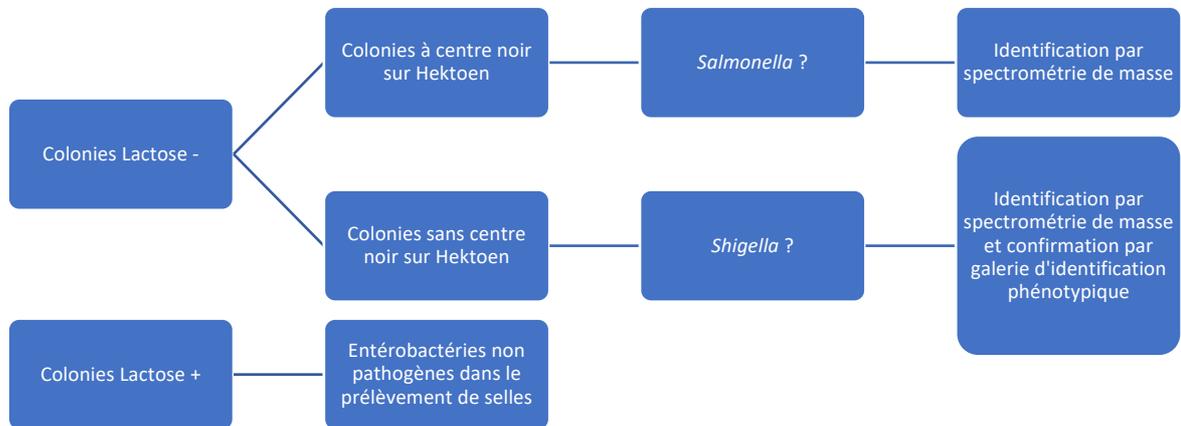


Figure 11 : Algorithme simplifié d'identification des colonies sur gélose sélective

1.7.5. Identification des colonies bactériennes, typage des *Salmonella*

Après avoir été ensemencés, les milieux de culture sont examinés à la recherche de colonies présentant des propriétés phénotypiques de pathogènes entériques (comme la production d'H₂S ou le caractère lactose-négatif des colonies). Les colonies étaient traditionnellement identifiées en utilisant des tests biochimiques ou antigéniques appartenant à différents algorithmes diagnostiques. Ces techniques biochimiques étaient cependant chronophages et les propriétés biochimiques de certains isolats bactériens peuvent différer du phénotype commun de l'espèce, ce qui peut conduire à une identification erronée (4).

Dans l'algorithme historiquement utilisé, une première étape est généralement la sélection des germes qui ne fermentent pas le lactose et/ou qui produisent de l'H₂S sur un premier milieu. Ces colonies sont ensuite soumises à un test de dépistage secondaire, cette étape peut ne pas être nécessaire si le premier milieu utilisé est un milieu chromogénique. La deuxième méthode de dépistage consiste à réaliser une subculture des colonies dans un ou plusieurs milieux en tube, dont le système classique à 3 tubes : une gélose triple sucre-fer (*Triple Sugar Iron* ou TSI), une gélose lysine-fer (*Lysin Iron Agar* ou LIA) et une gélose de Christensen à l'urée. Ce système permettait de mettre en évidence diverses réactions biochimiques propres à chaque espèce bactérienne (4).

1.7.5.1. Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse de type *Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry* (ou MALDI-TOF) est une technologie protéomique permettant une identification rapide des pathogènes entériques, y compris des *Salmonella* (4) (51) (52). Le Bruker Biotyper® et le Biomérieux Vitek® MS MALDI-TOF sont tous deux approuvés par la *Food and Drug Administration* (FDA) pour le diagnostic du genre *Salmonella* et *Yersinia*, mais pas *Shigella*. He et al. ont évalué les performances et la rentabilité d'un système Biotyper® pour l'identification de routine des entéropathogènes, à partir de colonies cultivées sur des milieux sélectifs. Les colonies ont été analysées par le système Biotyper® et les résultats ont été comparés à ceux obtenus avec les méthodes phénotypiques pour 22 espèces de *Salmonella*, 39 espèces de *Shigella*, 3 isolats d'EHEC, 2 *Yersinia enterocolitica*, 2 *Campylobacter* et 236 isolats de flore intestinale normale. L'identification a été correctement réalisée par le système Biotyper® pour les espèces de *Salmonella*, de *Campylobacter* et de *Yersinia*, mais il n'a pas permis de distinguer les espèces de *Shigella* des EHEC. Concernant les isolats de flore physiologique, 98,7% concordait au niveau du genre et 96,6% au niveau de l'espèce entre les méthodes phénotypiques et le système Biotyper® (1) (4) (52).

L'algorithme classique utilisé en laboratoire dans le cadre du diagnostic des diarrhées bactériennes a pour but de minimiser le coût associé à la différenciation du nombre important d'entérobactéries non pathogènes dans un échantillon fécal, des pathogènes comme *Salmonella* et *Shigella* qui sont retrouvées dans seulement 3 à 5% des échantillons fécaux mis en culture (4). Depuis l'apparition des techniques de MALDI-TOF, de nombreux laboratoires identifient directement les colonies bactériennes à partir du premier milieu de culture. Cette étape permet de s'affranchir des méthodes biochimiques utilisées dans les tests de dépistage secondaire. L'identification peut être faite sur des géloses au sang ou à partir du milieu Mac Conkey dans le cas du Vitek® MS. Le test peut aussi être réalisé à partir des milieux utilisés pour la culture bactériologique des selles (milieu HE, gélose SS, gélose XLD...) (4). Anderson et al. ont identifié à l'aide du MALDI Biotyper® 25 isolats entériques cultivés sur gélose XLD, gélose Hektoen, gélose *Salmonella-Shigella* et milieu Mac Conkey. Leur étude montre que la spectrométrie de masse est performante pour l'identification du genre *Salmonella* : pour les isolats de bactéries entériques, le taux d'identification était de 100% à partir de la gélose au sang, du milieu Mac Conkey et de la gélose XLD, de 92% à partir du milieu HE et de 87% à partir de la gélose SS (53). Des études montrent cependant que l'identification à partir des géloses SS et HE ne permettent qu'un diagnostic de genre. En effet, les conditions de croissance des bactéries et la présence de substances exogènes sont susceptibles de modifier les profils protéiques et donc de perturber le processus d'identification.

Ce système représente donc un outil de diagnostic rapide pour identifier la majorité des colonies cultivées sur des milieux sélectifs. Cependant, la technologie MALDI-TOF ne permet pas de différencier les *Shigella* des *Escherichia coli*. De plus, elle n'est pas approuvée pour le diagnostic d'espèce ou pour la classification par sérovars des salmonelles (1) (4) (52).

1.7.5.2. Typage par méthodes sérologiques

Une fois les salmonelles identifiées, des méthodes sérologiques (schéma de Kauffmann-White-Le Minor) peuvent être utilisées afin de les typer. Les antigènes O et H1 sont retrouvés chez presque toutes les souches de salmonelles. Les antigènes H2 sont présents seulement chez certaines souches, et l'antigène Vi est principalement retrouvé dans les souches typhiques. Cependant, cet antigène est également exprimé par *Citrobacter* sp, sa présence seule ne suffit donc pas à l'identification définitive d'une souche de salmonelle typhique. Une réaction d'agglutination de l'antigène Vi est utilisée en zone d'endémie pour dépister les porteurs de *Salmonella enterica* sérotype Typhi, la sensibilité de cette analyse est de 75% et sa spécificité de 92% (54). L'identification définitive des salmonelles repose sur la combinaison de méthodes phénotypiques et sérologiques, le sérotypage classique par agglutination restant la méthode de typage de référence des *Salmonella* (ISO/TR 6579-3) (1) (5) (14).

1.7.5.3. Typage par biologie moléculaire

En juillet 2018, le séquençage du génome entier (*Whole-Genome Sequencing* ou WGS) a remplacé le sérotypage classique par agglutination comme technique de typage de première intention au CNR-ESS. Il est basé sur l'analyse des données de *Multilocus Sequence Typing* (MLST), des séquences flagellaires *fliC* et *fliB*, du CRISPOL-type pour le sérotype Typhimurium et son variant monophasique, et de la présence ou absence d'une mutation impliquée dans la fermentation du d-tartrate (permettant de différencier le sérotype Paratyphi B dt- du biotype Java dt+).

1.7.6. Kits syndromiques de PCR multiplex

Les méthodes de diagnostic syndromique par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) multiplex sont des panels couvrant un ensemble de pathogènes responsables d'un ensemble de symptômes (ou syndrome). Dans un contexte de diarrhée infectieuse, ces panels permettent de cibler les principaux pathogènes gastro-intestinaux sur un échantillon de selles. Leurs intérêts majeurs sont la rapidité d'analyse et la sensibilité permise par ces techniques par rapport à la culture.

La détection s'effectuant en multiplexage, toutes les cibles génétiques sont recherchées simultanément. Plusieurs kits sont disponibles sur le marché, certains nécessitent au préalable une étape d'extraction de l'acide désoxyribonucléique (ADN) sur un automate dédié, avant l'étape d'amplification sur un autre automate. Il s'agit par exemple du kit Seegene® Allplex Gastro-Intestinal. D'autres kits incluent l'extraction et l'amplification dans une même cartouche, comme le BDMax Enteric Panel ou le kit Novodiag® Bacterial GE+. Cela permet une utilisation plus simple, un gain de place en raison de l'utilisation d'un seul automate, et une diminution des risques de contamination car les cartouches sont utilisées en système clos, sans manipulation intermédiaire entre les étapes d'extraction et d'amplification.

Les méthodes de biologie moléculaire présentent aussi l'avantage de détecter des bactéries difficilement identifiables en routine, comme les différents pathovars d'*Escherichia coli*. Le Tableau 10 compare différents kits de PCR multiplex disponibles sur le marché et les pathogènes entériques qu'ils détectent (4) (55) (56) (57) (58) (59) (60) (61).

Ces tests permettent l'identification d'un nombre important de pathogènes entériques, avec un délai plus rapide que celui des techniques de culture. L'isolement des souches par culture reste cependant nécessaire pour le typage de la souche et la réalisation d'un antibiogramme. De plus, des études réalisées pour évaluer l'impact de la biologie moléculaire dans le diagnostic des infections digestives soulèvent des problématiques de spécificité (4).

Navidad et al. ont étudié le Luminex xTAG system (*Luminex Gastrointestinal Pathogen Panel*, xTAG® GPP), qui permet de détecter dans un échantillon de selles plusieurs bactéries (*Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, ETEC, STEC, *Escherichia coli* O157:H7, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica* et *Clostridium difficile* toxinogène), parasites (*Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp, *Entamoeba histolytica*) et virus (norovirus GI et GII, adénovirus 40/41 et rotavirus A). La sensibilité de la technique a été déterminée à partir de 254 échantillons de selles provenant de patients symptomatiques, sur lesquelles un diagnostic a été réalisé par méthodes conventionnelles (culture sur milieux sélectifs) et par méthodes moléculaires. Pour *Salmonella* spp, la sensibilité était de 92% (62).

Wessels et al. ont comparé les résultats obtenus sur 393 échantillons fécaux avec le test xTAG® GPP et avec la procédure de routine (culture des bactéries, PCR en temps réel pour les parasites et les virus). La positivité du xTAG® GPP et les résultats discordants ont été vérifiés par PCR en temps réel. Au total, 83 cibles ont été détectées dans 76 échantillons à l'aide du xTAG®GPP, qui a détecté 43 positifs de plus que la procédure de routine. Cependant, 11 cibles n'ont pas pu être confirmées par PCR en temps réel (1 échantillon pour *Campylobacter*, 4 échantillons pour *Salmonella*, 1 échantillon pour *Shigella* et 5 échantillons pour *Entamoeba histolytica*). Les auteurs recommandent donc une confirmation par une autre méthode avant de rendre un diagnostic positif de *Salmonella* par cette méthode (63).

La validation des méthodes de PCR multiplex est complexe en raison du nombre important d'agents pathogènes qui doivent être testés, et de la nécessité de vérifier tous les faux positifs présumés avec une autre méthode, de sensibilité équivalente. Plusieurs tests doivent donc être réalisés avant qu'un laboratoire puisse envisager de remplacer les méthodes traditionnelles par une méthode moléculaire unique (1). Le CNR-ESS a effectué une revue de la littérature montrant que les kits syndromiques de PCR multiplex permettent une moins bonne sensibilité de détection que la technique classique par culture après bouillon d'enrichissement. Ils recommandent de conserver la technique de référence pour le diagnostic au laboratoire ou de la réaliser en cas de résultat négatif rendu par un kit PCR dans un contexte clinique évocateur d'infection à *Salmonella* spp (14).

	Prodesse ProGastro SSCS Assay (Hologic)	BD Max Enteric Bacterial Panel (BD)	BioFire FilmArray GI Panel Biomérieux	xTAG GPP (Luminex)	Allplex GI Bacterial Assay (Seegene)	DiagCore (Qiagen)	Amplidiag (Mobidiag)	Novodiag (Hologic)
<i>Campylobacter</i> spp								
<i>C. jejuni</i>								
<i>C. coli</i>								
<i>C. upsaliensis</i>								
<i>Salmonella</i> spp								
<i>Shigella</i> ⁽¹⁾ / EIEC	(1)							
<i>Yersinia</i> spp								
<i>Y. enterocolitica</i>								
<i>Y. pseudotuberculosis</i>								
<i>C. difficile</i>								
Toxine A CD								
Toxine B CD								
<i>Vibrio</i> sp								
<i>V. parahaemolyticus</i>								
<i>V. vulnificus</i>								
<i>V. cholerae</i>								
<i>P. shigelloides</i>								
EAEC								
EPEC								
ETEC								
EHEC/STEC								
E. coli 0157								
<i>Aeromonas</i> spp								
<i>Giardia lamblia</i>		Panel à part			Panel à part		Panel à part	Panel à part
<i>Cryptosporidium</i>								
<i>E. histolytica</i>								
<i>Cyclospora cayetanensis</i>								
Norovirus								
Adénovirus 40/41								
Rotavirus A								
Sapovirus								
Astrovirus								

⁽¹⁾ : Le fournisseur indique détecter uniquement les *Shigella*

Tableau 10 : Comparatif des kits de biologie moléculaire multiplex syndromiques et des pathogènes qu'ils détectent

1.7.7. Interprétation du résultat

Le compte-rendu du laboratoire doit mentionner l'ensemble des entéropathogènes recherchés en routine. Par exemple, une culture négative peut être rendue de la façon suivante : « Absence de *Salmonella*, *Shigella*, et *Campylobacter* ». De plus, si un entéropathogène qui n'était pas spécifiquement recherché par le clinicien est retrouvé, il doit être mentionné dans le compte-rendu de laboratoire (4).

La mise en évidence d'une bactérie pathogène (telle que *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp ou *Yersinia* spp) dans une coproculture chez un patient diarrhéique doit être considérée *a priori* comme pathogène et faire conduire à la réalisation d'un antibiogramme. Il existe cependant des porteurs sains de salmonelles au niveau biliaire et toutes les salmonelles mineures isolées dans un prélèvement de selles ne doivent pas conduire à la prescription d'un antibiotique (46). Si une *Salmonella* est retrouvée en culture, sa quantification doit être mentionnée dans le compte-rendu ainsi que son typage (réalisé directement au laboratoire ou après envoi à un Centre National de Référence) et son antibiogramme.

1.8. Prévention des infections à *Salmonella*

1.8.1. Mesures d'hygiène, précautions alimentaires

Les facteurs de risque de développement d'une fièvre typhoïde identifiés dans les zones endémiques sont la consommation de plats préparés à l'extérieur du domicile, de crèmes glacées, d'eau contaminée, le fait d'avoir eu un contact rapproché avec une personne récemment atteinte de fièvre typhoïde, d'avoir résidé dans un logement insalubre avec des installations inadéquates pour l'hygiène personnelle, et l'utilisation récente d'antibiotiques (dans les 2 semaines précédant le voyage) (6) (64) (65) (66) (67). Gasem et al. ont réalisé une étude rétrospective en soumettant un questionnaire à 75 sujets ayant eu une fièvre typhoïde (prouvée par une culture bactérienne) et 75 sujets contrôles. Les facteurs de risque de fièvre typhoïde identifiés et les *odds ratio* (OR) associés sont les suivants (68) :

- Absence de lavage de mains avant les repas (OR = 3,28)
- Manger à l'extérieur au moins une fois par semaine (OR = 3,00)
- Consommer des plats provenant de vendeurs ambulants (de type *street food*) (OR = 3,86)
- Présence de glaçons dans les boissons consommées dans les 2 semaines précédant la maladie (OR = 3,00)
- Acheter des glaçons chez un vendeur ambulant (OR = 5,82)
- Ne pas utiliser d'eau propre pour les bains (OR = 6,50), pour le lavage des dents (OR = 4,33), et pour la consommation d'eau (OR = 3,67)

- Vivre dans une maison sans alimentation en eau provenant du réseau municipal (OR = 11,00)

Ainsi, dans les pays en voie de développement, le contrôle des infections à salmonelles majeures passe par un approvisionnement en eau contrôlée, la mise en place d'un système de gestion des eaux usées et une amélioration de l'hygiène alimentaire (6).

Dans les pays développés, la majorité des cas de fièvre typhoïde concernent des voyageurs en retour de zone d'endémie. La prévention repose donc sur la mise en place des mêmes précautions pendant le voyage, concernant l'eau et l'alimentation. L'eau de boisson doit être bouillie ou consommée à partir d'une bouteille fermée, les conditions d'hygiène alimentaire doivent être respectées (consommation d'aliments cuits, bonnes pratiques de manipulation des aliments) et les crèmes glacées et glaçons doivent être évités de même que les fruits et légumes ayant été lavés avec une eau non contrôlée. La vaccination contre la fièvre typhoïde est également recommandée pour les personnes prévoyant de voyager en zone d'endémie (9).

L'origine des salmonelloses non typhiques étant principalement la consommation d'aliments crus ou peu cuits, la prévention repose sur une cuisson suffisante, notamment de la viande (65°C pendant 5 à 6 minutes). Les steaks hachés congelés doivent être cuits sans décongélation préalable car elle favorise la multiplication des bactéries. Les salmonelles sont présentes à la surface des coquilles d'œufs mais également à l'intérieur, ils doivent donc être conservés au réfrigérateur, de même que les préparations à base d'œufs sans cuisson (mayonnaise, crèmes...). La consommation d'œufs crus ou peu cuits doit être évitée chez les personnes à risque telles que les personnes âgées, les nourrissons et les femmes enceintes. Concernant la transmission via les NAC, il est nécessaire de se laver les mains après un contact avec un reptile (13).

En milieu hospitalier, les mesures de prévention passent également par un isolement des patients atteints. Le patient doit être hospitalisé en chambre seule et des précautions d'hygiène supplémentaires sont appliquées dans la gestion des excréta et le nettoyage du linge et de la chambre du patient (9).

1.8.2. Vaccination contre la fièvre typhoïde

L'efficacité du premier vaccin parentéral contre la fièvre typhoïde a été établie dans les années 1960, il permettait 51 à 88% de protection chez les enfants et les jeunes adultes, jusqu'à 12 ans après l'administration du vaccin. Ses effets indésirables étaient locaux, de type inconfort et gonflement, ainsi que quelques effets systémiques retrouvés chez 25 à 50% des sujets (69).

Ty21a est un vaccin vivant atténué, qui s'administre par voie orale. Les études réalisées montrent une efficacité vaccinale variable (étudiée par la comparaison de l'incidence de

fièvres typhoïdes dans un groupe vacciné et un groupe contrôle) : 96% après 3 ans en Égypte, 67% après 5 ans au Chili, 42 à 53% après 2,5 ans en Indonésie (70) (71) (72). Ce vaccin s'administre sous la forme d'une capsule aux jours 1, 3, 5 et 7 pour les adultes et les enfants de plus de 6 ans. Une dose de rappel est souhaitable tous les 5 ans. C'est un vaccin bien toléré mais, étant donné qu'il s'agit d'un vaccin vivant atténué, il est contre-indiqué chez les patients immunodéprimés (6).

Un vaccin parentéral basé sur la capsule polysaccharidique Vi peut être utilisé chez les adultes et les enfants de plus de 2 ans. Il ne présente pas d'effets indésirables importants. Il s'administre sous la forme d'une dose unique de 0,5 ml (25 µg) par voie intramusculaire, une dose de rappel est recommandée tous les 2 ans (6).

En France, la vaccination est obligatoire pour les militaires susceptibles d'être exposés à la fièvre typhoïde lors de leurs missions à l'étranger. Elle est recommandée pour les voyageurs (adultes et enfants de 2 ans et plus) devant effectuer un séjour prolongé ou dans de mauvaises conditions dans des pays où l'hygiène est précaire et où la maladie est présente, en particulier en Inde et dans les pays voisins. La vaccination doit être réalisée 15 jours avant le voyage. Les vaccins disponibles en France sont des vaccins inactivés dirigés contre Vi (Typhim Vi®), dont une forme combinée avec le vaccin contre l'hépatite A (Tyavax®) utilisable chez les adultes et adolescents de 16 ans et plus. Le tableau ci-dessous résume leurs caractéristiques (73) (74) (75).

Nom commercial	Maladies concernées	Type de vaccin	Pour qui ?	Remboursement
Tyavax®	Fièvre typhoïde, Hépatite A	Bivalent	Adultes et adolescents à partir de 16 ans	Non pris en charge par l'assurance maladie
Typhim Vi®	Fièvre typhoïde	Monovalent	Adultes, adolescents et enfants à partir de 2 ans	Non pris en charge par l'assurance maladie

Tableau 11 : Vaccins contre la fièvre typhoïde disponibles en France (73)

2. *Salmonella* spp et antibiotiques

2.1. Stratégie thérapeutique de l'infection à *Salmonella* spp : recommandations

2.1.1. Infections à salmonelles mineures

Dans la grande majorité des cas, les infections digestives à *Salmonella* sont bénignes et guérissent spontanément. Le traitement consiste alors essentiellement à éviter une déshydratation et à améliorer le confort du patient.

Cependant, une antibiothérapie peut s'avérer nécessaire pour les infections digestives dues à des salmonelles, notamment chez les personnes âgées, les nourrissons et les personnes immunodéprimées (13). Elle sera également indiquée lors de formes sévères d'infections à salmonelles mineures, telles que les bactériémies et les localisations bactériémiques secondaires (os, articulations, poumons, foie cerveau). Ces formes sont rares et surviennent sur des terrains particuliers, comme les patients atteints de drépanocytose, de déficit immunitaire (patients atteints par le VIH, patients ayant une pathologie cancéreuse), de maladie inflammatoire chronique du tube digestif, et chez les nouveau-nés et nourrissons de moins de 1 an (76) (77) (78) (79).

2.1.1.1. Entérocolites

Une revue Cochrane indique qu'il n'y a aucun bénéfice à instaurer une antibiothérapie dans les formes modérées de salmonelloses digestives : les antibiotiques ne raccourcissent ni la durée de la diarrhée, ni celle de la fièvre. De plus, ils augmentent significativement le risque de portage asymptomatique à 1 mois (risque relatif de 1,96). Le traitement antibiotique est donc réservé aux formes entérocoliques sévères, aux formes invasives, et aux patients immunodéprimés (80).

L'antibiothérapie est prescrite pour une durée de 3 jours, ou 7 jours pour les sujets immunodéprimés et les enfants de moins de 1 an. En raison du caractère intracellulaire facultatif de *Salmonella*, elle fait appel à des molécules actives *in vitro* sur la souche isolée et qui présentent une bonne diffusion intracellulaire (9). Les antibiotiques utilisables et les schémas de traitement recommandés sont les suivants (9) :

- Azithromycine 500 mg par jour

L'azithromycine est particulièrement indiquée chez les enfants (à la posologie de 20 mg/kg/24h) et dans les cas de diarrhée au retour d'une région où il existe un niveau élevé de résistance des salmonelles aux quinolones (Inde, Vietnam, Thaïlande...).

- Fluoroquinolones :
 - Ciprofloxacine 500 mg 2 fois par jour, chez l'enfant : 10 mg/kg 2 fois par jour
 - Lévofloxacine 500 mg par jour

- Céphalosporines de 3^{ème} génération si la voie orale est impossible : ceftriaxone par voie injectable, 2 g par 24h en une administration, chez l'enfant : 50 mg/kg/24h

Le tableau ci-dessous résume les différents antibiotiques recommandés dans le traitement des salmonelloses digestives ainsi que leur schéma d'administration.

Classes thérapeutiques	Posologies quotidiennes	
	Enfant	Adulte
Macrolides	Azithromycine : voie orale 20 mg/kg x 1/j	Azithromycine : voie orale 500 mg x 1/j
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine : voie orale 10 mg/kg x 2/j	Ciprofloxacine : voie orale 500 mg x 2/j
		Lévofloxacine : voie orale 500 mg x 1/j
Céphalosporines de 3^{ème} génération	Ceftriaxone : voie injectable 50 mg/kg/j	Ceftriaxone : voie injectable 1 à 2 g/J

Tableau 12 : Schéma d'administration des antibiotiques recommandés en France dans le traitement des salmonelloses digestives

2.1.1.2. Formes bactériémiques et viscérales

Un traitement antibiotique bactéricide est indispensable dans les formes bactériémiques et viscérales causées par des salmonelles mineures. Le choix thérapeutique doit s'appuyer sur un antibiogramme. La durée de traitement est comprise entre 2 semaines (pour une bactériémie isolée) à 6 semaines (pour une spondylodiscite). Le traitement des formes invasives repose le plus souvent sur l'administration de 2 g par 24h de Ceftriaxone, pendant 7 à 10 jours (2 semaines chez l'immunodéprimé). Un geste chirurgical peut également être nécessaire : drainage d'abcès, résection d'un anévrisme infecté ou d'un corps étranger (9).

2.1.1.3. Portage chronique

Aucune antibiothérapie n'est recommandée dans le cadre d'un portage chronique de *Salmonella*. Les salmonelles sont éliminées spontanément dans plus de 99% des cas dans un délai inférieur à 6 mois (9). De plus, le risque de transmission à partir de ce portage est considéré comme faible : l'application des mesures d'hygiène de base est suffisante à réduire la transmission. Les enfants sont considérés comme potentiellement contagieux lorsque les symptômes (notamment la diarrhée) persistent. En France, l'éviction de collectivité est recommandée uniquement pour les enfants symptomatiques (81).

2.1.2. Infections à salmonelles majeures

2.1.2.1. Antibiothérapie

Le taux de mortalité de la fièvre typhoïde est inférieur à 1% dans le cas où une antibiothérapie adaptée est instaurée. Les fluoroquinolones, comme la ciprofloxacine, et les céphalosporines de 3^{ème} génération, comme la ceftriaxone, sont les antibiotiques de choix pour traiter les fièvres typhoïde et paratyphoïde.

Quand la souche de *Salmonella* Typhi est sensible aux fluoroquinolones, elles représentent un antibiotique de choix chez l'adulte (ofloxacine, ciprofloxacine). Chez l'enfant, des études réalisées en zone d'endémie montrent que les fluoroquinolones peuvent être utilisées en traitement de courte durée sans risque majeur. La durée moyenne de traitement est de 5 à 7 jours dans les formes non compliquées, et 10 à 14 jours dans les formes compliquées (9).

Dans l'attente de connaître la sensibilité de la souche aux fluoroquinolones, la ceftriaxone est le traitement de première intention de la fièvre typhoïde. Elle peut être utilisée sur des durées allant de 5 à 7 jours pour des souches montrant une sensibilité diminuée aux quinolones (9).

Depuis 2016, des souches de *Salmonella* Typhi multirésistantes (MDR ou *multi drug resistant*) (i.e. souches ayant acquis une résistance aux antibiotiques suivants *a minima* : chloramphénicol, ampicilline et triméthoprime-sulfaméthoxazole) sont apparues. Les seuls antibiotiques restant efficaces sur certaines souches sont actuellement l'azithromycine, les carbapénèmes et la tigécycline. L'azithromycine s'est révélée aussi efficace que les fluoroquinolones dans le traitement des fièvres typhoïdes non compliquées. Les antibiotiques utilisables ainsi que la durée de traitement des fièvres typhoïdes selon leur sévérité et la sensibilité des souches à la ciprofloxacine sont résumés dans le Tableau 13 (9).

Fièvre typhoïde non compliquée		Fièvre typhoïde compliquée	
CMI ciprofloxacine	Antibiotique utilisable	CMI ciprofloxacine	Antibiotique utilisable
< 0,125 mg/L	Ofloxacine, Ciprofloxacine 15 mg/kg/j pendant 5 à 7 jours	< 0,125 mg/L	Ofloxacine, Ciprofloxacine 15 mg/kg pendant 10 à 14 jours
≥ 0,125 mg/L	Azithromycine 10 mg/kg/j pendant 7 jours	≥ 0,125 mg/L	Ceftriaxone 60 à 75 mg/kg/j (maximum 4 g/j) pendant 5 à 7 jours

Tableau 13 : Schémas thérapeutiques utilisables dans le traitement de la fièvre typhoïde (9)

2.1.2.2. Traitements associés

En présence de signes toxiques, une corticothérapie peut être indiquée avec l'administration de prednisone 1 mg/kg/j. En cas d'hémorragie, des transfusions peuvent s'avérer nécessaires. Le traitement des perforations digestives est chirurgical et médicamenteux : le spectre du traitement antibiotique doit être élargi pour être actif sur les bactéries d'origine fécale (β -lactamines à large spectre, métronidazole permettant de couvrir les germes anaérobies) (9).

2.2. *Salmonella* spp et résistances aux antibiotiques

2.2.1. Rappel : détermination de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique

Les sensibilités *in vitro* des bactéries sont testées à l'aide d'un antibiogramme, qui permet de savoir si les bactéries ont acquis un ou plusieurs mécanismes de résistance et ainsi d'adapter le traitement antibiotique. L'objectif de l'antibiogramme est de catégoriser cliniquement la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en les incluant dans les catégories suivantes (82) :

- Sensible à posologie standard (S) : probabilité élevée de succès thérapeutique à posologie standard de l'antibiotique

- Sensible à forte posologie (I ou SFP) : forte probabilité de succès thérapeutique due au fait que l'exposition de la bactérie à l'antibiotique est augmentée par l'utilisation de posologies élevées, ou si l'antibiotique est fortement concentré au site anatomique de l'infection
- Résistant (R) : forte probabilité d'échec thérapeutique même en cas de forte exposition de la bactérie à l'antibiotique

La concentration minimale inhibitrice ou CMI explore le caractère bactériostatique d'un antibiotique. Elle correspond à la plus faible concentration d'antibiotique inhibant toute croissance bactérienne : cette croissance peut être déterminée visuellement (CMI en milieu liquide) ou en milieu solide (E-test) (82).

Les CMI peuvent être effectuées par microdilution en milieu liquide par des barrettes unitaires ou en microplaques, ainsi qu'en milieu gélosé avec des bandelettes E-test® permettant de tester un seul antibiotique. En milieu liquide, la technique est basée sur la réhydratation d'antibiotiques contenus dans des plaques par l'ajout d'une suspension standardisée de bactéries, mesurée en McFarland. Le résultat est lu visuellement après 18 à 24 heures d'incubation à $35 \pm 2^\circ\text{C}$. La CMI correspond au dernier puits où la croissance bactérienne n'est plus visible (absence de trouble) (82).

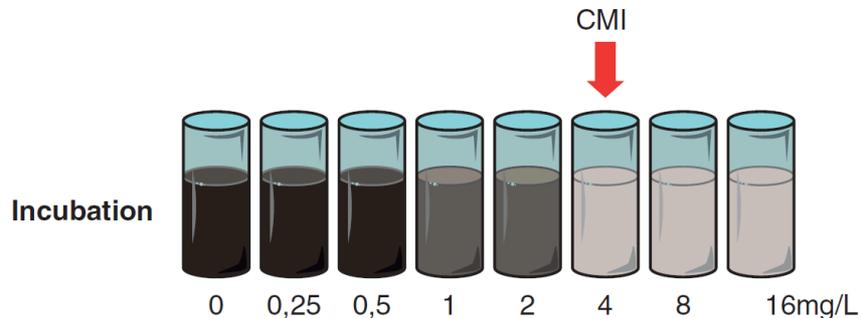


Figure 12 : Détermination de la CMI en milieu liquide (82)

La méthode de diffusion en milieu gélosé (Mueller-Hinton) est basée sur l'utilisation de bandelettes contenant des quantités croissantes de l'antibiotique testé. La CMI correspond à la zone d'intersection entre l'ellipse d'inhibition de la croissance bactérienne et la bandelette E-test® (82) (83).

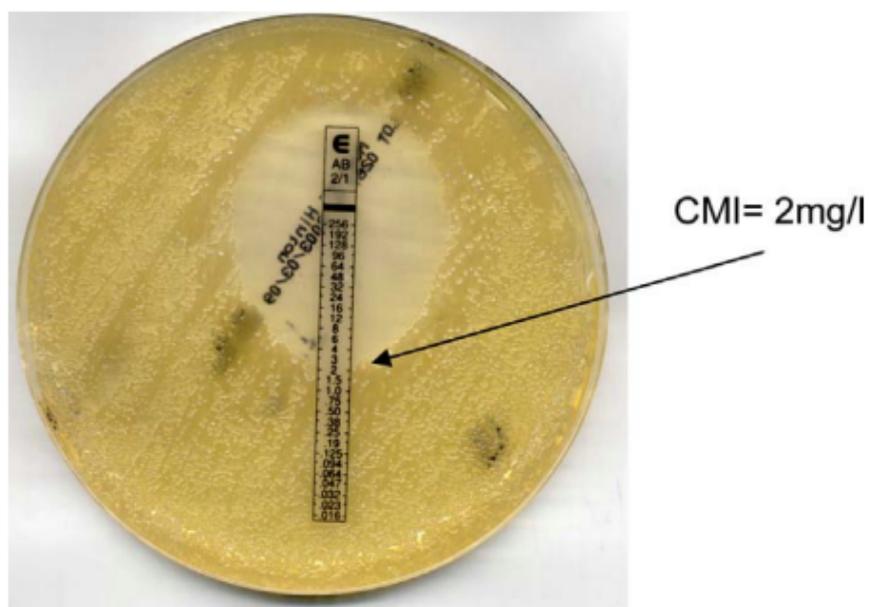


Figure 13 : Détermination de la CMI par bandelette E-test® (83)

2.2.2. Historique des résistances de Salmonella spp aux antibiotiques

Deux changements majeurs dans l'épidémiologie des salmonelloses non typhiques ont eu lieu en Europe et aux Etats-Unis dans la seconde moitié du 20^{ème} siècle : l'émergence d'infections humaines d'origine alimentaire causées par *Salmonella enterica* sérotype Enteritidis, puis l'apparition de souches multirésistantes (i.e. souches ayant acquis des résistances à au moins 3 antibiotiques, historiquement le chloramphénicol, l'ampicilline et le triméthoprime-sulfaméthoxazole) de *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium (8). La résistance de *Salmonella* Typhimurium aux antibiotiques a émergé durant les années 1960, et a considérablement augmenté sur la période entre 1990 et 1999 (84).

La résistance multiple de *Salmonella* aux antibiotiques a été identifiée au Royaume Uni en 1964. Dans les 5 années qui ont suivi, une souche multi-résistante de *Salmonella* Typhimurium, résistante à l'ampicilline, à la streptomycine, aux sulfonamides, aux tétracyclines et à la furazolidone a entraîné plusieurs infections chez les bovins et les humains (85). Cette épidémie a entraîné plusieurs décès, notamment chez des sujets fragiles, et a soulevé la problématique de l'utilisation d'antimicrobiens en tant que facteurs de croissance (additifs alimentaires) chez le bétail. En 1969, le Comité de Swann (Comité Mixte sur l'Utilisation des Antibiotiques en Élevage et en Médecine Vétérinaire) a ainsi recommandé la suppression de cette pratique. Des lois ont par la suite été mises en place et cette souche a disparu chez les bovins en 1971 au Royaume-Uni.

Dans les années 1975-1980, une augmentation des souches de *S. Typhimurium* chez les animaux d'élevages (bovins) s'est de nouveau produite, accompagnée d'une augmentation de la proportion de souches ayant acquis des résistances chez l'humain. La souche identifiée durant cette épidémie se nomme *S. Typhimurium* Phage type 204. Ces souches résistantes ont acquis des plasmides et des transposons codant pour la résistance à plusieurs antibiotiques : l'ampicilline, le chloramphénicol, la gentamicine, la kanamycine, la streptomycine, les sulfonamides, les tétracyclines et le triméthoprime (86). Elles sont devenues épidémiques chez les bovins et les humains au Royaume-Uni et, suite à l'exportation du bétail vers plusieurs pays européens, une dissémination s'est produite en Allemagne, en Belgique, en France et en Italie (84).

Sur cette même période, différentes épidémies de *Salmonella* Typhi ayant acquis des résistances à des antibiotiques de choix ont eu lieu dans plusieurs pays d'Inde et d'Asie du Sud-Est (87). Ces épidémies étaient souvent associées à la consommation d'eau contaminée, la transmission de personne à personne était également un facteur important dans leur dissémination (84).

Une augmentation considérable de la proportion de souches de *S. Typhimurium* ayant acquis des résistances s'est produite entre les années 1991 et 2004, avec l'émergence d'une souche multi-résistante nommée *S. Typhimurium* Definitive Phage Type (DT) 104. Cette souche est résistante simultanément à 5 antibiotiques : l'ampicilline, le chloramphénicol, la streptomycine, les sulfamides et la tétracycline (88) (89). Quinze % des souches ont également une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine. *S. Typhimurium* DT104 est devenue la deuxième souche la plus répandue de *Salmonella* isolée chez l'Homme au Royaume-Uni, après la souche PT4 de *Salmonella* Enteritidis au milieu des années 1990 (90). Les infections chez l'Homme causées par cette souche ont été associées à la consommation de viande (poulet, bœuf, porc). La résistance aux antibiotiques de *Salmonella* Typhimurium DT104 est principalement due à un îlot génomique nommé *Salmonella Genomic Island 1* (SGI1). Il s'agit d'un élément génétique mobile qui porte différents clusters génomiques et plasmides conférant une résistance aux antibiotiques (91). Le pourcentage de souches de *S. Typhimurium* simultanément résistantes à 5 antibiotiques est passé de moins de 1% en 1979-1980 à 34% en 1996, la plupart étant des souches DT104, indiquant sa propagation clonale (92).

La multirésistance aux antibiotiques (MDR) est définie par la résistance aux 3 antibiotiques historiquement utilisés dans le traitement des salmonelloses : le chloramphénicol, l'ampicilline et le triméthoprime-sulfaméthoxazole. Des souches MDR de *Salmonella* résistantes également aux C3G et aux FQ ont émergé et ont été définies comme XDR (*Extensively Drug Resistant*) (93).

2.2.3. Épidémiologie actuelle des résistances en France

Dans les pays développés, l'apparition de souches de salmonelles non typhiques résistantes aux antibiotiques semble due au mauvais usage des antibiotiques chez les animaux d'élevage. En effet, ils peuvent être utilisés à but thérapeutique mais également prophylactique pour améliorer la croissance des animaux. Malgré la législation visant à contrôler l'usage des antibiotiques chez les animaux d'élevage, il a été observé ces dernières années une augmentation de la proportion de souches de salmonelles non typhiques résistantes aux antibiotiques, en Europe et en Amérique du Nord (84). Le taux de résistance aux antibiotiques varie selon les différents sérotypes et les différents antibiotiques. Le sérotype Enteritidis semble relativement plus sensible aux antimicrobiens que les autres sérotypes (88).

Dans les pays en voie de développement, la proportion de souches résistantes de salmonelles typhiques et non typhiques est également en augmentation, plutôt en lien avec l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine, hospitalière ou de ville. La fréquence d'isolement des souches de *Salmonella* Typhi résistantes aux antibiotiques augmente aussi dans les pays développés, en particulier chez des voyageurs de retour de pays où elles sont endémiques (94).

Le CNR-ESS exerce en France une surveillance de la résistance des *Salmonella* aux anti-infectieux en suivant les recommandations de l'EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*). En 2020, 750 souches ont été analysées, représentant 10,5% de souches reçues au CNR. Pour ces souches, des CMI ont été déterminées par microdilution en plaque. L'analyse a été effectuée chez (14) :

- 5% des sérotypes les plus fréquents : Enteritidis (n = 100), 1,4,(5),12:i:- (variant monophasique de *S. Typhimurium*, n = 101)
- 10% des souches de sérotype Typhimurium (n = 101)
- 50% des souches des sérotypes suivants : Newport (n = 73), Infantis (n = 82), Derby (n = 67), Dublin (n = 42), Virchow (n = 16), Hadar (n = 21)
- 100% des souches des sérotypes suivants : Kentucky (n = 40), Paratyphi B biotype Java (dt+) (n = 13)
- 5% des souches de sérotype autre (n = 94, chez 48 sérotypes)

L'étude de la résistance par antibiogrammes en diffusion sur milieu gélosé (disques de BioRad®) a été réalisée pour toutes les souches de sérotypes Typhi (n = 83), Paratyphi A (n = 19) et Paratyphi B dt- (n = 5).

Le Tableau 14 représente les pourcentages de résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *Salmonella* étudiées au CNR. Les résistances sont définies selon les recommandations européennes de l'EUCAST. N est le nombre de souches reçues au CNR, et n correspond à celles dont la résistance a été étudiée.

Ce tableau regroupe les résultats obtenus par microdilution pour les sérotypes mineurs et par antibiogramme sur milieu gélosé pour les sérotypes majeurs. La résistance à la ciprofloxacine est divisée en deux catégories (14) :

- Sensibilité diminuée à la ciprofloxacine : CMI comprise entre 0,06 et 0,5 mg/L
- Résistance de haut niveau à la ciprofloxacine : CMI supérieure ou égale à 0,5 mg/L, indiquée dans le tableau entre parenthèses

Antibiotique	% de souches résistantes		
	2018 (n = 1 210) (N = 9 145)	2019 (n = 1 183) (N = 9 215)	2020 (n = 861) (N = 7 181)
Ampicilline	26,3	21	19,5
Céfotaxime	1,4	1,9	0,7
Méropénème	0	0	0
Gentamicine	9	5,1	2,8
Acide nalidixique	25,8	23,9	14,6
Ciprofloxacine	8,3 (27,5)*	13,9 (25,9)*	5,6 (9,4)*
Azithromycine	0,6	0,3	0,3
Chloramphénicol	5,5	6,1	7,0
Sulfamides	30	20,6	23,9
Triméthoprim	6	5,2	3,4
Tétracycline	31	23,6	24,4
Colistine	8,5	5,7	6,2

Tableau 14 : Résistance aux antibiotiques de souches de Salmonella étudiées au CNR-ESS entre 2018 et 2020 (14)

2.2.3.1. Épidémiologie de la résistance aux β-lactamines

En 2020, sur les 101 souches étudiées par le CNR, une souche de *Salmonella* Typhimurium contenait le gène *bla*_{CTX-M-9} codant pour une β-lactamase de spectre étendu (BLSE), sans notion de voyage retrouvée à l'enquête étiologique. Cette souche présentait un profil complet de résistance, touchant : ampicilline, céfotaxime, gentamicine, sulfamides, triméthoprim, tétracycline, ciprofloxacine (14).

Soixante-dix-neuf souches du variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium (78,2%) étaient résistantes à l'ampicilline, dont 59 avaient le profil de multirésistance ampicilline-sulfamides-tétracycline (les gènes retrouvés étaient *bla*_{TEM-1B}, *sul2* et *tet(B)*) sur les 101 souches étudiées. Seule une souche de *Salmonella* Enteritidis était résistante aux aminopénicillines en 2020 sur les 100 souches étudiées (14).

Au début des années 2000, un clone multirésistant de *Salmonella* Kentucky, ST198-X1, a été identifié. Seulement 3 des 40 souches analysées en 2020 (7,5%) présentaient un profil de pan-sensibilité aux antibiotiques (95) (96) (97). Les souches multirésistantes du sérotype Kentucky en 2020 étaient associées aux pays du Maghreb. Une souche retrouvée après un voyage en Égypte produisait une BLSE (codée par le gène *bla*_{CTX-M-14}) et présentait des résistances associées, entraînant un profil de multirésistance ampicilline, céfotaxime, gentamicine, ciprofloxacine, chloramphénicol, sulfamides, tétracycline. Deux souches produisaient des céphalosporinases de type AmpC. La première, isolée après un voyage en Égypte, contenait le gène *bla*_{CMY-2} qui confère un profil de multirésistance ampicilline, céfotaxime, céfoxitine, et des résistances associées à la gentamicine, la ciprofloxacine, le chloramphénicol, les sulfamides et la tétracycline. La deuxième, retrouvée chez un patient revenant d'Algérie, contenait les gènes *bla*_{CMY-4} et *mph(A)* qui confèrent le profil de multirésistance ampicilline, céfotaxime, céfoxitine, azithromycine, et était également résistante à la ciprofloxacine, au chloramphénicol, aux sulfamides, au triméthoprime et à la tétracycline (14).

Une souche de *Salmonella* Derby sur les 67 étudiées produisait une BLSE codée par le gène *bla*_{CTX-M-1}, dans un contexte de multirésistance ampicilline, céfotaxime, sulfamides, tétracycline, sans notion de voyage rapportée pour le patient. Une souche ayant un profil de multirésistance ampicilline, ciprofloxacine, chloramphénicol, sulfamides, triméthoprime, tétracycline a été retrouvée chez un patient revenant de Thaïlande (14).

Une souche de *Salmonella* Newport sur les 73 étudiées produisait une céphalosporinase de type AmpC, codée par le gène *bla*_{CMY-2}. Elle présentait un profil complet de résistance : ampicilline, céfotaxime, céfoxitine, sulfamides, chloramphénicol, tétracycline (14).

Le CNR-ESS analyse les souches de *Salmonella* Dublin depuis 2018 en raison de son invasivité : seulement 31,5% des prélèvements retrouvant cette souche étaient issus des selles, le reste provenait d'hémocultures, de liquide d'ascite, de liquide synovial ou péricardique, ou d'urines. La plupart des souches de sérotype Dublin en 2020 étaient sensibles aux antibiotiques, aucune souche n'était résistante aux C3G ou aux carbapénèmes (14).

Une résistance aux C3G chez des souches de *Salmonella* Typhi a été observée pour la première fois en 2018 en France. Les souches concernées étaient toutes productrices de la BLSE CTX-M-15. En 2019, 11 souches productrices de BLSE ont été identifiées, toutes porteuses du gène *bla*_{CTX-M-15}, et toutes isolées de patients revenant du Pakistan (14). Entre 2019 et 2020, le nombre de souches de sérotype Typhi isolées en France s'est réduit de 43%, probablement en lien avec la restriction aux voyages internationaux durant la pandémie de SARS-CoV-2. Aucune des souches de *Salmonella* Typhi isolées en France en 2020 n'était productrice de BLSE ou ne présentait de résistances aux C3G (14).

Une souche de sérotype Paratyphi B biotype Java (dt+) montrait le profil de multirésistance suivant : ampicilline, ciprofloxacine, chloramphénicol, sulfamides, triméthoprime, sans notion de voyage rapportée chez le patient (14).

En conclusion, la proportion des résistances aux C3G reste faible en France, où 0,7 % des souches analysées par le CNR en 2020 montrent une résistance au céfotaxime. De plus, aucune de ces souches n'est résistante aux carbapénèmes.

2.2.3.2. Épidémiologie des résistances aux quinolones

Une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine a été retrouvée en 2020 chez 12 souches de *S. Typhimurium* sur 101 2 souches de son variant monophasique sur 101 souches et 10 souches de *S. Enteritidis* sur 100 (dont une isolée chez un patient revenant de Tunisie). La plupart sont en lien avec la présence de gènes de type *qnr* (notamment *qnrB19*) ou à des mutations dans le gène *gyrA* (14).

Des souches de *Salmonella* Kentucky ayant une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine mais une sensibilité conservée à l'acide nalidixique ont été identifiées en 2020. Ce profil est en lien avec un gène plasmidique *qnrS1* (14).

Concernant les souches de salmonelles majeures, 13 souches sur 83 de *S. Typhi* avaient une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine, dont 7 étaient associées à une notion de séjour en Asie (Cambodge, Inde et Pakistan) et une en Afrique (Mali) (14).

Le nombre de souches isolées de *Salmonella* Paratyphi A a diminué de 54% entre 2019 et 2020. Les seules résistances aux antibiotiques identifiées en 2020 étaient une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine pour 17 souches sur 19. Des séjours en Asie ont été indiqués pour toutes ces souches résistantes à l'exception d'une (14).

Comme pour les autres sérotypes majeurs, le nombre de souches de *Salmonella* Paratyphi B a diminué de plus de 50% entre 2019 et 2020. Une seule souche de sérotype Paratyphi B (dt-) sur 13, isolée chez un patient au retour d'un voyage aux Etats-Unis, montrait une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (14).

En conclusion, les salmonelles présentent des taux de résistance aux fluoroquinolones plus importants que ceux observés pour les C3G. Parmi les souches analysées au CNR en 2020, 5,6% ont une CMI pour la ciprofloxacine supérieure à 0,5 mg/L et 9,4% ont une sensibilité diminuée à la ciprofloxacine (CMI comprise entre 0,06 et 0,5 mg/L).

2.2.3.3. Épidémiologie des résistances à l'azithromycine

En 2020, aucun des sérovars suivants ne montrait de résistance à l'azithromycine : *S. Typhimurium* et son variant monophasique, *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Newport*, *S. Hadar*, *S. Virchow*, *S. Typhi*, *S. Paratyphi* A et B (14).

Cinq % des souches de *S. Kentucky* étaient résistantes à l'azithromycine en 2020. L'une d'elles, isolée chez un patient revenant d'Algérie, était porteuse du gène *bla_{CMY-4}* et présentait un profil de multirésistance ampicilline, céfotaxime, céfoxitine, ciprofloxacine, chloramphénicol, sulfamides, triméthoprime, tétracycline. Cette souche contenait le gène *mph(A)* en plus de sa β -lactamase AmpC codée par le gène *bla_{CMY-4}*. Sa CMI pour l'azithromycine était supérieure à 64 mg/L. Une autre souche présentait le profil de multirésistance ampicilline, gentamicine, ciprofloxacine, sulfamides, triméthoprime, tétracycline, azithromycine. Elle était également porteuse du gène *mph(A)* et isolée chez un patient au retour d'Algérie (14).

Deux souches de *Salmonella* Derby sur les 67 étudiées semblaient résistantes à l'azithromycine (CMI = 32 mg/L), sans qu'un gène de résistance ait pu être identifié. Ces souches étaient sensibles à l'azithromycine lorsque la CMI était déterminée sur milieu gélosé, par la méthode E-test. Cette discordance a été également observée pour 8 souches de *Salmonella* Dublin, qui étaient résistantes à l'azithromycine en microdilution (CMI = 32 mg/L), mais sensibles lorsque l'azithromycine était testée par la méthode E-test (14).

En conclusion, les souches cliniques de *Salmonella* étudiées au CNR en 2020 présentent très peu de résistances à l'azithromycine. Seules 0,3% des souches étudiées ont été catégorisées résistantes à l'azithromycine. Cette proportion reste stable, passant de 0,6% en 2018 à 0,3% en 2019 et 2020.

2.2.4. Mécanismes de résistance de *Salmonella* aux antibiotiques : fluoroquinolones

2.2.4.1. Mécanismes d'action des fluoroquinolones

Les fluoroquinolones sont des anti-infectieux actifs sur des bactéries de type cocci à Gram positif (staphylocoques), sur des bacilles à Gram négatif tels que les entérobactéries ou *Pseudomonas aeruginosa*, et sur des bactéries intracellulaires. Elles agissent en inhibant la synthèse et de la réplication de l'ADN bactérien, par action sur deux enzymes :

- La topoisomérase II des bactéries à Gram négatif, également appelée ADN gyrase, responsable du super-enroulement de l'ADN au moment de la réplication
- La topoisomérase IV des bactéries à Gram positif, responsable du déroulement de l'ADN

Par formation d'un complexe stable ADN-FQ-topoisomérase, un encombrement stérique empêche la fonction de l'enzyme et ainsi la réplication de l'ADN bactérien. Elles exercent un effet bactéricide rapide, concentration-dépendant ainsi qu'un effet post-antibiotique.

2.2.4.2. Mécanismes de la résistance aux fluoroquinolones

De même que pour d'autres bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, la résistance aux fluoroquinolones est principalement due à des mutations génétiques de l'ADN gyrase, sur la région QRDR (*Quinolone Resistance-Determining Region*), comprise entre les acides aminés

67 et 106. Le gène *gyrA* code pour la sous unité A de la gyrase qui, sous forme complexée avec l'ADN, est la cible principale des fluoroquinolones (98). Les mutations ponctuelles de *gyrA* les plus fréquemment observées chez les salmonelles résistantes aux FQ sont des changements d'acide aminé au niveau du codon 83 (changement de la sérine pour de la phénylalanine, de la tyrosine ou de l'alanine) et au niveau du codon 87 (changement de l'acide aspartique pour de la glycine, de l'asparagine ou de la tyrosine) (98). Des modifications d'acides aminés associées aux mutations de *gyrB*, telles que la substitution de la tyrosine par une sérine sur le codon 463, contribuent également à la résistance des salmonelles aux fluoroquinolones.

Un système d'efflux nommé AcrAB-TolC et ses gènes de régulation, *marRAB* et *soxRS* semblent également participer à la résistance aux fluoroquinolones (98). Sur le plan expérimental, lorsque le gène *acrB* du système d'efflux est inactivé, le niveau de résistance aux fluoroquinolones est significativement réduit, même en présence de plusieurs mutations des gènes cibles des antibiotiques (99). Des modifications de l'expression des protéines de la membrane externe, comme OmpF, ou des lipopolysaccharides ont également été découvertes chez des salmonelles résistantes aux fluoroquinolones (98).

2.2.5. Mécanismes de résistance de *Salmonella* aux antibiotiques : C3G

2.2.5.1. Mécanisme d'action des C3G

Les céphalosporines de 3^{ème} génération sont des antibiotiques de la famille des β -lactamines. Parmi les céphalosporines, le spectre des C3G est orienté vers les bacilles à Gram négatif. Certaines bactéries y sont naturellement résistantes, telles que les entérocoques ou *Listeria monocytogenes*. Leur mécanisme d'action est commun à toutes les β -lactamines. Elles pénètrent dans les bactéries par diffusion passive chez les bactéries à Gram positif ou par passage via la membrane externe ou les porines chez les bactéries à Gram négatif. Elles exercent ensuite une inhibition compétitive des Protéines Liant les Pénicillines, ou PLP, qui sont des transpeptidases assurant la synthèse de la paroi bactérienne. Cette inhibition est permise par une analogie de structure entre les β -lactamines et le peptidoglycane qui est le substrat naturel des PLP. Ces antibiotiques miment la séquence D-Ala D-Ala du peptidoglycane bactérien et permettent ainsi d'inhiber la synthèse de la paroi bactérienne.

2.2.5.2. Mécanismes de la résistance aux C3G

Les mécanismes principaux de résistance des bactéries aux β -lactamines peuvent être divisés en 4 catégories :

- Inactivation de l'antibiotique par une enzyme (β -lactamase) : pénicillinase, céphalosporinase, β -lactamase de spectre étendu (BLSE), carbapénémase
- Modification de la cible : diminution de l'affinité des PLP, utilisation de PLP alternatives (ces mécanismes sont notamment retrouvés chez les cocci à Gram positif : staphylocoques, streptocoques)

- Imperméabilité (chez les bactéries à Gram négatif) : modification/perte de porines
- Efflux actif entraînant la sortie de l'antibiotique hors de la bactérie

Les salmonelles peuvent produire diverses enzymes hydrolysant les C3G, dont la majorité sont des BLSE (principalement de type CTX-M) et plus rarement des céphalosporinases de type AmpC (en particulier le type CMY-2) qui peuvent hydrolyser les céphalosporines et les céphamycines (100) (101). Des β -lactamases de type SHV, TEM, ACC, PER, OXA et DHA ont également été reportées chez des salmonelles (102).

Les gènes codant ces enzymes sont portés par des plasmides conjugatifs, des transposons et des intégrons. Ces éléments génétiques mobiles peuvent effectuer un transfert horizontal afin de se propager entre les différentes entérobactéries. Ainsi, la résistance aux antimicrobiens chez les salmonelles peut émerger en raison d'une pression de sélection causée par l'utilisation inappropriée des antibiotiques chez les animaux d'élevage, mais les salmonelles sensibles aux antibiotiques peuvent également y devenir résistantes via l'acquisition *in vivo* de plasmides de résistance aux antibiotiques, provenant d'autres bactéries du tractus digestif (100).

Des expériences de génotypage et d'analyse des plasmides montrent que la dissémination clonale et le transfert de gènes de résistance, tels que *bla_{CMY-2}*, contribuent à propager le déterminant de la résistance aux antibiotiques (101). De plus, les plasmides de résistance peuvent se combiner avec des plasmides de virulence spécifiques du sérotype de *Salmonella* concerné, pouvant constituer un plasmide hybride virulence/résistance (103). Ces événements évolutifs confèrent aux salmonelles l'avantage de survivre dans un environnement défavorable mais également de disséminer sous la forme d'une nouvelle lignée génétique, entraînant une augmentation de la prévalence de salmonelles résistantes aux antibiotiques chez l'Homme et chez l'animal (104).

2.3. Azithromycine et *Salmonella* spp

En raison de la résistance aux antibiotiques historiquement utilisés dans le traitement des infections à *Salmonella* (chloramphénicol, ampicilline et triméthoprime-sulfaméthoxazole), les C3G et les fluoroquinolones sont devenues les traitements de choix pour les infections à *Salmonella* multirésistantes. Cependant, de nombreux pays signalent depuis 1991 des épidémies à *Salmonella* résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (105) (106), ces souches sont caractérisées comme XDR (*Extensively Drug Resistant*). Le début du 21^{ème} siècle est marqué par une augmentation de la résistance aux fluoroquinolones et aux C3G des souches de salmonelles non typhiques. Certaines souches isolées à partir de patients montrent également une résistance aux carbapénèmes (8).

Les salmonelles présentent des taux de résistance largement inférieurs pour l'azithromycine en comparaison avec les taux observés pour les C3G ou les fluoroquinolones. Il s'agit d'un antibiotique plus aisément utilisé en ambulatoire que les C3G, en raison de son

administration par voie orale. Son spectre d'activité antibactérienne est plus étroit et exerce moins de pression de sélection sur les bactéries que des antibiotiques à spectre plus large tels que les C3G ou les fluoroquinolones. De plus, son utilisation est plus aisée que celle des FQ chez les enfants en raison de son profil d'effets indésirables moins important. Ces arguments font de l'azithromycine un antibiotique de choix dans le traitement des infections à *Salmonella* spp.

2.3.1. Azithromycine : pharmacologie

2.3.1.1. Structure, classification des macrolides

Les macrolides sont des antibiotiques caractérisés par un macrocycle lactonique réuni à des oses et substitué à des hydroxyles, des groupements alkyles et une fonction basique. Le tableau ci-dessous résume la classification des macrolides par leur nombre d'atomes de carbone ainsi que leurs propriétés structurales (107).

Nombre d'atomes de carbone	Macrocycle	Fonction basique	Nombre de sucres	Positionnement des sucres	Principe actif
12 atomes	Méthymycine	Cétone	1	1 sucre aminé	Aucun
14 atomes	Erythromycine	Cétone	2	1 sucre aminé 1 sucre neutre	Erythromycine Clarithromycine Roxithromycine
15 atomes	Azithromycine	Cétone	2	1 sucre aminé 1 sucre neutre	Azithromycine
16 atomes	Leucomycine	Aldéhyde	2	1 sucre aminé 1 sucre neutre	Spiramycine

Tableau 15 : Classification structurale des macrolides (107)

L'azithromycine est un macrolide à 15 atomes de carbone, chef de file de la classe des azalides. Il s'agit d'un dérivé de l'érythromycine comprenant un atome d'azote dans le cycle lactone, ce qui lui confère une stabilité en milieu acide, une meilleure pénétration tissulaire et une meilleure tolérance digestive que l'érythromycine (107) (108).

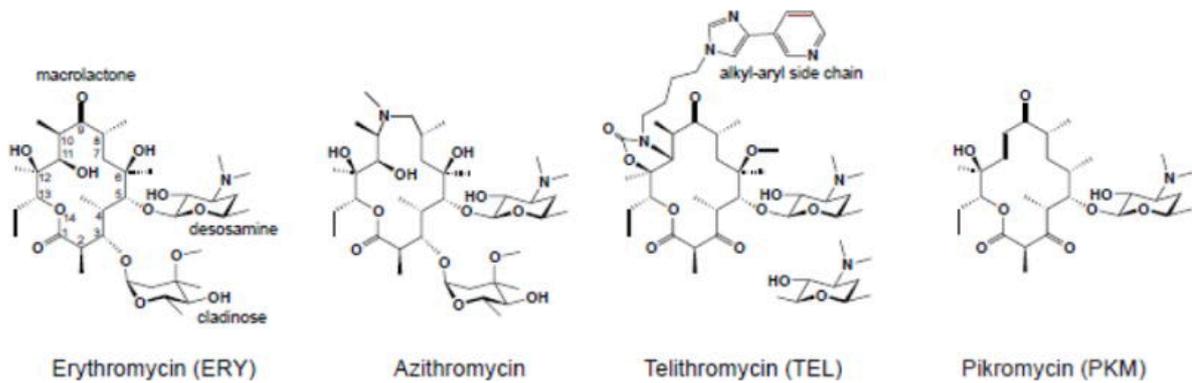


Figure 14 : Structure chimique des macrolides (108)

2.3.1.2. Pharmacocinétique

L'absorption de l'azithromycine est rapide après son administration orale. Elle n'est pas influencée par la prise alimentaire. Le pic des concentrations plasmatiques est atteint en 2 à 3 heures. La liaison aux protéines plasmatiques est de l'ordre de 20% pour l'azithromycine, et plus importante pour l'érythromycine et la roxithromycine (entre 80 et 95%) (107) (109).

Des études pharmacocinétiques montrent que les taux tissulaires d'azithromycine peuvent être jusqu'à 50 fois supérieurs aux taux plasmatiques, reflétant la forte affinité tissulaire des macrolides. La distribution dans l'organisme de l'azithromycine est large : après une prise unique de 500 mg, les concentrations observées dans les tissus cibles dépassent les CMI₉₀ des germes. Les macrolides pénètrent et s'accumulent dans les phagocytes (polynucléaires neutrophiles, monocytes, macrophages péritonéaux et alvéolaires). Ces concentrations intraphagocytaires élevées expliquent l'efficacité de l'azithromycine sur les bactéries intracellulaires. Il existe un passage placentaire et une excrétion dans le lait maternel. Les concentrations dans le liquide céphalorachidien des macrolides sont toujours faibles (107) (109).

Après élimination, l'azithromycine est retrouvée principalement sous forme inchangée dans la bile et les urines. Sa voie majoritaire de biotransformation est hépatique, par N-déméthylation. Les macrolides sont métabolisés par le cytochrome CYP 3A4 dont ils sont inhibiteurs enzymatiques.

La voie principale d'élimination de l'azithromycine est biliaire, et une partie minoritaire est éliminée dans les urines (109).

2.3.1.3. Spectre d'activité

Les macrolides sont principalement actifs contre les bactéries à Gram positif et ont une activité très restreinte sur les bactéries à Gram négatif. Leur spectre est orienté vers les germes Gram positif et intracellulaires. En effet, ils pénètrent difficilement à travers la

membrane des germes à Gram négatif : la plupart des entérobactéries sont naturellement résistantes aux macrolides en raison de l'imperméabilité de leur paroi. Ils sont efficaces sur les *Staphylococcus*, *Streptococcus*, et sur certains germes à Gram négatif comme *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* et *Neisseria meningitidis*. Ils sont également efficaces sur *Mycoplasma* et sur les spirochètes (110).

Cependant, l'azithromycine exerce une activité plus importante sur les entérobactéries en comparaison aux autres antibiotiques de la famille des macrolides, en raison de son caractère basique accru qui favorise l'absorption intracellulaire de la molécule. Les salmonelles sont naturellement résistantes à l'érythromycine via un mécanisme d'efflux (111). Elles sont cependant sensibles à l'azithromycine, qui diffuse bien dans la plupart des tissus et présente des concentrations dans les macrophages et les polynucléaires neutrophiles jusqu'à 100 fois plus élevées que les concentrations sériques (112) (113) (114). Ces propriétés sont intéressantes au vu du caractère intracellulaire facultatif des *Salmonella* spp. Ainsi, malgré la résistance naturelle des entérobactéries aux macrolides, ses propriétés pharmacologiques font de l'azithromycine un traitement de première ligne des salmonelloses et des shigelloses (115).

2.3.1.4. Mécanisme d'action

Le ribosome bactérien permet de traduire l'information génétique codée par l'ARN (acide ribonucléique) messenger (ARNm) afin d'assembler les acides aminés en protéines. Il est constitué de 2 sous-unités (116) :

- La grande sous-unité, ou sous-unité 50S, qui comprend les ARN ribosomaux (ARNr) 23S et 5S ainsi que 34 protéines ribosomales
- La petite sous-unité, ou sous-unité 30S, qui comprend l'ARNr 16S et 21 protéines ribosomales

Les macrolides sont des antibiotiques bactériostatiques. Ils agissent par inhibition de la synthèse des protéines bactériennes, en se fixant de manière réversible sur la sous-unité ribosomale 50S et en inhibant l'action de la peptidyl-transférase. Les acides aminés apportés par l'ARN de transfert ne peuvent plus s'incorporer aux chaînes polypeptidiques, et la synthèse protéique essentielle à la survie bactérienne s'arrête (107). Le site de liaison des macrolides se trouve dans la partie supérieure du tunnel de sortie du peptide ribosomal, il est formé principalement par les nucléotides A2058 et A2059 du domaine V de l'ARN 23S (117). Les macrolides présentent également un effet anti-inflammatoire. Leur effet post-antibiotique implique une activité antibiotique prolongée après arrêt du traitement.

2.3.2. Place de l'azithromycine dans les infections à *Salmonella* spp

2.3.2.1. Infections à salmonelles majeures

En raison du développement de résistances aux antibiotiques historiquement utilisés en première ligne dans le traitement des salmonelloses (ampicilline, triméthoprime-sulfaméthoxazole, chloramphénicol), les recommandations actuelles placent les fluoroquinolones (ciprofloxacine) et les céphalosporines de 3^{ème} génération (ceftriaxone) en première ligne pour traiter les infections invasives à *Salmonella*. Cependant, les souches de *Salmonella* de sérotype Typhi et Paratyphi présentent fréquemment une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones, et peuvent être productrices de BLSE (118).

Dans des essais cliniques évaluant le traitement de la fièvre typhoïde non compliquée, l'azithromycine montre une efficacité équivalente voire supérieure à celle des fluoroquinolones, du chloramphénicol et des céphalosporines de 3^{ème} génération (119) (120) (121) (122) (123).

Chinh et al. ont comparé l'efficacité de l'azithromycine et de l'ofloxacine dans le traitement des fièvres typhoïdes causées par des *Salmonella* MDR ou résistantes à l'acide nalidixique. Des schémas courts de traitement par azithromycine (1 g par jour pendant 5 jours) et par ofloxacine (200 mg x 2/j pendant 5 jours) ont été comparés dans leur étude randomisée menée chez des patients hospitalisés pour une fièvre typhoïde non compliquée. Un total de 88 patients dont les hémocultures étaient positives à *Salmonella* ont été inclus (86 avec *Salmonella* Typhi identifiée, 2 avec *Salmonella* Paratyphi), 44 ont reçu de l'azithromycine et 44 ont été inclus dans le groupe recevant l'ofloxacine. Soixante dix-huit % des souches isolées étaient des souches MDR, et 53% étaient résistantes à l'acide nalidixique. La CMI moyenne de l'azithromycine était de 8 mg/L (4 – 16 mg/L), celle de l'ofloxacine était de 0,03 mg/L (0,015 – 0,06 mg/L) pour les souches sensibles et 0,5 mg/L (0,25 – 1,0 mg/L) pour les souches résistantes à l'acide nalidixique. Il n'y avait pas de différence significative pour les taux de guérison clinique entre les deux groupes : ils étaient de 86,4% dans le groupe ofloxacine et 95,5% dans le groupe azithromycine (p=NS), et de 81% vs 96% pour les souches résistantes à l'acide nalidixique. Cependant, les patients ayant une souche résistante à l'acide nalidixique ont montré une fièvre plus prolongée lorsqu'ils étaient traités par ofloxacine, en comparaison avec l'azithromycine (174 heures vs 153 heures, p=0,004). La tolérance au traitement était similaire pour les deux antibiotiques (120).

Frenck et al. ont mené une étude chez 149 enfants et adolescents âgés de 9 à 17 ans et atteints de fièvre typhoïde, avec une documentation bactériologique retrouvant *Salmonella* Typhi ou Paratyphi. Les traitements comparés étaient l'azithromycine par voie orale (20 mg/kg/j pendant 5 jours) et la ceftriaxone par voie intraveineuse (75 mg/kg/j pendant 5 jours). Aucune différence significative n'a été retrouvée concernant la guérison clinique, qui a été obtenue chez 94% des patients du groupe azithromycine, et 97% du groupe ceftriaxone (p=NS). Le délai moyen de stérilisation des hémocultures était supérieur dans le groupe

azithromycine, mais aucun des patients ayant reçu de l'azithromycine n'a présenté de rechute, contre 6 patients dans le groupe ceftriaxone. La cure de 5 jours d'azithromycine s'avère donc être un traitement efficace de la fièvre typhoïde non compliquée chez les enfants et les adolescents dans cette étude (121).

Un essai clinique randomisé a été mené chez des personnes atteintes de fièvre typhoïde par Girgis et al. afin de comparer l'efficacité de l'azithromycine et de la ciprofloxacine sur des salmonelles majeures multi-résistantes. Parmi 123 sujets présentant des symptômes de fièvre typhoïde, les hémocultures étaient positives à *Salmonella* Typhi pour 59 patients, et à *Salmonella* Paratyphi A dans 3 cas. Les cultures de selles ont retrouvé *S. Typhi* et *S. Paratyphi* chez respectivement 11 et 1 patients. La multirésistance aux antibiotiques était présente dans 21 des souches isolées chez les 64 patients avec des cultures positives. Parmi ces 64 patients, 36 ont reçu 1 g d'azithromycine par voie orale le premier jour de traitement, puis 500 mg /j les 6 jours suivants. Vingt-huit patients ont reçu 500 mg de ciprofloxacine par voie orale pendant 7 jours. La guérison a été obtenue dans les deux groupes de traitement, la diminution de la fièvre s'est produite après une moyenne de 3,8 jours avec l'azithromycine et de 3,3 jours avec la ciprofloxacine. Aucune rechute n'a été détectée, les hémocultures et cultures de selles se sont négativées pendant le traitement, à l'exception d'un patient traité par azithromycine dont les hémocultures étaient toujours positives au jour 4. Cette étude indique donc que l'azithromycine et la ciprofloxacine ont une efficacité similaire, sur le plan clinique et bactériologique, dans le traitement de la fièvre typhoïde causée par des souches MDR de *Salmonella* (122).

Parry et al. ont quant à eux comparé l'efficacité de l'ofloxacine, de l'azithromycine et d'une association ofloxacine-azithromycine dans le traitement des fièvres typhoïdes causées par des souches de salmonelles MDR ou résistantes à l'acide nalidixique. Des enfants et adultes vietnamiens atteints de fièvre typhoïde ont participé à cet essai randomisé comparant : ofloxacine 20 mg/kg/j pendant 7 jours, azithromycine 10 mg/kg/j pendant 7 jours et ofloxacine 15 mg/kg/j + azithromycine 10 mg/kg/j pendant les 3 premiers jours. Cent quatre-vingt-six souches de *Salmonella* Typhi ont été isolées ainsi qu'une souche de *Salmonella* Paratyphi A, 87% des patients de l'étude étaient des enfants. Parmi les souches de *S. Typhi*, 88% étaient MDR (résistantes au chloramphénicol, à l'ampicilline et au triméthoprime-sulfaméthoxazole) et 93% étaient résistantes à l'acide nalidixique. Le taux de guérison était de 64% avec l'ofloxacine, 76% avec l'association ofloxacine-azithromycine, et 82% avec l'azithromycine seule ($p=0,053$). Le temps nécessaire pour diminuer la fièvre était significativement inférieur avec le traitement par azithromycine seule (5,8 jours vs 7,1 jours pour ofloxacine + azithromycine et 8,2 jours pour ofloxacine seule) ($p<0,001$). Concernant les effets indésirables, les deux antibiotiques ont été bien tolérés pendant cette étude. Cette étude amène donc également à la conclusion que la fièvre typhoïde non compliquée, causée par des souches MDR de *Salmonella* ou par des souches résistantes à l'acide nalidixique, peut être traitée efficacement par une cure de 7 jours d'azithromycine (123).

2.3.2.2. Infections à salmonelles mineures

L'azithromycine est également largement utilisée dans le traitement des infections à salmonelles mineures, et en probabiliste pour le traitement des diarrhées du voyageur (9) (124).

Sjölund-Karlsson et al. ont déterminé les CMI de l'azithromycine sur 696 souches de *Salmonella* non typhiques, d'origines humaine, animale et alimentaire. Chez l'Homme, les sérotypes les plus fréquents étaient *Salmonella enterica* Enteritidis (19%) et Typhimurium (13,4%). Les souches provenaient de cultures de selles dans 84,1% des cas et 9,1% étaient isolées à partir d'hémocultures. Les souches restantes venaient d'urines ou d'échantillons d'origine non spécifiée. Chez l'animal, les souches les plus fréquentes étaient le sérotype Kentucky (16,4%), Heidelberg (9,5%) et Montevideo (7,3%). Les CMI sur ces souches non typhiques ont été déterminées par des méthodes de microdilution. Elles variaient entre 1 et 32 mg/L chez l'Homme, et entre 2 et 16 mg/L chez l'animal. La CMI la plus élevée mesurée dans cette étude était de 32 mg/L, à partir de 3 isolats humains (sérotypes Kentucky, Montevideo et Paratyphi A). La distribution des CMI est représentée dans la figure ci-dessous, la ligne en pointillé représente l'ECOFF (*Epidemiological Cutoff Value*) proposé pour définir les souches WT (CMI inférieure ou égale à 16 mg/L). Ces données sont cohérentes avec celles des études menées sur les souches de salmonelles majeures, indiquant une très faible prévalence des souches de *Salmonella* spp résistantes à l'azithromycine (122) (125).

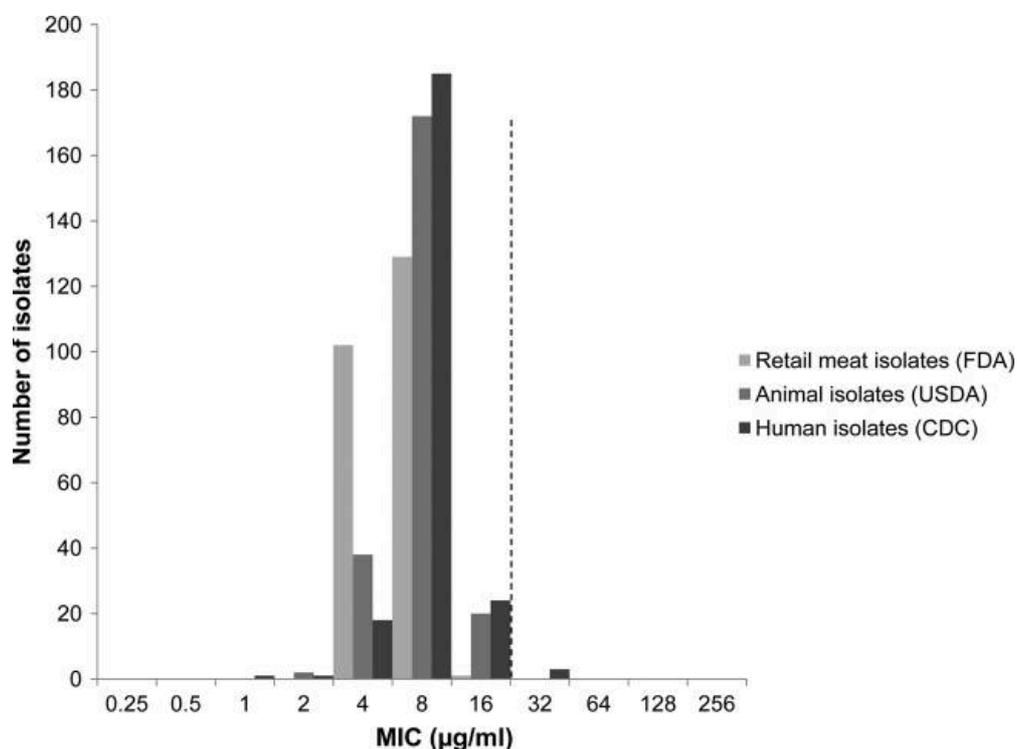


Figure 15 : Distribution des CMI de l'azithromycine pour 696 souches de *Salmonella enterica* non Typhi humaines, animales et alimentaires (125)

Gonzalez-Abad et al. ont étudié la sensibilité *in vitro* à l'azithromycine de souches de salmonelles non typhiques, isolées de patients atteints de gastro-entérite. Les CMI ont été déterminées pour 124 souches, avec la méthode E-test (bioMérieux), en appliquant l'ECOFF de 16 mg/L validé pour les souches de *Salmonella* Typhi. La CMI de l'azithromycine était inférieure ou égale à 16 mg/L pour 98% des souches de l'étude. Seulement 3 souches présentaient une CMI dépassant cet ECOFF. Quarante et un % étaient résistantes à l'amoxicilline, 6% au triméthoprime-sulfaméthoxazole et 2% à la ciprofloxacine. Aucune résistance au céfotaxime n'a été observée (126).

Plusieurs autres études menées en Europe montrent que les CMI de l'azithromycine des souches de *Salmonella* non typhiques sont comprises entre 4 et 8 mg/L en grande majorité (127). Gunell et al. ont étudié l'activité *in vitro* de l'azithromycine sur 1 237 souches de salmonelles non typhiques collectées chez des patients finlandais sur 6 années. Seules 1,9% des souches testées et 5,1% des souches présentant une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones ont montré des CMI supérieures ou égales à 32 mg/L pour l'azithromycine. Ces résultats sont représentés sur la Figure 16, où la ligne en pointillés représente le seuil de CMI définissant une résistance à l'azithromycine chez les salmonelles (128).

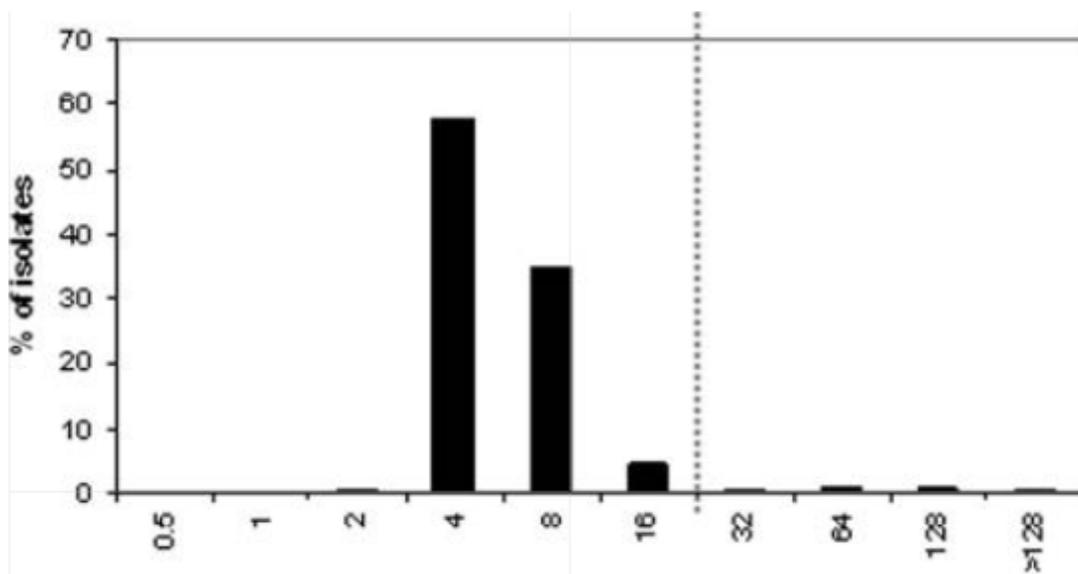


Figure 16 : Distribution des CMI de l'azithromycine pour 1 237 souches de *S. enterica* recueillies chez des patients sur 6 ans (128)

Dans l'étude de Pozo et al., les CMI sont comprises entre 6 et 16 mg/L pour 64 souches de salmonelles non typhiques, avec une seule souche résistante (CMI = 48 mg/L) (129).

Ces études permettent de conclure que l'azithromycine est une molécule de choix dans le traitement des infections non compliquées à salmonelles majeures et dans le traitement des infections digestives causées par des salmonelles mineures, y compris celles dues à des souches multi-résistantes aux antibiotiques.

2.3.3. Mécanismes de résistance des salmonelles à l'azithromycine

La résistance des bactéries à l'azithromycine est due à deux mécanismes principaux :

- L'expulsion des antibiotiques du cytoplasme bactérien par efflux

Les systèmes d'efflux appartiennent à diverses familles comme ABC, MFS, MATE, RND et SMR. Les gènes codant les protéines d'efflux de la famille ABC incluent *msr(A)*, *msr(D)* et *msrE*. Ceux codant les protéines de la famille MFS sont *mef(A)* et *mef(B)*. Ils sont transférables entre différents pathogènes bactériens (130) (131).

- La modification du ribosome bactérien ou de la structure moléculaire des macrolides par des enzymes

Il s'agit d'ARNr (ARN ribosomique) méthylases, estérases et phosphorylases, codées par les gènes *erm*, *ere(A)/ere(B)*, *mph(A)/mph(B)* (132). Les nucléotides A2058 et A2059 de l'ARN ribosomal 23S constituent la poche de liaison des macrolides à leur cible et sont fréquemment sujets à des mutations (117). Les gènes *rlpD* et *rlpV*, codant pour les protéines ribosomales L4 et L22 peuvent également être mutés (133).

Certains de ces mécanismes de résistance ont été identifiés dans les études citées précédemment, visant à évaluer la prévalence de la résistance à l'azithromycine chez les salmonelles. Sjölund-Karlsson et al. ont réalisé sur les souches ayant une CMI à l'azithromycine supérieure ou égale à 32 mg/L une PCR ciblant les gènes de résistance aux macrolides (*ereA*, *ermB*, *mefA*, *mphA*, *mphB* et *mphD*). Cette PCR était négative sur toutes les souches testées, aucun mécanisme de résistance n'a pu être identifié dans cette étude. Cependant, la recherche de mutations dans les gènes *rlpD* et *rlpV* n'a pas été réalisée. Ce résultat peut également s'expliquer par la variabilité dans les méthodes de détermination des CMI, dont le résultat est rendu à une dilution près. En effet, les souches ont été testées une deuxième fois en E-test et les CMI ont été retrouvées à 16 mg/L, indiquant une sensibilité à l'azithromycine (125).

Gunell et al. ont quant à eux recherché par pyroséquençage des mutations ponctuelles sur les nucléotides A2058 et A2059 de l'ARNr 23S chez les souches de *Salmonella* de leur étude qui présentaient une CMI supérieure ou égale à 32 mg/L pour l'azithromycine. Les protéines ribosomales 50S L4 et L22 ont également été amplifiées afin de cribler d'éventuelles mutations chez les souches résistantes à l'azithromycine. Les résultats positifs ont été confirmés par séquençage direct des deux brins d'amplicons à l'aide d'amorces de PCR spécifiques. Aucune mutation n'a été détectée dans les nucléotides A2058 ou A2059. Cependant, le séquençage des protéines ribosomales L4 et L22 a révélé des mutations G235A et C379T dans le gène *rlpD*, et G25A dans le gène *rlpV*. Le Tableau 16 résume les différentes mutations identifiées dans les protéines ribosomales de la sous-unité 50S et leurs profils de CMI associés (128).

<i>S. enterica</i> serovar	Origin	Yr	Mutation in L4 and L22		MIC ^a				
			<i>rlpD</i>	<i>rlpV</i>	AZM	ERY	TEL	CIP	NAL
Blockley	Egypt	2005	G235A		64	>128	>128	0.5	>512
Blockley	Finland	2005	G235A		64	>128	>128	0.25	>512
Blockley	Finland	2006	G235A		128	>128	>128	0.25	>512
Saintpaul	Finland	2006	G235A		64	>128	>128	0.03	16
Typhimurium	Thailand	2008	G235A		128	>128	>128	0.06	16
Typhimurium	Finland	2004	G235A		128	64	ND ^b	0.25	512
Montevideo	Thailand	2004	C379T	G25A	4	64	32	0.5	32
Montevideo	Thailand	2007	C379T	G25A	8	>128	32	0.5	16
Montevideo	Thailand	2008	C379T	G25A	8	>128	4	0.5	16

^aAZM, azithromycin; ERY, erythromycin; TEL, telithromycin; CIP, ciprofloxacin; NAL, nalidixic acid.

^bND, not determined.

Tableau 16 : Mutations identifiées dans les protéines L4 et L22, CMI associées (128)

Des plasmides portant ces déterminants génétiques entraînant la résistance à l'azithromycine ont été identifiés chez certaines souches de *Salmonella*. Parmi eux se trouvent les plasmides de type IncHI2 et IncC identifiés ces dernières années, qui portent le gène *erm(B)* codant une ARNr méthylase (134). Le plasmide IncC code pour une résistance associée à l'azithromycine, à la ceftriaxone et à la ciprofloxacine (135). La plupart de ces plasmides proviennent de bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae* (130). De plus, un nouveau plasmide (pS1380-118 kb) codant à la fois pour des mécanismes de résistance et de virulence chez les *Salmonella* a été observé. Une surveillance de ces plasmides ainsi que l'étude de leur voie de dissémination semblent nécessaire en raison du risque de transmission de souches de salmonelles résistantes à l'azithromycine (130).

Ces mécanismes de résistance à l'azithromycine peuvent être mis en parallèle avec ceux observés chez les shigelles, autres bactéries responsables de diarrhée invasive pour lesquelles l'OMS recommande la ciprofloxacine en traitement de première intention, mais positionne l'azithromycine comme une alternative dans le traitement des souches MDR ou lorsque les quinolones ne sont pas utilisables. Une étude menée en Asie du Sud-Est sur 475 souches de *Shigella* entre 1994 et 2012 a identifié une résistance à l'azithromycine chez 3,3% des souches de *S. flexneri* et 5,4% de souches de *S. sonnei*. Cette résistance a été confirmée par PCR chez 4,6% des souches, pour lesquelles les mutations *mph(A)* et *erm(B)* ont été retrouvées (136).

Des taux de résistance supérieurs ont été identifiés dans une étude menée au Bangladesh en 2022, où 38% des souches de *Shigella* étudiées montraient une résistance à l'azithromycine. Des PCR retrouvent des gènes codant pour des enzymes modifiant la cible de l'azithromycine, notamment *mph(A)* chez toutes les souches de shigelles résistantes à l'azithromycine, *mph(E)* chez 2 des souches et *erm(B)* chez 41% des souches résistantes à

l'azithromycine. Le gène *msr(E)* codant pour une pompe à efflux a également été identifié. De la même manière que pour les salmonelles, des plasmides porteurs de clusters de résistance ont émergé chez les shigelles (137).

D'autres études rapportent également les mêmes mécanismes de résistance à l'azithromycine chez les shigelles que ceux évoqués précédemment pour les salmonelles, comme les gènes *mph(A)*, *erm(B)*, et des mutations dans les gènes *rlpD* et *rlpV* (138) (139). Les shigelles et les salmonelles appartiennent toutes deux à la famille des *Enterobacteriaceae* et présentent les mêmes mécanismes de résistance à l'azithromycine. Cette problématique est cependant plus marquée chez les shigelles avec une émergence importante de souches résistantes à l'azithromycine, alors que la sensibilité à l'azithromycine reste conservée dans la grande majorité des cas de salmonelloses.

Travail expérimental

Comme discuté dans la partie « Revue de la bibliographie » de ce travail, l'azithromycine est un antibiotique de choix dans le traitement des infections à salmonelles, allant des infections digestives à la fièvre typhoïde non compliquée. Peu de résistances à l'azithromycine ont été identifiées et étudiées dans la littérature, l'objectif de ce travail expérimental est donc d'évaluer la sensibilité des souches de *Salmonella* à l'azithromycine par la réalisation de CMI, à partir de souches isolées au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Toulouse entre 2016 et 2021.

1. Matériel et méthodes

1.1. Recueil de données

Cette étude rétrospective a été menée à partir de cas de salmonelloses, causées par des souches de salmonelles majeures et mineures, au CHU de Toulouse entre les années 2016 et 2021.

Une extraction de données sur le système informatique de laboratoire MOLIS a permis d'identifier toutes les souches de *Salmonella* sur la période concernée, représentant un total de 447 souches, ainsi que les informations suivantes :

- Données épidémiologiques : âge, sexe des patients
- Type de prélèvement : selles, hémocultures, urines, autres
- Résultat de la culture : sérotypage de la souche de *Salmonella* réalisé au laboratoire du CHU ou après envoi au CNR, quantification dans le prélèvement, antibiogramme incluant la CMI pour l'azithromycine

Le logiciel ORBIS a permis de documenter le contexte clinique dans lequel la souche de *Salmonella* a été identifiée. Les données suivantes ont été incluses dans l'analyse de données :

- Symptômes :
 - Présence de diarrhée
 - Présence de vomissements
 - Présence de fièvre
- Enquête étiologique :
 - Notion de voyage à l'étranger
 - Présence sujets symptomatiques dans l'entourage du patient
 - Identification d'un repas comme étant à l'origine des symptômes

- Présence de NAC au domicile ou contact récent avec des NAC
- Antibiothérapie :
 - Instauration ou non d'un traitement antibiotique
 - Antibiotiques utilisés

1.2. Identification et conservation des souches de *Salmonella*

Les souches de *Salmonella* ont été conservées à une température de -20°C sur les 6 années précédant l'étude, et au cours de celle-ci. Les souches pour lesquelles la CMI de l'azithromycine était manquante ont été ensemencées sur des géloses BCP (BECTON DICKINSON) qui ont été incubées en atmosphère normale pendant 24 heures à 35 +/- 2°C. Le milieu BCP est un milieu non sélectif, lactosé, utilisé pour la culture des bacilles à Gram négatif non exigeants. Il permet de différencier les bactéries selon leur caractère lactose + ou lactose - :

- Si le milieu vire au jaune, cela signifie qu'il s'est acidifié par fermentation du lactose et donc que la bactérie est lactose +
- Si le milieu reste de couleur violette, cela signifie qu'il ne s'est pas acidifié et que la bactérie est lactose -, ce qui est le cas des salmonelles



Figure 17 : Culture de Salmonella spp sur une gélose BCP

A partir des colonies, l'identification des *Salmonella* a été contrôlée pour chacune des souches ensemencées à l'aide de la spectrométrie de masse MALDI-TOF, sur le MALDI Biotyper® (Bruker). Ce processus a permis de s'assurer de l'absence de contamination des boîtes de culture avant de réaliser les CMI à partir de ces dernières. Cette technologie permet une identification de genre (« *Salmonella* spp »). Le diagnostic d'espèce par agglutination n'a pas été réitéré.

Le MALDI Biotyper® analyse les spectres obtenus pour chaque échantillon et donne un score à l'issue de cette analyse, qui est rendu avec 10 des meilleurs spectres de souches provenant de la base de données. Parmi ces 10 spectres, les scores résumés dans le Tableau 17 permettent de conclure quant à la qualité de l'identification :

- Si tous les scores pour l'identification sont supérieurs à 2, l'identification est considérée à haut niveau de fiabilité
- Si les scores sont compris entre 1,7 et 1,99, l'identification est considérée douteuse et peut être acceptée ou non en fonction de la concordance des 10 propositions faites par le spectromètre
- Si le meilleur des scores est inférieur à 1,7, l'identification est rejetée et doit être réalisée une seconde fois

Range	Interpretation
2.00 - 3.00	High Confidence Identification
1.70 - 1.99	Low Confidence Identification
0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible

Tableau 17 : Interprétations des scores d'identification obtenus au MALDI Biotyper®

Project : 230119-RECHERCHE-ES-2	N-lab : XXXX	Wells : A2 A+++	Patient :
Instrument ID : 8604832.05272		1	Salmonella sp +++ 2.46
Résultat MALDI : 19/01/2023 15:03:26		2	Salmonella sp +++ 2.33
Intégration : 19/01/2023 15:13:39		3	Salmonella sp +++ 2.31
Décodage : 19/01/2023 15:14:09		4	Salmonella sp ++ 2.28
MO proposé : Salmonella sp		5	Salmonella sp ++ 2.26
Rang-Culture proposés : 0-		6	Salmonella sp ++ 2.24
'VALIDE' : 19/01/2023 15:18:17		7	Salmonella sp ++ 2.14
par FLOCH Pauline		8	Salmonella sp ++ 2.11
MO validé : Salmonella sp		9	Salmonella sp ++ 2.1
Rang-Culture validés : -		10	Salmonella sp + 1.97
Numération saisie : ND			

Figure 18 : Exemple d'identification de Salmonella spp obtenue au cours du travail expérimental

1.3. Réalisation des CMI de l'azithromycine

Plusieurs CMI ont dû être réalisées afin de disposer des CMI de l'azithromycine pour toutes les souches de salmonelles isolées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021. Les CMI étaient manquantes et ont été réalisées pour :

- 32 souches de l'année 2016, sur un total de 76 souches de *Salmonella*
- 14 souches de l'année 2017, sur un total de 59 souches de *Salmonella*
- 13 souches de l'année 2018, sur un total de 98 souches de *Salmonella*
- 10 souches de l'année 2019, sur un total de 74 souches de *Salmonella*
- 2 souches de l'année 2020, sur un total de 75 souches de *Salmonella*
- 1 souche de l'année 2021, sur un total de 65 souches de *Salmonella*

Une CMI de contrôle a également été réalisée pour les souches qui présentaient une résistance à l'azithromycine dans l'extraction de données, afin de confirmer ce résultat.

La CMI azithromycine a également été réalisée sur une souche de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213).

Les CMI ont été réalisées selon les recommandations du CASFM 2021 (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie). Les conditions expérimentales étaient celles définies par ce comité pour les entérobactéries, c'est-à-dire en milieu gélosé de Mueller-Hinton. L'inoculum ensemencé était de 0,5 McFarland, et l'incubation était réalisée en atmosphère normale, à une température de 35 ± 2 °C, pour une durée de 20 ± 4 heures. La lecture des CMI a été réalisée en double aveugle.

La détermination des CMI permet de catégoriser cliniquement les souches en S ou R en les comparant à des *breakpoints* cliniques. Ces *breakpoints* sont définis aux Etats-Unis par la *Food and Drug Administration* (FDA) et le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), et en Europe par l'EUCAST (140).

Actuellement, le CLSI et l'EUCAST n'ont pas défini de *breakpoints* pour l'azithromycine chez les *Enterobacteriaceae*, incluant les salmonelles (141) (142). Le concept d'ECOFF a été introduit par l'EUCAST comme moyen de distinguer les bactéries ayant acquis des résistances et les bactéries sauvages (WT, *wild type*) (140). L'ECOFF WT est défini comme inférieur ou égal à X mg/L et permet de diviser la population bactérienne en deux groupes : les WT et les non WT (NWT) qui ont acquis une résistance. L'ECOFF proposé à partir de cette étude pour l'azithromycine chez les salmonelles est inférieur ou égal à 16 mg/L, c'est-à-dire que les souches ayant une CMI supérieure ou égale à 32 mg/L pourraient être considérées comme NWT. Ces données doivent être combinées à des données cliniques, Molloy et al. ont décrit en 2010 un premier cas d'échec thérapeutique chez un patient ayant une infection invasive à *Salmonella* Paratyphi A, présentant une CMI pour l'azithromycine de 64 mg/L puis 256 mg/L après isolement d'une hémoculture (143).

2. Résultats

2.1. Types de prélèvements

L'extraction réalisée sur MOLIS a permis d'identifier le site de prélèvement des 447 souches retenues dans notre étude. Les résultats par année sont détaillés dans le Tableau 18. Sur les 6 années, 74,9% des souches ont été isolées de prélèvement de selles, 13,9% d'hémocultures et 6,7% de sites dits « Autres ». Les types de prélèvements regroupés dans cette catégorie ainsi que le nombre de souches concernées sont les suivants :

- 2016 : réception d'une souche d'un laboratoire extérieur pour identification (support non mentionné, 1), urines (1)
- 2017 : urines (2), traumatologie – jambe droite/tibia (1)
- 2018 : urines (8), liquide articulaire (1), plaie chirurgicale (1), abcès de paroi (1)
- 2019 : urines (4), pus (1), expectoration (1)
- 2020 : urines (1), biliome (1)
- 2021 : urines (5), liquide d'ascite (1)

Nombre de souches	Selles	Hémocultures (n)*	Autres	Total
2016	63	11 (2)	2	76
2017	44	12 (4)	3	59
2018	82	5 (1)	11	98
2019	53	15 (1)	6	74
2020	62	11 (6)	2	75
2021	51	8	6	65
Total	355	62	30	447

*(n) : Nombre de souches retrouvées à la fois dans les hémocultures et dans les selles

Tableau 18 : Types de prélèvements à partir desquels les souches de Salmonella spp ont été isolées chaque année

La Figure 19 représente, toutes années confondues, la distribution des sites de prélèvement à partir desquels les salmonelles ont été isolées, selon le caractère majeur ou mineur des sérotypes. Sur un total de 17 souches de salmonelles majeures isolées entre 2016 et 2021, 13 (76,4%) ont été isolées à partir d'hémocultures, 3 (17,6%) à partir de selles et une (5,9%) à partir d'un biliome. Concernant les souches de salmonelles mineures, sur un total de 430 souches isolées entre 2016 et 2021, 50 (11,6%) ont été isolées d'hémocultures, 351 (81,6%) de selles et 29 (6,7%) de sites « Autres ».

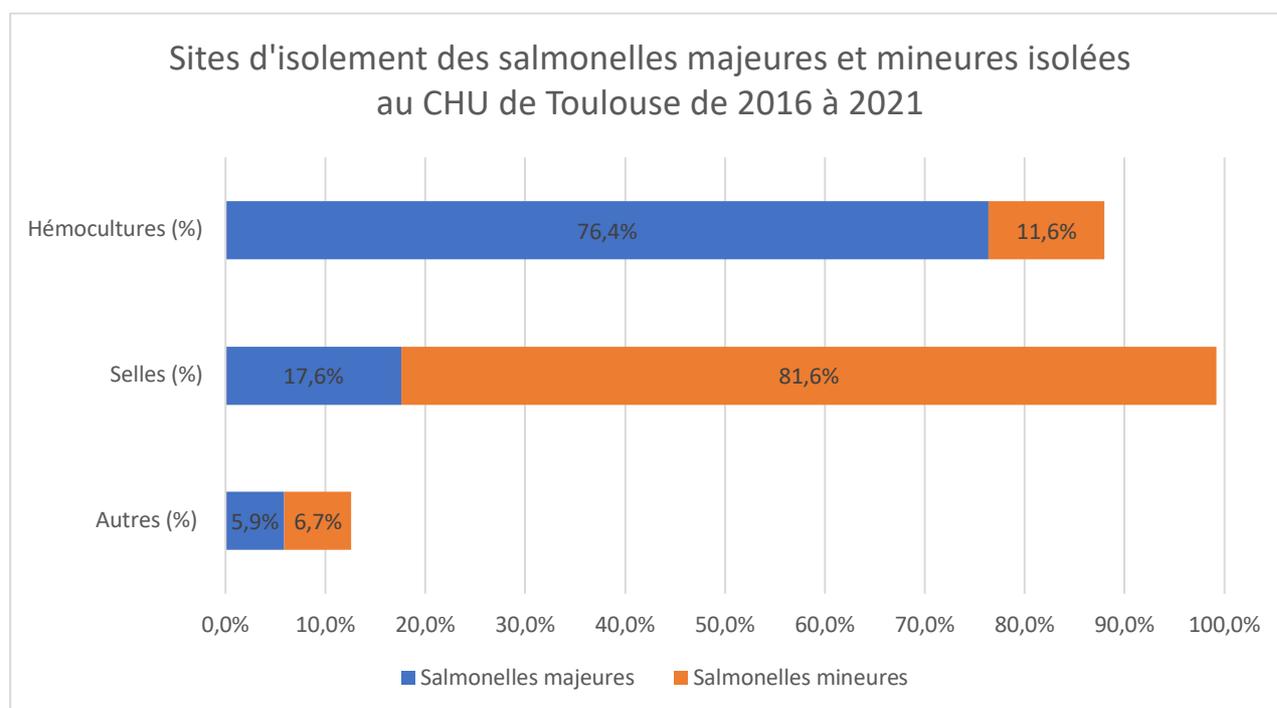


Figure 19 : Sites d'isolement des salmonelles majeures et mineures isolées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021

Cette distribution confirme que les souches de salmonelles majeures sont principalement retrouvées dans des conditions de bactériémie amenant à leur isolement à partir d'hémocultures, et que les salmonelles mineures sont majoritairement isolées à partir des selles. Lors de recueil de données, le contexte clinique et d'éventuelles comorbidités ont été recherchés pour les patients présentant une diffusion systémique d'une souche de *Salmonella* mineure (récapitulatif en Annexe 1). Les comorbidités les plus fréquemment identifiées étaient des pathologies cancéreuses, en particulier des hémopathies (lymphome, leucémie lymphoïde chronique, myélome).

2.2. Sérotypes des souches

Le Tableau 19 représente les proportions de souches mineures et majeures identifiées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021. Au total sur les 6 années, 96% des souches isolées étaient des salmonelles mineures et 4% étaient des souches majeures de *Salmonella*.

	2016	2017	2018	2019	2020	2021
% souches mineures	94,7	96,6	100,0	90,5	97,3	96,9
% souches majeures	5,3	3,4	0,0	9,5	2,7	3,1

Tableau 19 : Proportion des souches majeures et mineures isolées entre 2016 et 2021 au CHU de Toulouse

L'intégralité des souches identifiées entre les années 2016 et 2021 ainsi que les sites anatomiques à partir desquels elles ont été isolées sont listées en Annexe 2. La proportion de chacun des sérotypes dans le total des souches isolées par année est représentée dans les Figures 20 à 25. La majorité des souches de *Salmonella* isolées étaient de sérotype Enteritidis en 2016, 2020 et 2021, et de sérotype Typhimurium en 2017, 2018, 2019.

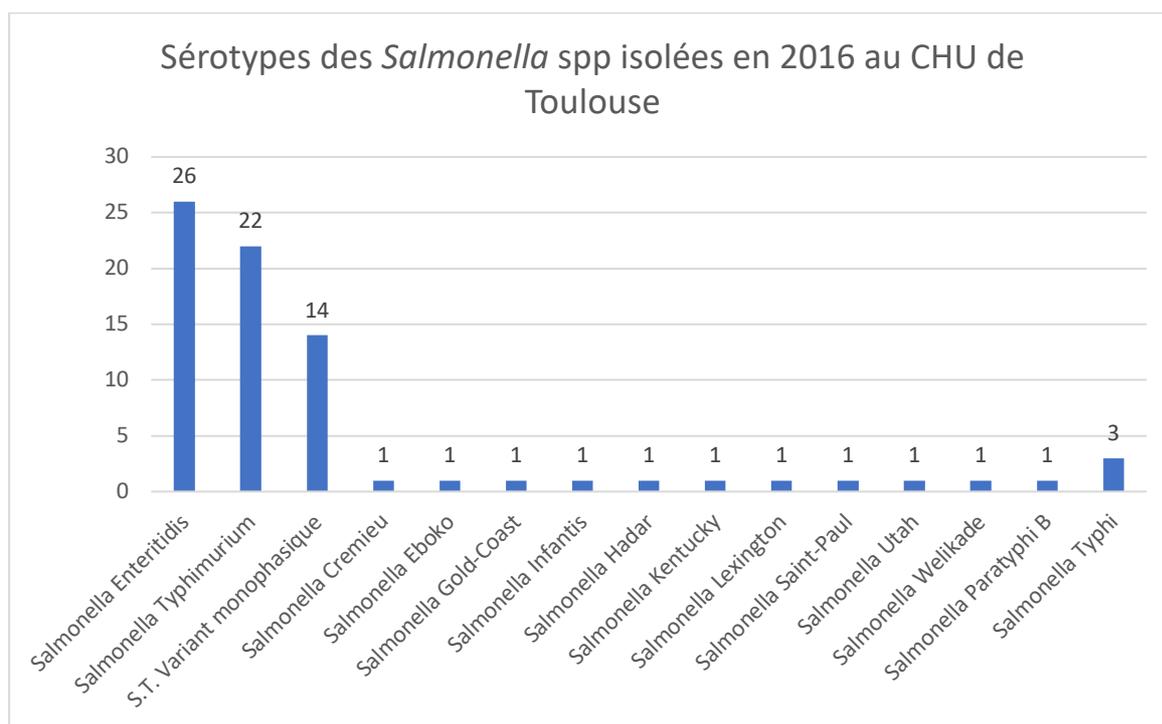


Figure 20 : Sérotypes des Salmonella spp isolées en 2016 au CHU de Toulouse, sur un total de 76 souches

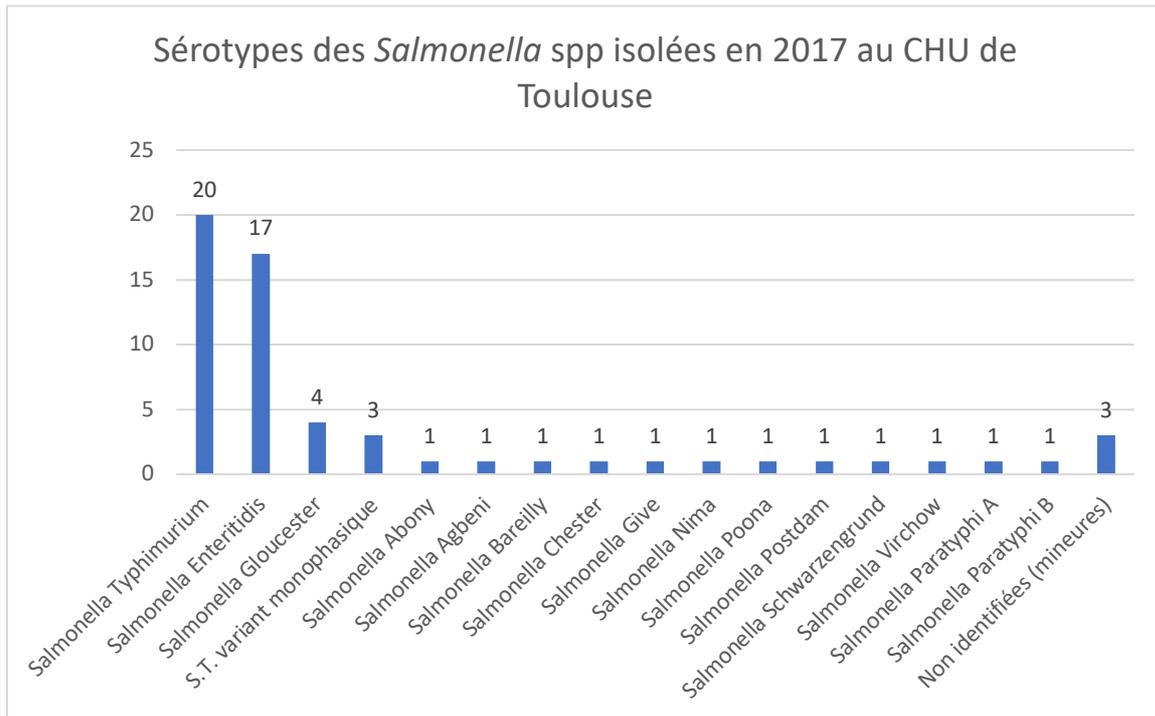


Figure 21 : Sérotypes des *Salmonella* spp isolées en 2017 au CHU de Toulouse, sur un total de 59 souches

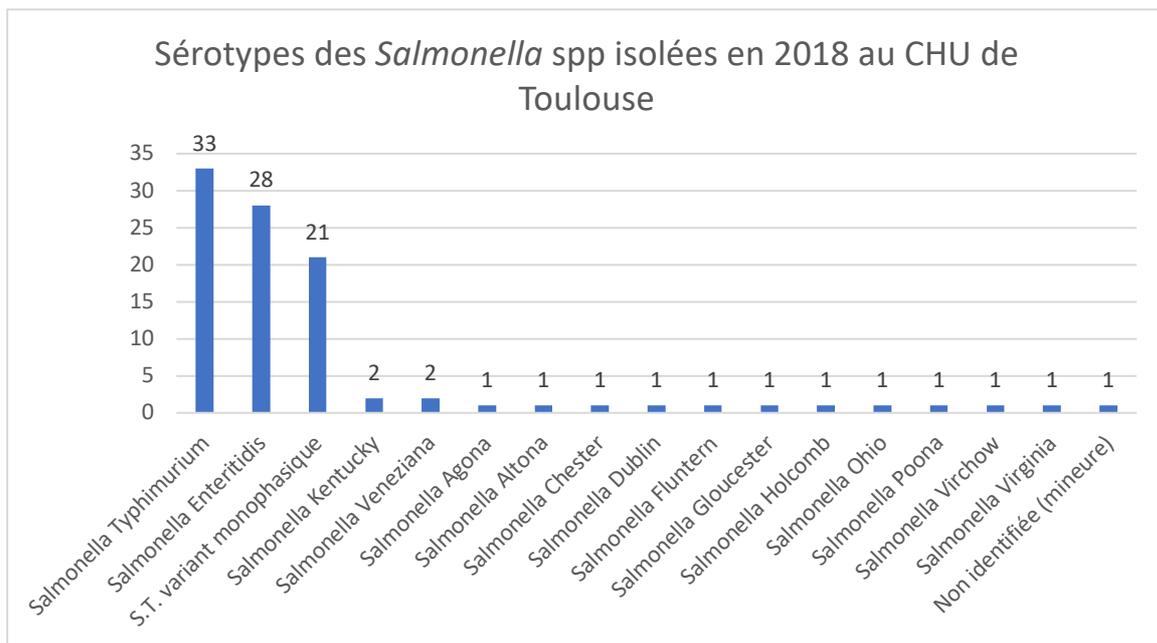


Figure 22 : Sérotypes des *Salmonella* spp isolées en 2018 au CHU de Toulouse, sur un total de 98 souches

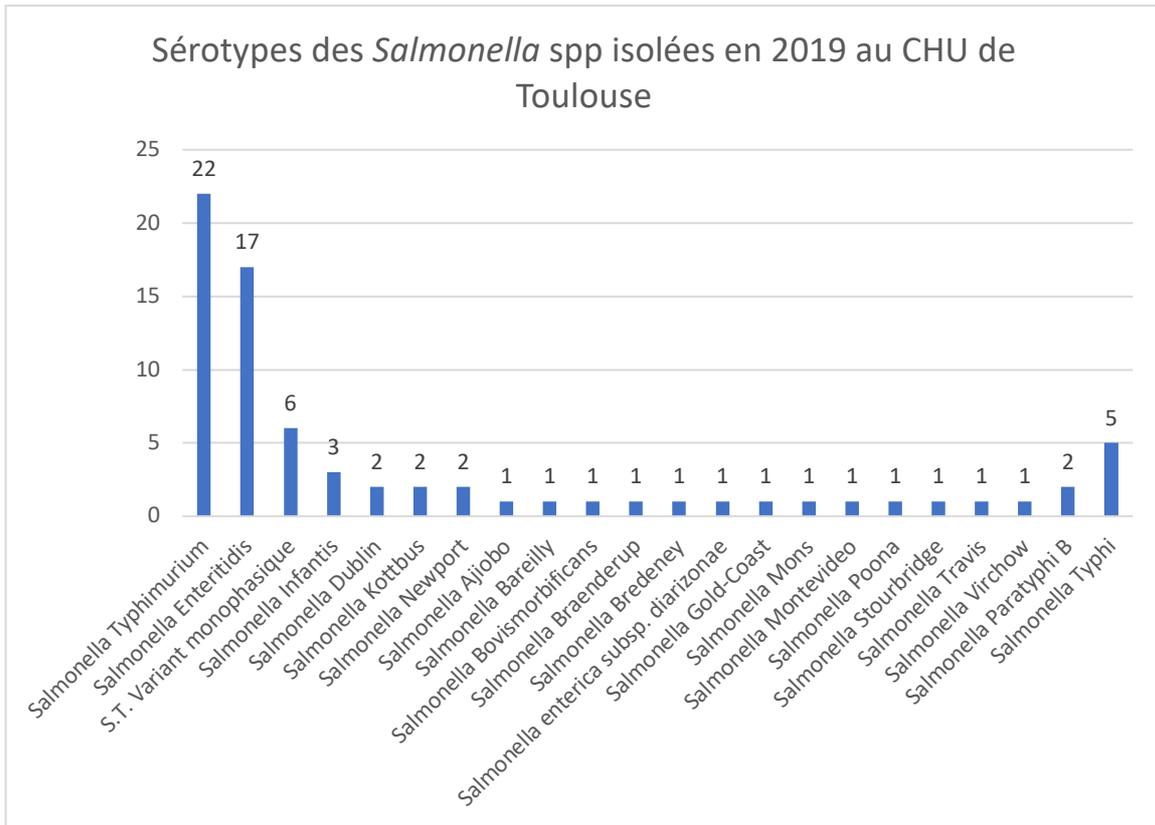


Figure 23 : Sérotypes des *Salmonella* spp isolées en 2019 au CHU de Toulouse, sur un total de 74 souches

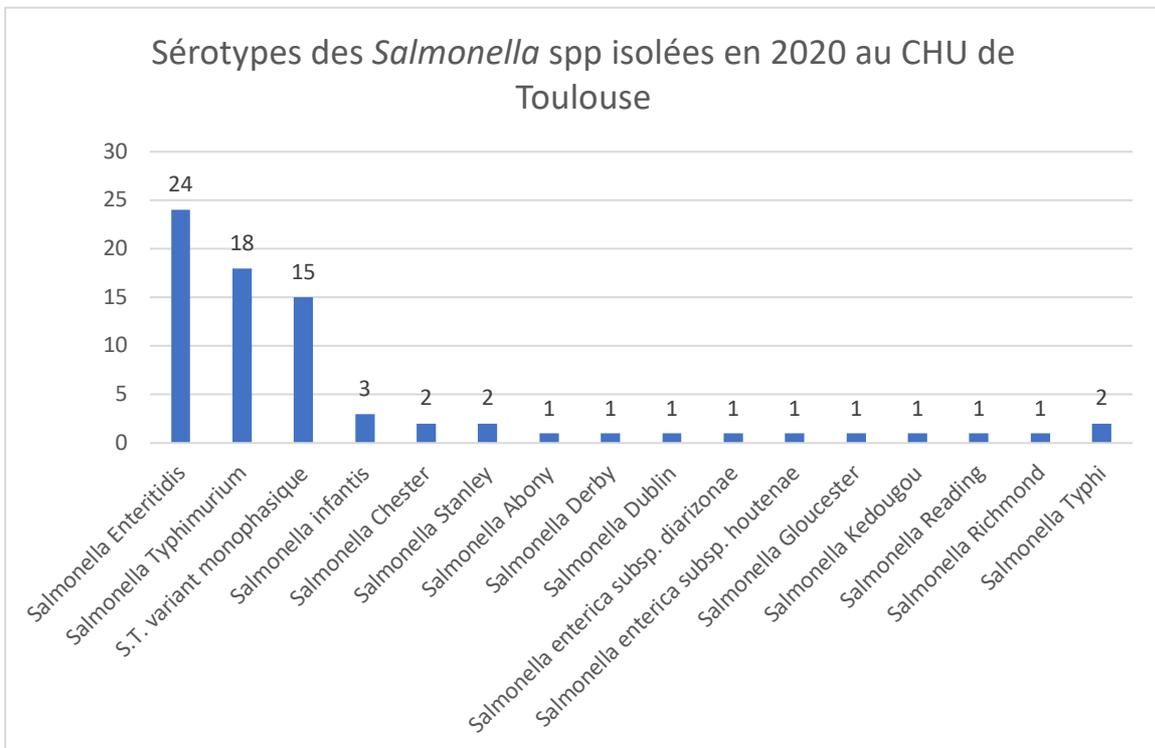


Figure 24 : Sérotypes des *Salmonella* spp isolées en 2020 au CHU de Toulouse, sur un total de 75 souches

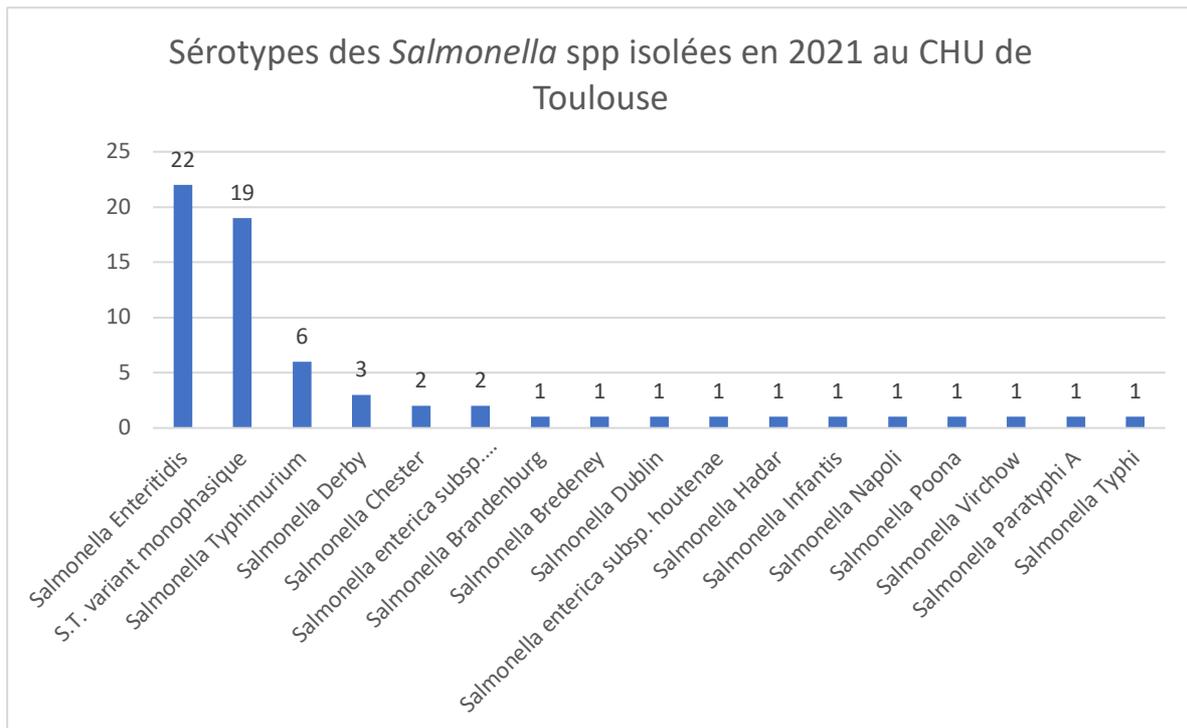


Figure 25 : Sérotypes des Salmonella spp isolées en 2021 au CHU de Toulouse, sur un total de 65 souches

Les 3 sérotypes majoritairement isolés entre 2016 et 2021 étaient *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium et le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium, avec une évolution au cours des années représentée dans la Figure 26. Les données recueillies au CHU de Toulouse en 2021 sont cohérentes avec celles du CNR-ESS, qui indique que le sérotype majoritaire depuis 2016 est *S. Enteritidis*, suivi par le variant monophasique de *S. Typhimurium*.

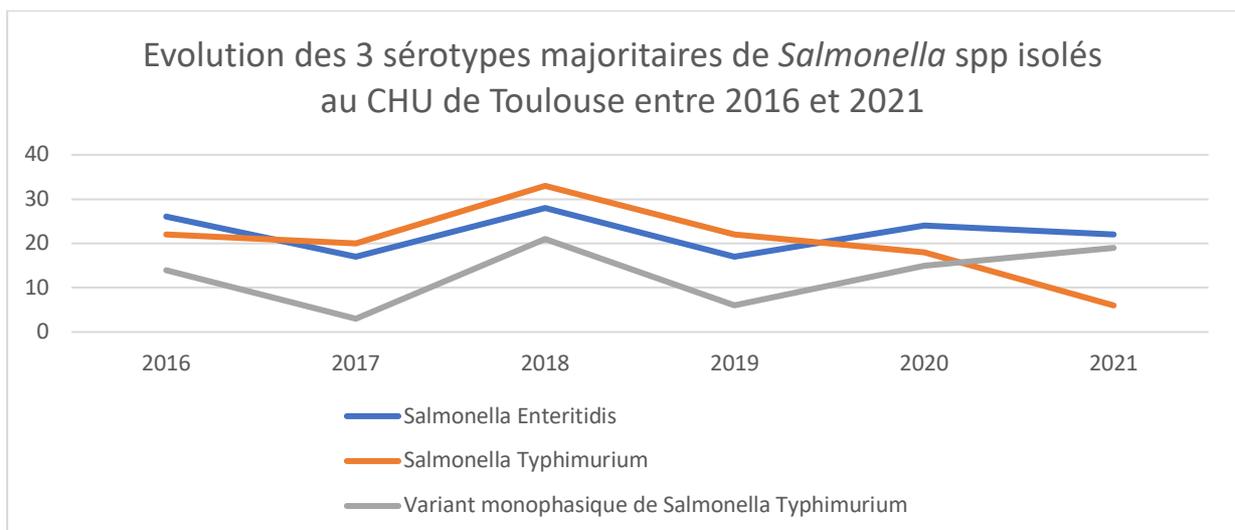


Figure 26 : Évolution des principaux sérotypes de Salmonella isolés de patients au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021

2.3. Services prescripteurs

Les principaux services prescripteurs des coprocultures ayant retrouvé une *Salmonella* sont les urgences pédiatriques, les urgences adultes et le service de pédiatrie générale. La Figure 27 représente leur proportion chaque année dans le total des services prescripteurs.

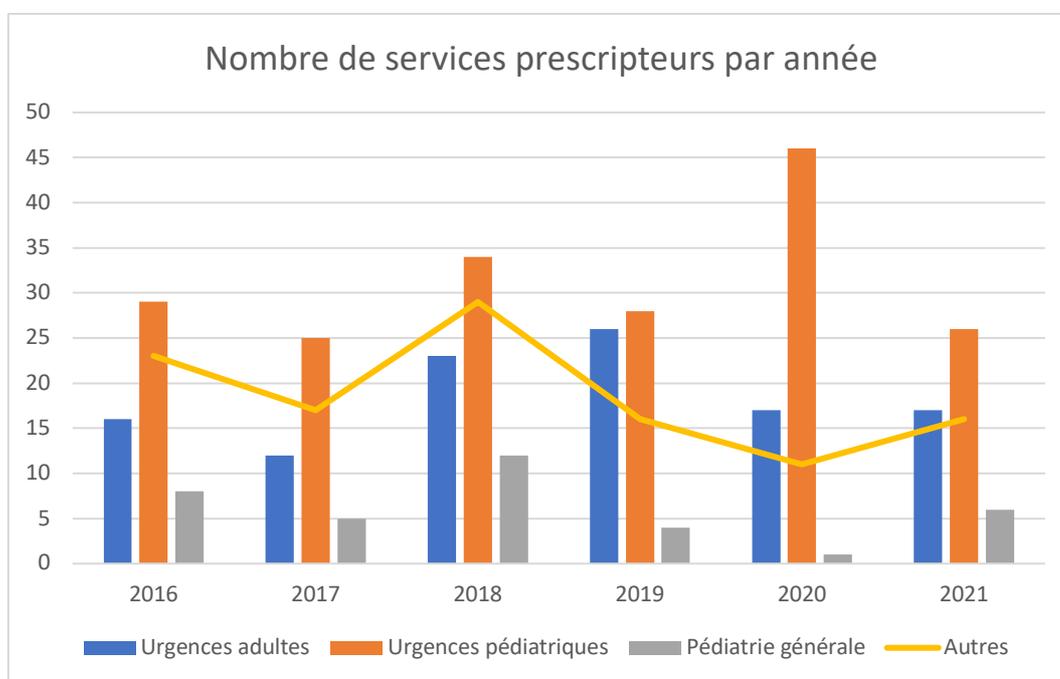


Figure 27 : Services prescripteurs majoritaires des coprocultures ayant retrouvé Salmonella spp entre 2016 et 2021

2.4. Âges des patients

La Figure 28 représente la distribution des âges des patients à partir desquels les souches de *Salmonella* de l'étude ont été isolées, entre 2016 et 2021. La majorité des patients ont un âge compris entre 0 et 10 ans, la deuxième catégorie est celle des 11-20 ans puis celle des patients âgés de 61 à 70 ans.

Parmi la tranche d'âge majoritaire des 0 à 10 ans, 41% des enfants avaient entre 0 et 3 ans (exclus), 37% entre 3 et 6 ans et 22% entre 6 et 10 ans (inclus).

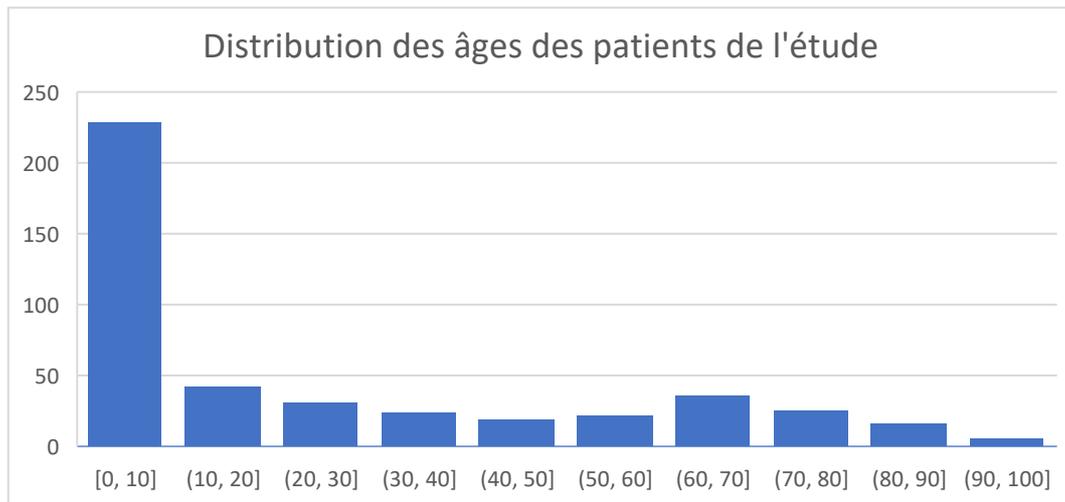


Figure 28 : Âges des patients à partir desquels les souches de Salmonella de l'étude ont été isolées entre 2016 et 2021

2.5. Symptomatologie

Sur un total de 447 patients, une diarrhée a été documentée chez 367 patients, elle était absente chez 34 patients et l'information n'a pas été retrouvée dans le dossier clinique de 46 des patients. Les vomissements étaient moins souvent présents : 164 patients y ont été sujets, 192 n'ont pas eu de vomissements et l'information était manquante dans 91 dossiers. Une hyperthermie a été objectivée chez 306 patients, 63 sont restés apyrétiques et l'information manquait pour 78 patients. Ces résultats sont représentés dans la Figure 29.

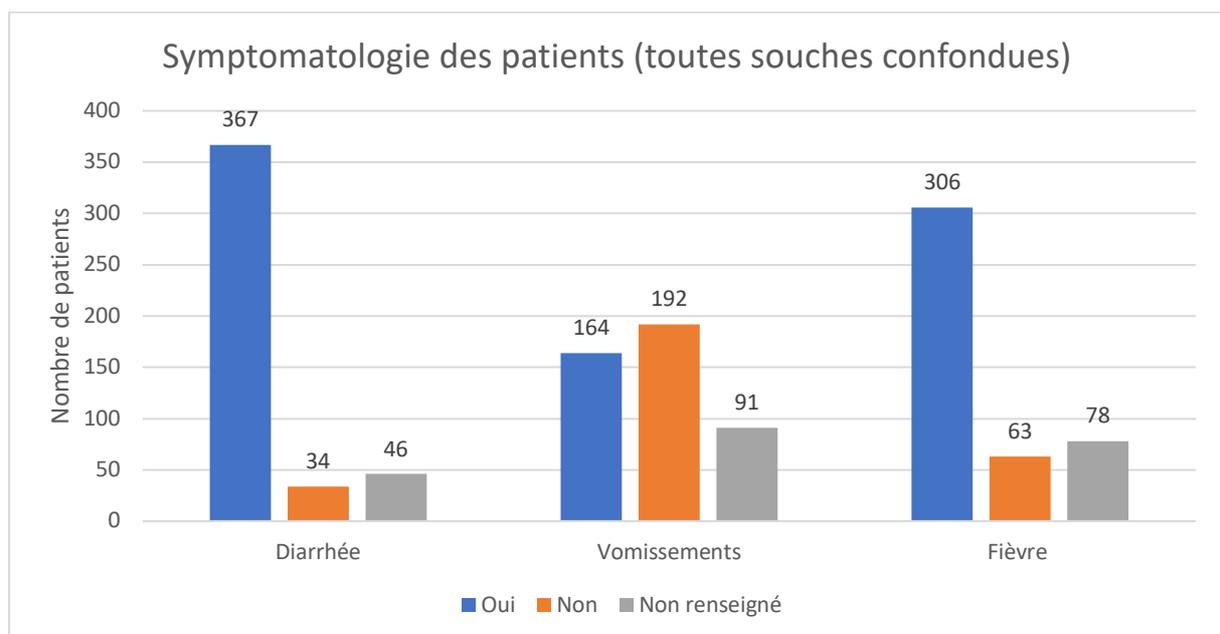


Figure 29 : Nombre de patients ayant présenté les symptômes diarrhée, vomissements et fièvre (toutes souches de Salmonella confondues)

La diarrhée documentée chez les 367 patients a été décrite comme glairo-sanglante dans 120 cas (32,7%), liquidienne chez 177 patients (48,2%) et l'information manquait pour 70 patients (19,1%).

Les symptômes ont également été analysés en comparant les souches de salmonelles majeures (sérotypes Typhi, Paratyphi A et B) et les souches de salmonelles mineures. Les patients pour lesquels les données étaient manquantes ont été exclus de cette analyse. Pour les souches de salmonelles majeures, cela concerne 11,8% des patients pour la recherche de vomissements (aucune donnée n'était manquante concernant les diarrhées et la présence de fièvre). Concernant les souches de salmonelles mineures, les informations sur la présence de diarrhée manquaient dans 10,7% des cas, dans 20,7% des cas pour les vomissements et dans 18,1% pour la fièvre.

Les diarrhées étaient présentes dans environ 82% des cas pour les infections à salmonelles majeures, et la fièvre chez 100% des patients. Des vomissements ont été rapportés dans environ 46% des cas. Les infections à salmonelles mineures étaient associées à une diarrhée dans environ 92% des cas, à des vomissements dans 46% des cas et à une hyperthermie chez 82,1% des patients de l'étude (Figure 30).

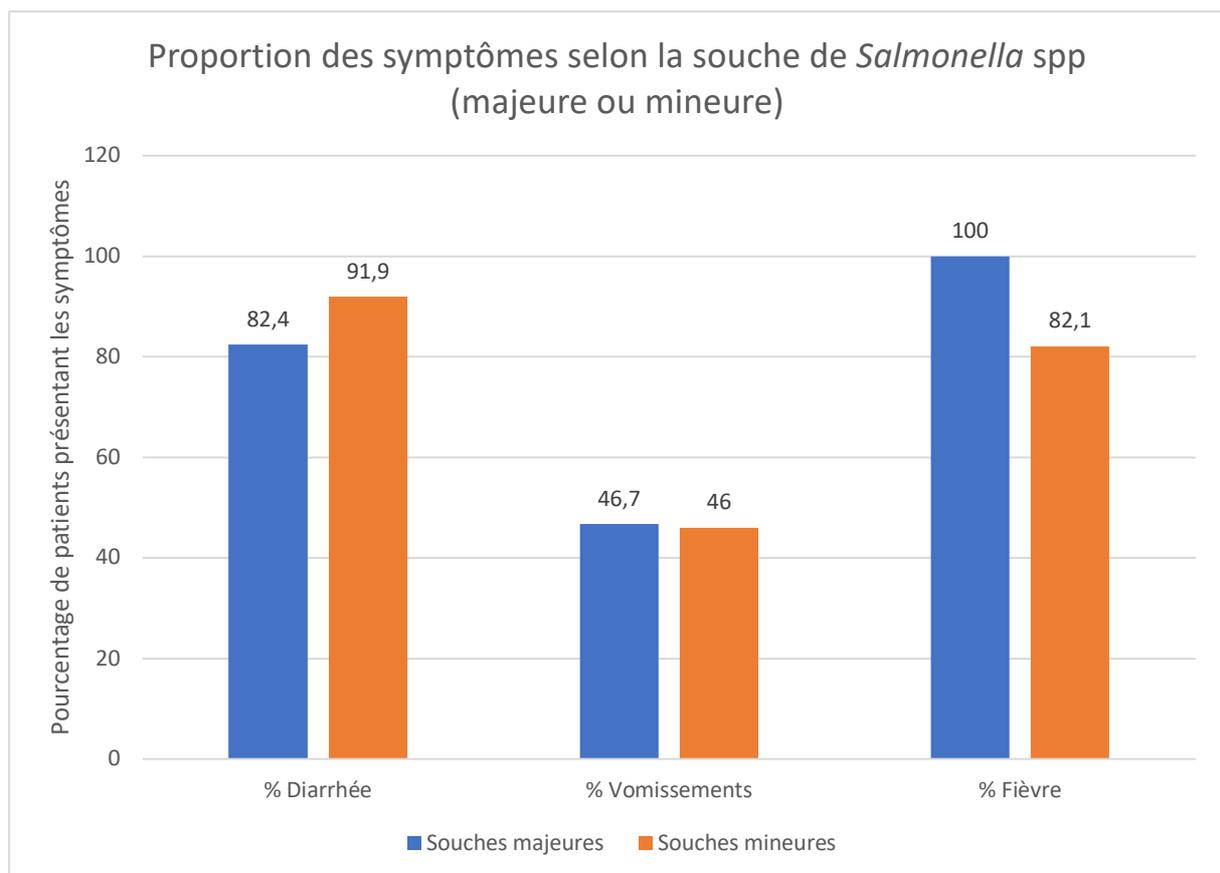


Figure 30 : Proportion des symptômes de diarrhée, de vomissements et de fièvre selon la souche de *Salmonella* considérée (majeure ou mineure)

2.6. Enquête étiologique

Les données suivantes de l'enquête étiologique ont été collectées lorsqu'elles étaient disponibles dans les dossiers informatisés des patients : notion de voyage récent, présence de sujets ayant des symptômes similaires à ceux du patient dans son entourage proche, identification d'un repas comme étant à l'origine de la contamination, et présence de NAC au domicile (ou contact récent avec un NAC). Ces données étaient manquantes dans 34% des cas pour la notion de voyage, 39% des cas pour la recherche d'autres sujets symptomatiques dans l'entourage, 44% pour la notion de repas de contaminant et 41% pour la recherche d'un contact avec un NAC. Elles ont donc été analysées de manière séparée pour chaque étiologie mentionnée.

Les résultats obtenus à partir des dossiers où une enquête étiologique a été réalisée sont les suivants (Figure 31) :

- La notion de voyage récent a été retrouvée pour 23,9% des patients chez qui cette information a été recherchée

Les destinations identifiées au cours de l'enquête étiologique pour les patients ayant voyagé sont les suivantes, par ordre décroissant : Maroc, Algérie, Côte d'Ivoire, Espagne, Thaïlande, Inde, Sénégal, Mexique, puis en proportion équivalente : Burkina Faso, Pakistan, République Dominicaine, Madagascar, Pérou, Mali, Benin, Iran, Tchad, Sardaigne, Tunisie, Djibouti, Amérique du Sud, Bangladesh, Guinée, Cambodge, Congo.

- Dans 32,7% des cas, une personne de l'entourage proche du patient présentait également des symptômes de gastro-entérite aiguë
- Un repas a été identifié comme à l'origine de la contamination dans 30,6% des cas
- 5,3% des patients de l'étude avaient un NAC au domicile ou ont contracté une salmonellose suite à un contact avec un NAC

Lorsque l'enquête étiologique retrouvait la présence d'un NAC au domicile, il s'agissait d'une tortue pour tous les patients à l'exception d'un qui possédait un lézard.

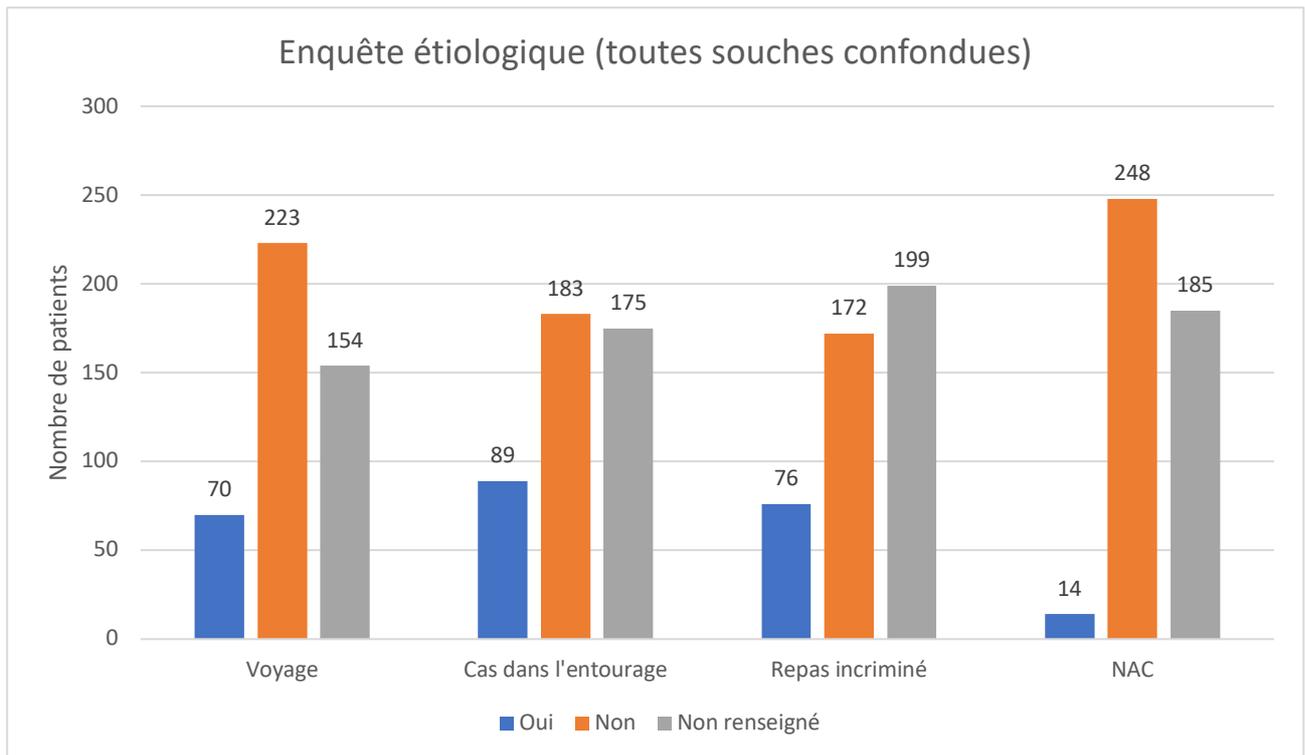


Figure 31 : Nombre de patients pour lesquels une notion de voyage (24% des patients chez qui l'information a été recherchée), un cas similaire dans l'entourage (33%), un repas considéré comme à l'origine des symptômes (31%) ou un NAC au domicile (5%) ont été identifiés (toutes souches confondues)

Les données de l'enquête étiologique ont également été analysées séparément pour les souches de salmonelles majeures et mineures. Concernant les souches de salmonelles mineures, les données manquantes étaient dans les proportions suivantes pour chaque item : 35% pour la notion de voyage, 40% pour la recherche de cas dans l'entourage, 45% pour l'identification d'un repas contaminant et 42% pour la recherche de NAC. L'enquête étiologique n'a pas été réalisée chez 2 des patients pour lesquels une salmonelle majeure a été identifiée, ce qui correspond à 11,8% des données. Les patients pour lesquels l'enquête étiologique n'était pas renseignée ont été exclus de l'analyse suivante.

Un voyage a été renseigné dans 80% des cas d'infection à salmonelle majeure où cette information a été recherchée. Aucun des cas de salmonellose majeure n'a été documenté suite à un contact avec un NAC, contrairement à environ 6% des cas de salmonellose causée par une souche mineure. Des personnes atteintes de symptômes similaires à ceux du patient ont été identifiées dans 20% des cas pour les salmonelles majeures et 33% des cas pour les salmonelles mineures. Un repas a été considéré comme contaminant pour 32% des souches de salmonelles mineures et environ 7% des souches de salmonelles majeures.

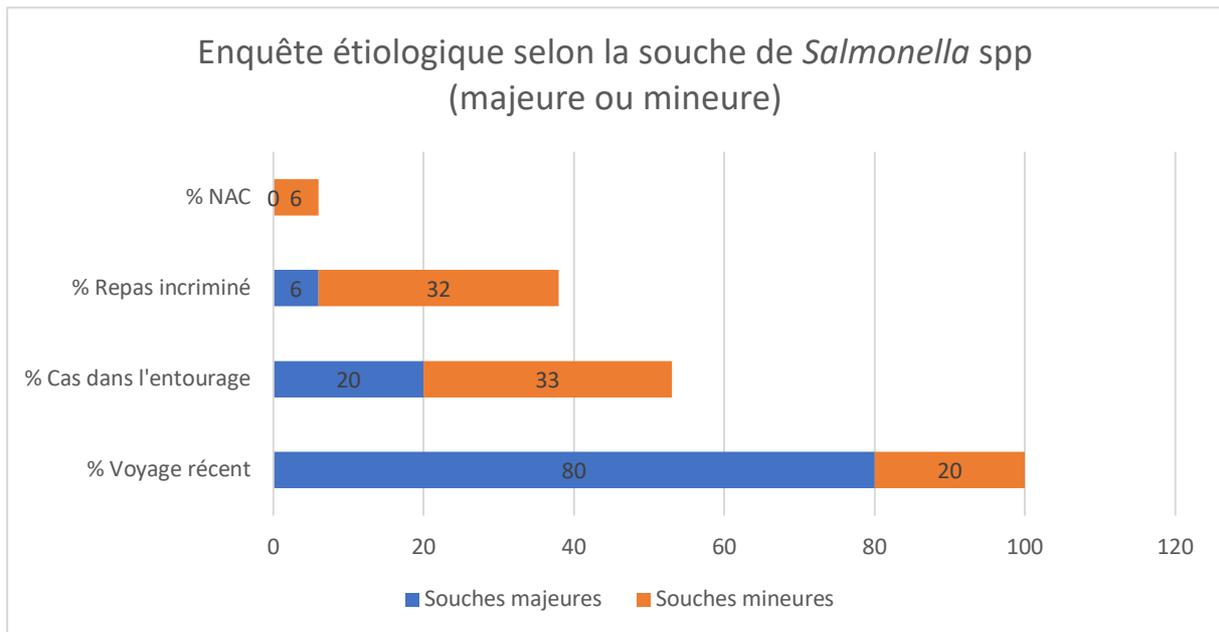


Figure 32 : Étiologies retrouvées selon la souche de Salmonella considérée (majeure ou mineure)

2.7. Données d'antibiothérapie

Les données concernant l'instauration d'une antibiothérapie et le type d'antibiotique utilisé étaient disponibles pour 87,5% des souches. Les patients dont les données étaient manquantes ont été exclus de cette analyse.

Concernant les souches majeures de *Salmonella*, 100% des infections ont conduit à une prescription d'antibiotiques. Les antibiotiques instaurés en probabiliste étaient des céphalosporines de 3^{ème} génération dans 86% des cas et de l'azithromycine dans 14% des cas. La C3G prescrite était la ceftriaxone, en association avec du métronidazole chez un patient présentant une bactériémie à *Salmonella* Typhi au retour d'un voyage au Maroc. L'antibiothérapie a été adaptée après identification de la souche chez 11 (69%) des patients infectés par une salmonelle majeure. L'antibiotique utilisé était alors l'azithromycine dans 45% des cas et des fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine) chez 55% des patients.

Concernant les souches mineures de *Salmonella*, les données d'antibiothérapie étaient disponibles pour 85% des patients. Le taux de prescription d'antibiotiques était de 87%. En probabiliste, les patients ont reçu à 37% des C3G (majoritairement de la ceftriaxone seule ou en association (métronidazole, azithromycine), mais également du céfotaxime seul ou en association à des quinolones ou à des aminosides), à 41% de l'azithromycine et à 10% des fluoroquinolones. Les 12% restants sont représentés par les antibiotiques suivants : amoxicilline, amoxicilline-acide clavulanique, triméthoprime-sulfaméthoxazole, céfixime,

fosfomycine et nitrofurantoïne (tous trois prescrits en probabiliste dans des situations d'infections urinaires), clarithromycine, roxithromycine et pipéracilline-tazobactam.

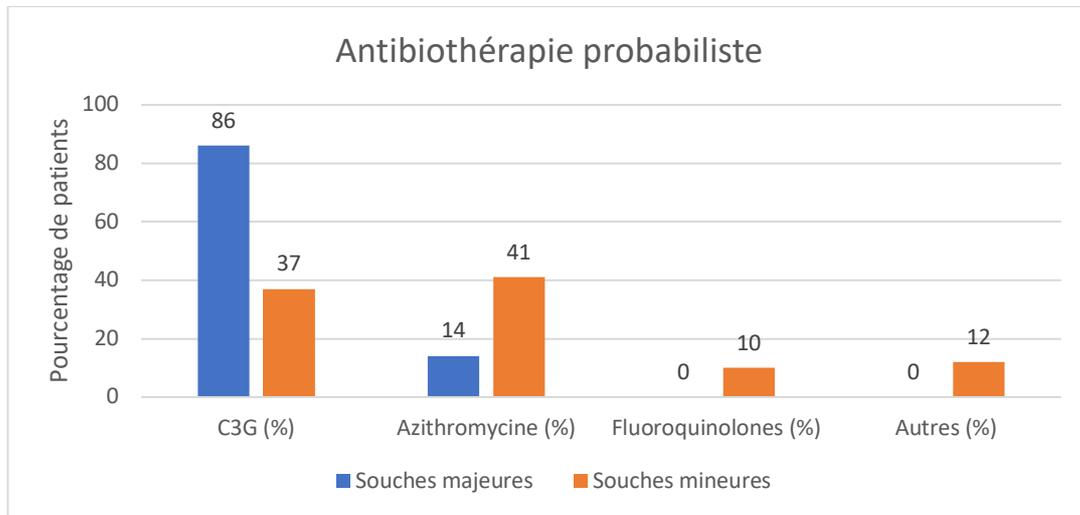


Figure 33 : Antibiotiques utilisés pour l'antibiothérapie probabiliste des salmonelloses majeures et mineures

L'antibiothérapie a été adaptée après identification de la souche chez 22% des patients ayant été traités. Les antibiotiques utilisés après adaptation étaient l'azithromycine dans 44% des cas, des C3G chez 16% des patients (céfotaxime, ceftriaxone), des fluoroquinolones pour 29% (ofloxacine majoritairement, ciprofloxacine, lévofloxacine) et 11% d'antibiotiques autres (amoxicilline, triméthoprime-sulfaméthoxazole, pipéracilline-tazobactam en association à l'amikacine).

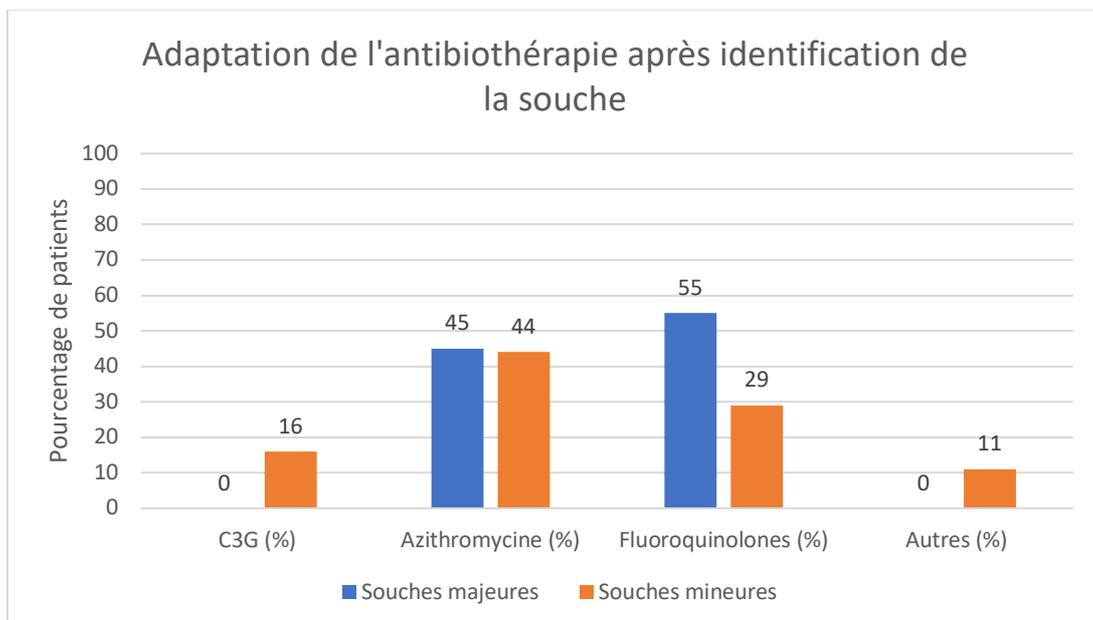


Figure 34 : Antibiotiques utilisés après identification des souches de Salmonella pour les salmonelloses majeures et mineures

2.8. Résistance aux C3G et fluoroquinolones

Le Tableau 20 résume le nombre de souches testées chaque année pour les C3G (céfotaxime, ceftriaxone et ceftazidime) et les fluoroquinolones (ofloxacine, ciprofloxacine). La lévofloxacine a été exclue de notre analyse en raison du faible nombre de souches testées chaque année.

Nombre de souches testées	Céfotaxime	Ceftriaxone	Ceftazidime	Lévofloxacine	Ofloxacine	Ciprofloxacine
2016	66	9	74	5	73	71
2017	46	15	49	8	59	52
2018	85	9	94	3	94	87
2019	61	14	74	11	63	64
2020	65	10	75	9	66	64
2021	55	11	64	8	57	56

Tableau 20 : Nombre de souches de Salmonella spp testées chaque année pour les C3G et les FQ

La proportion des souches résistantes aux C3G (céfotaxime, ceftriaxone et ceftazidime) et aux FQ (ofloxacine, ciprofloxacine) est représentée dans le Tableau 21 et la Figure 35.

Année	Pourcentage de souches résistantes aux C3G	Pourcentage de souches résistantes aux FQ
2016	5,7	18,1
2017	2,1	16,2
2018	0	16
2019	0	22
2020	0,5	7,7
2021	3,6	18,6

Tableau 21 : Proportion de souches de Salmonella spp résistantes aux C3G et aux FQ entre 2016 et 2021

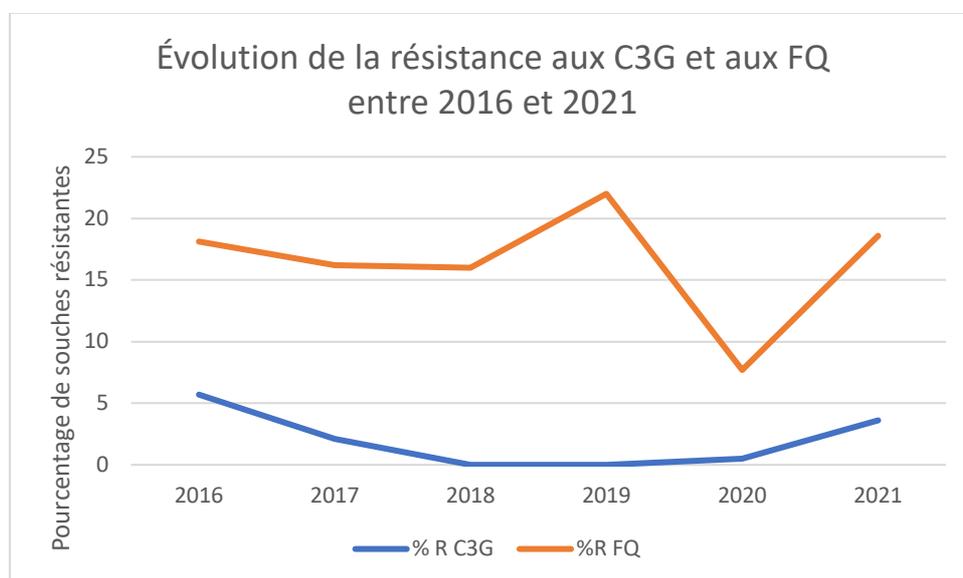


Figure 35 : Évolution des résistances aux C3G (céfotaxime et/ou ceftriaxone et /ou ceftazidime) et aux FQ (ofloxacine et/ou ciprofloxacine) au CHU de Toulouse entre les années 2016 et 2021

2.9. Résistance à l'azithromycine

Le Tableau 28 représente les CMI moyennes, minimales et maximales de l'azithromycine obtenues pour les souches de *Salmonella* spp au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021.

Année	2016	2017	2018	2019	2020	2021
CMI Moyenne de l'azithromycine	5	4	5	5	5	4
CMI minimale	2	2	2	2	2	3
CMI maximale	12	8	48	16	12	8
Total des souches	76	59	98	74	75	65

Tableau 22 : CMI moyennes, minimales et maximales de l'azithromycine pour les souches de Salmonella spp isolées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021

La Figure 36 représente la distribution des CMI de l'azithromycine pour les 3 souches les plus fréquentes de *Salmonella* spp (sérotypes Enteritidis, Typhimurium et variant monophasique de *S. Typhimurium*), les salmonelles majeures et pour toutes les autres souches confondues. La ligne en pointillés représente le cut-off de 16 mg/L à partir duquel les souches de *Salmonella* sont considérées comme résistantes à l'azithromycine.

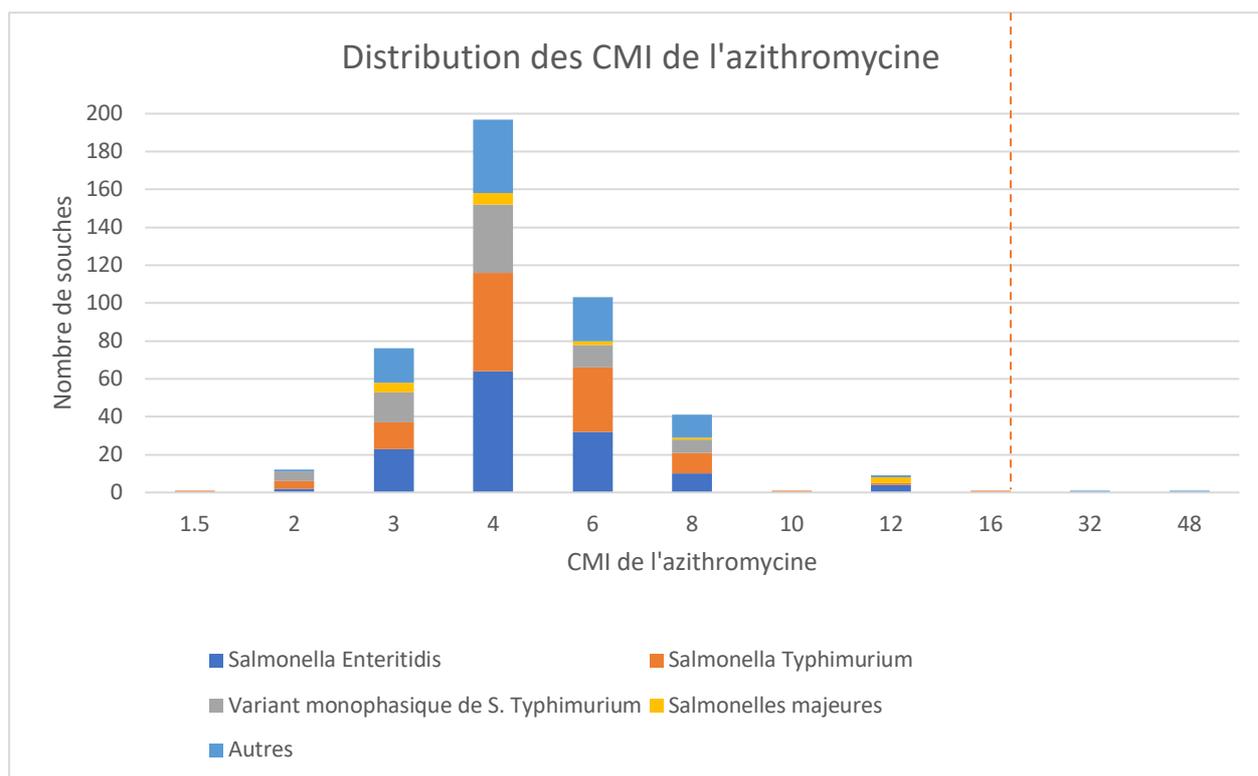


Figure 36 : Distribution des CMI de l'azithromycine au CHU de Toulouse entre 2016 et 202

Seules deux souches de *Salmonella* présentaient des CMI pour l'azithromycine supérieures à 16 mg/L et étaient considérées comme résistantes à l'azithromycine. L'une d'entre elles, une *Salmonella* Holcomb isolée des selles d'un patient de 4 ans, avait une CMI à 32 mg/L qui n'a pas pu être vérifiée dans notre étude. Aucune enquête étiologique n'a été retrouvée pour ce patient. Cette souche était sensible à l'ampicilline, à l'association amoxicilline-acide clavulanique, à la ticarcilline, à l'association pipéracilline-tazobactam, à la céfoxitine, aux C3G, aux carbapénèmes, aux aminosides et aux fluoroquinolones. Le patient avait été traité avec succès par azithromycine.

La deuxième souche est une *Salmonella* Kentucky isolée des selles d'une patiente de 49 ans suite à un voyage en Algérie. La CMI de cette souche a été contrôlée à 2 reprises avec une valeur de 48 mg/L. Elle présentait une résistance aux pénicillines (ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, ticarcilline, pipéracilline-tazobactam) mais conservait une sensibilité aux C3G et aux carbapénèmes. Cette souche était résistante à la gentamicine et à la tobramycine mais sensible à l'amikacine, et sensible aux fluoroquinolones et à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole. La patiente n'avait pas reçu de traitement antibiotique.

Discussion

Les *Salmonella* sont des entérobactéries à l'origine d'un spectre varié de pathologies, les souches mineures comme majeures étant problématiques en termes de santé publique. Les souches mineures de *Salmonella* spp sont à l'origine d'un syndrome gastro-entérique et entraînent environ 100 millions de cas par an au niveau mondial, causant 180 000 décès annuels, notamment dans les pays en voie de développement (11). Les salmonelles majeures (*S. Typhi*, *Paratyphi A*, *B* et *C*) sont quant à elles à l'origine des fièvres typhoïde et paratyphoïde. L'étude GBD en 2017 estimait une incidence mondiale entre 12 et 27 millions de cas pour les fièvres typhoïde et paratyphoïde, et une mortalité entre 129 000 et 223 000 décès annuels (12).

L'objectif de notre travail était de réaliser un état des lieux de la résistance des salmonelles à l'azithromycine au CHU de Toulouse, entre 2016 et 2021. Cet antibiotique est utilisé en première ligne dans les salmonelloses digestives et les fièvres typhoïdes non compliquées. Nous avons également réalisé un recueil de données afin d'évaluer les sérotypes majoritairement isolés, leurs sites de prélèvements, les contextes cliniques et étiologiques, ainsi que la prise en charge thérapeutique des patients.

En France, la majorité des cas de salmonellose sont causés par des souches mineures. Les données de nos études le confirment, 96% des souches isolées étaient des salmonelles mineures. Les 3 sérotypes majoritairement isolés entre 2016 et 2021 étaient *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium et le variant monophasique de *Salmonella* Typhimurium. Les données recueillies au CHU de Toulouse en 2021 sont cohérentes avec celles du CNR-ESS, qui indique que le sérotype majoritaire depuis 2016 est *S. Enteritidis*, suivi par le variant monophasique de *S. Typhimurium*.

Les sites de prélèvement identifiés dans notre étude sont également concordants avec les données de la littérature : 82% des souches mineures ont été isolées de selles, et 76% des souches majeures provenaient d'hémocultures. Pour les sites d'isolement toutes souches confondues, nos données sont également comparables à celles du CNR : 75% des souches du CHU de Toulouse provenaient de selles contre 87% des souches recueillies au CNR, et 14% provenaient d'hémocultures contre 7% au CNR. Les données du CNR concernant l'invasivité des souches de *Salmonella* Dublin ont été confirmées dans notre analyse : sur les 5 souches de *S. Dublin* isolées entre 2016 et 2021, 4 provenaient d'hémocultures et 1 d'urines. Cependant, le CNR indiquait que les souches de *Salmonella* Enteritidis présentaient en général peu de résistances aux antibiotiques, or une part importante des souches résistantes aux fluoroquinolones de notre étude étaient des *S. Enteritidis*.

La population majoritaire de notre étude était la population pédiatrique, la tranche d'âge majoritaire était celle des 0 à 10 ans, parmi lesquels 78% des patients avaient moins de 6 ans. Une discordance entre les données de notre analyse et celles du CNR concerne la part de la population pédiatrique dans le total des patients. En effet, la part des 0 à 6 ans était de 26% au CNR, où la majorité des patients était représentée par la tranche d'âge des 15 – 64 ans.

Les symptômes de diarrhée, d'hyperthermie et de vomissements étaient fréquemment retrouvés chez les patients inclus dans notre étude, en accord avec les données de la littérature sur la présentation clinique des salmonelloses.

Dans la plupart des cas, les infections digestives à *Salmonella* sont bénignes et guérissent spontanément. Le traitement consiste alors à éviter la déshydratation du patient. Une antibiothérapie peut cependant être nécessaire pour des infections digestives à *Salmonella*, chez les personnes âgées, les nourrissons et les personnes immunodéprimées, et dans les cas d'infections sévères à salmonelles mineures (bactériémies et localisations secondaires). Elle reste indispensable dans les infections à salmonelles typhiques. Malgré l'absence d'indication systématique d'antibiothérapie dans les formes modérées de salmonellose, notre analyse met en évidence des taux importants de prescription d'antibiotiques : 87% des patients chez qui une salmonelle mineure a été identifiée ont reçu des antibiotiques. Cependant, il s'agit de patients ayant consulté aux urgences ou étant hospitalisés, ce qui peut constituer un biais dans notre analyse. Les principaux antibiotiques utilisés en probabiliste face au syndrome diarrhéique étaient les C3G dans 37% des cas, l'azithromycine dans 40% des cas et les fluoroquinolones dans 10% des cas. Les souches majeures de *Salmonella* ont, conformément aux recommandations, conduit à la prescription d'antibiotiques dans 100% des cas, avec des C3G prescrites chez 86% des patients et de l'azithromycine pour 14%. Après obtention de l'identification des souches, l'antibiothérapie a été adaptée chez environ 70% des patients infectés par une salmonelle majeure, et environ 20% des patients chez qui une souche mineure a été isolée. Les deux classes d'antibiotiques utilisées en majorité étaient alors les fluoroquinolones et l'azithromycine (dans 45% des cas), en accord avec les recommandations formulées pour le traitement des salmonelloses lorsqu'un antibiotique doit être prescrit (9).

Les données de notre analyse montrent donc la part importante de l'azithromycine dans les stratégies thérapeutiques recommandées et utilisées en pratique. Des souches de salmonelles MDR ont émergé, puis des souches XDR qui ont développé des résistances à des antibiotiques de première ligne tels que les C3G et les FQ. Les données de la littérature indiquent que l'azithromycine présente des taux de résistance inférieurs à ceux des C3G et des FQ, et qu'il s'agit d'un antibiotique de choix dans le traitement des infections digestives à *Salmonella* et des fièvres typhoïdes non compliquées (122) (125). Les résultats de notre étude sont en accord avec les données de la littérature, seules 2 souches sur 447 ($\approx 0,2\%$ du total) ont présenté une CMI supérieure ou égale à 32 mg/L.

Une limite de ce travail est l'absence de seuil de CMI clairement défini par l'EUCAST pour catégoriser une souche de salmonelle mineure comme résistante à l'azithromycine. Nous avons fait le choix d'utiliser le seuil fixé à 16 mg/L dans le CASFM 2022 pour distinguer une souche de *Salmonella* Typhi sauvage d'une souche ayant acquis des mécanismes de résistance. Ainsi, les souches de l'étude ayant une CMI ≥ 32 mg/L étaient considérées comme résistantes à l'azithromycine. Ce seuil est également celui utilisé dans toutes les études citées dans la revue bibliographique de cette thèse qui visaient à évaluer la sensibilité des salmonelles à l'azithromycine.

Une autre limite est la technique de réalisation des CMI qui a été utilisée. La technique de référence est la méthode par microdilution, mais celle utilisée au CHU de Toulouse pour les salmonelles et l'azithromycine est la méthode E-test. Ces méthodes présentent cependant une bonne corrélation dans leurs résultats. De plus, une souche de contrôle (ATCC staphylocoque doré) est testée en routine au laboratoire afin de s'assurer de la fiabilité des résultats rendus.

Parmi les 2 souches de l'étude ayant une CMI ≥ 32 mg/L, l'une était une *S. Holcomb* dont la CMI n'a pas pu être contrôlée et dont la résistance peut être discutée. En effet, sa CMI était de 32 mg/L, la variabilité analytique d'une unité admise pour l'interprétation des CMI pourrait donc faire considérer cette souche comme sensible si elle était lue à 16 mg/L. De plus, cette souche ne présentait aucune résistance aux autres antibiotiques testés sur l'antibiogramme complet. Le patient chez qui cette souche a été isolée a été traité efficacement par azithromycine.

L'autre souche montrait une CMI à 48 mg/L vérifiée à deux reprises, il s'agissait d'une souche de *S. Kentucky*. Le CNR-ESS alerte sur la présence d'un clone de *S. Kentucky* multirésistant présent depuis le début des années 2000. Seules 7,5% des souches de *S. Kentucky* analysées au CNR en 2020 présentaient un profil de pan-sensibilité aux antibiotiques (14). Ces souches, associées à une notion de voyage dans des pays du Maghreb, étaient productrices de β -lactamases (BLSE, céphalosporinase de type AmpC) et étaient porteuses du gène *mph(A)* associé à la résistance à l'azithromycine. Ce contexte épidémiologique est retrouvé pour la souche de notre étude, qui a été isolée suite à un voyage en Algérie. Sur le plan des résistances associées, elle présentait une résistance aux pénicillines (ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, ticarcilline, pipéracilline-tazobactam) mais n'était pas productrice de BLSE ni de céphalosporinase comme les souches étudiées au CNR. Aucune antibiothérapie n'avait été instaurée pour ce cas de salmonellose digestive, dont la résolution a été spontanée.

Fricke et al. ont identifié en 2009 à partir d'un échantillon de viande de volaille un isolat multirésistant (CVM29188) de *S. Kentucky*, contenant deux plasmides de résistance qui étaient transférables par conjugaison, seuls ou en combinaison (144). Weill et al. ont quant à eux décrit en 2006 l'émergence de souches de *S. Kentucky* multirésistantes (à la ciprofloxacine, l'amoxicilline, la gentamicine et la tétracycline) chez des voyageurs français de retour d'Afrique du Nord-Est. Ils soulèvent l'hypothèse d'une émergence des résistances à partir de produits alimentaires à base de volaille, qui est le principal réservoir animal de ce sérotype (145). Cela rejoint la problématique de l'émergence mondiale de la multirésistance aux antibiotiques chez les salmonelles, provenant de milieux agricoles mais aussi cliniques. Ces études montrent la nécessité d'étudier la distribution et la transmission des phénotypes de résistance et de virulence des *Salmonella* spp. Un séquençage de la souche de *S. Kentucky* résistante à l'azithromycine de notre étude est actuellement en cours, afin d'identifier le mécanisme de résistance impliqué, qui est possiblement le gène *mph(A)*, principal mécanisme de résistance à l'azithromycine identifié dans la littérature et dans les souches analysées au CNR-ESS.

Le sérotype *S. Kentucky* est cependant peu fréquemment isolé, et le reste de notre analyse montre une sensibilité quasiment constante des souches de *Salmonella* à l'azithromycine et confirme son statut d'antibiotique de choix dans le traitement des salmonelloses digestives et des fièvres typhoïdes non compliquées. Les résultats soulèvent également la question du rajout d'une CMI azithromycine systématique au Laboratoire de Bactériologie-Hygiène du CHU de Toulouse. Cette pratique, actuellement réalisée, semble pouvoir être supprimée au vu des données actuelles concernant la résistance des salmonelles à l'azithromycine. Un des rôles des biologistes étant de surveiller l'apparition d'éventuelles résistances, l'arrêt de la réalisation des CMI azithromycine sur les salmonelles est discutable, d'autant plus qu'il a été observé pour les shigelles, bactérie proche des salmonelles, une émergence de la résistance aux macrolides suite à leur utilisation pour d'autres indications de traitement.

Conclusion

Les infections digestives et invasives entraînées par des souches de *Salmonella* majeures et mineures représentent un problème de santé publique, notamment dans les pays en voie de développement où les taux de mortalité de ces infections sont élevés.

Des souches de salmonelles multirésistantes ont émergé depuis plusieurs années, avec des taux de résistance en augmentation et non négligeables, notamment pour les C3G et les fluoroquinolones qui sont des antibiotiques de première ligne dans le traitement des salmonelloses. Selon les données de la littérature, l'azithromycine serait une alternative de choix aux C3G et aux FQ pour le traitement des salmonelloses digestives et des fièvres typhoïdes non compliquées. D'administration orale, plus aisée que celle par voie intraveineuse des C3G, et exerçant une pression de sélection sur les bactéries inférieure à celle entraînée par les FQ, elle présente également des taux de résistance inférieurs.

L'objectif de cette thèse était d'évaluer la part de la résistance à l'azithromycine chez les salmonelles au CHU de Toulouse. Toutes les souches de *Salmonella* spp isolées au laboratoire de Bactériologie-Hygiène entre 2016 et 2021 ont été incluses dans l'étude. Les résultats de notre analyse étaient concordants avec les données de la littérature, montrant des taux de résistance à l'azithromycine négligeables (environ 0,2%) et permettant de discuter la suppression de la réalisation systématique d'une CMI pour l'azithromycine lorsqu'une souche de *Salmonella* spp est identifiée au laboratoire. Une surveillance des résistances reste nécessaire, en particulier chez les souches de *Salmonella* Kentucky où des clones multirésistants sont en voie d'expansion. Ce sérotype restant cependant peu fréquemment isolé, le reste de notre analyse montrant une sensibilité quasiment constante des souches de *Salmonella* à l'azithromycine confirme son statut d'antibiotique de choix dans le traitement des salmonelloses digestives et des fièvres typhoïdes non compliquées.

Annexes

Annexe 1 : Contexte clinique et épidémiologique retrouvé lors de l'isolement de souches de *Salmonella* spp mineures à partir d'hémocultures

Année	Souches de salmonelles mineures ayant entraîné une bactériémie	Age du patient (ans)	Contexte
2016	<i>Salmonella</i> Enteritidis	45	Contexte de TIAC, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Lexington	80	Séjour en Thaïlande, patient atteint de lymphome
	<i>Salmonella</i> Welikade	1	Tortue au domicile, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	60	Non communiqué
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	0	Retour du Maroc, arthrite septique à <i>Salmonella</i> , pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	0	Contexte d'accès palustre grave, originaire du Congo, état de malnutrition
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	1	Retour de Côte d'Ivoire, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	74	<i>Salmonella</i> retrouvée sur prélèvement de prothèse,
2017	<i>Salmonella</i> Enteritidis	68	Contexte d'aortite
	<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	13	Retour du Sénégal, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Chester	13	Retour du Sénégal, contact avec varans, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	14	Non communiqué
	<i>Salmonella</i> spp (mineure)	62	Retour du Maroc, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	29	Cas prouvé dans l'entourage proche, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	18	Pas de notion de voyage, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Poona	1	Retour de Côte d'Ivoire, pas de comorbidités renseignées
<i>Salmonella</i> Enteritidis	82	Non communiqué	

	<i>Salmonella</i> Typhimurium	63	Contexte de pneumopathie d'inhalation, patient éthylique chronique, sous IPP au long cours
2018	<i>Salmonella</i> Virchow	12	Retour d'Afrique, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	31	Non communiqué
	<i>Salmonella</i> spp (mineure)	36	Retour du Mali, consommation de crudités. Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	77	Non communiqué
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	80	Contexte de septicémie à <i>Salmonella</i> et à staphylocoque doré, patient atteint de lymphome
2019	<i>Salmonella</i> Newport	58	Contexte de TIAC, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Dublin	61	Patient immunodéprimé
	<i>Salmonella</i> Dublin		Patient dialysé, abcès rétro-hépatique retrouvant <i>Salmonella</i>
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	68	Infection d'endoprothèse aortique
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	65	Cas groupé dans un EHPAD
	<i>Salmonella</i> Travis	6	Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	72	Contexte d'adénocarcinome du pancréas
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	63	Patient immunodéprimé, tableau de pneumopathie
	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	67	Non communiqué
<i>Salmonella</i> Montevideo	35	Retour de Madagascar, pas de comorbidités renseignées	
2020	<i>Salmonella</i> Stanley	18	Cas dans l'entourage, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Infantis	20	Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	78	Contexte de leucémie lymphoïde chronique et myélome
	<i>Salmonella</i> Chester	3	Contexte de craniopharyngiome et diabétique, retour de Côte d'Ivoire
	<i>Salmonella</i> Kedougou	78	Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Infantis	85	Contexte de diabète

	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	48	Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	35	Contexte de VIH et diarrhée à <i>Campylobacter</i> associée
	<i>Salmonella</i> Dublin	73	Contexte d'anévrisme aortique probablement infectieux
2021	<i>Salmonella</i> Infantis	59	Contexte de TIAC, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Dublin	76	Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	23	Retour de Côte d'Ivoire, pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Derby	70	Contexte de chimiothérapie
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	66	Pas de comorbidités renseignées
	<i>Salmonella</i> Chester	56	Non communiqué

Annexe 2 : Sérotypes de *Salmonella* isolés entre 2016 et 2021 au CHU de Toulouse, prélèvements associés

Année	Sérotypes identifiés	Nombre de souches	Sites de prélèvement
2016	<i>Salmonella</i> Enteritidis	26	Selles (20) Hémocultures (5) Réception d'une souche par un laboratoire extérieur pour typage (1)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	22	Selles (20) Hémoculture (1)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	14	Selles
	<i>Salmonella</i> Cremieu	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Eboko	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Gold-Coast	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Infantis	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Hadar	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Kentucky	1	Urines
	<i>Salmonella</i> Lexington	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Saint-Paul	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Utah	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Welikade	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Paratyphi B	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Typhi	3	Hémocultures
2017	<i>Salmonella</i> Typhimurium	20	Selles (18) Hémocultures (2)
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	17	Selles (13) Hémocultures (4)
	<i>Salmonella</i> Gloucester	4	Selles

	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	3	Selles
	<i>Salmonella</i> Abony	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Agbeni	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Bareilly	1	Urines
	<i>Salmonella</i> Chester	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Give	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Nima	1	Urines
	<i>Salmonella</i> Poona	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Postdam	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Schwarzengrund	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Virchow	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Paratyphi A	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Paratyphi B	1	Hémoculture
	Non identifiées (mineures)	3	Os jambe droite (1) Hémoculture (1) Selles (1)
	2018	<i>Salmonella</i> Typhimurium	33
<i>Salmonella</i> Enteritidis		28	Selles (22) Hémocultures (3) Urines (2) Liquide articulaire (1)
<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique		21	Selles (19) Urines (1) Plaie chirurgicale (1)
<i>Salmonella</i> Kentucky		2	Selles
<i>Salmonella</i> Veneziana		2	Selles
<i>Salmonella</i> Agona		1	Selles
<i>Salmonella</i> Altona		1	Selles

	<i>Salmonella</i> Chester	1	Urines
	<i>Salmonella</i> Dublin	1	Urines
	<i>Salmonella</i> Fluntern	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Gloucester	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Holcomb	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Ohio	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Poona	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Virchow	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Virginia	1	Selles
	Non identifiée (mineure)	1	Hémoculture
2019	<i>Salmonella</i> Typhimurium	22	Selles (19) Hémoculture (1) Urine (1) Pus (1)
	<i>Salmonella</i> Enteritidis	17	Selles (14) Hémocultures (3)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	6	Selles (4) Hémoculture (1) Urines (1)
	<i>Salmonella</i> Infantis	3	Selles
	<i>Salmonella</i> Dublin	2	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Kottbus	2	Selles Urines
	<i>Salmonella</i> Newport	2	Hémoculture Selles
	<i>Salmonella</i> Ajiobo	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Bareilly	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Bovismorbificans	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Braenderup	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Bredeney	1	Selles

	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	1	Expectoration
	<i>Salmonella</i> Gold-Coast	1	Urines
	<i>Salmonella</i> Mons	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Montevideo	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Poona	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Stourbridge	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Travis	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Virchow	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Paratyphi B	2	Selles
	<i>Salmonella</i> Typhi	5	Hémocultures
2020	<i>Salmonella</i> Enteritidis	24	Selles (23) Hémoculture (1)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	18	Selles (17) Hémoculture (1)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	15	Selles (13) Hémocultures (2)
	<i>Salmonella</i> infantis	3	Hémocultures (2) Selles (1)
	<i>Salmonella</i> Chester	2	Hémoculture Selles
	<i>Salmonella</i> Stanley	2	Hémoculture Selles
	<i>Salmonella</i> Abony	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Derby	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Dublin	1	Hémoculture
	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	1	Urines
	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Gloucester	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Kedougou	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Reading	1	Selles

	<i>Salmonella</i> Richmond	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Typhi	2	Biliome Hémoculture
2021	<i>Salmonella</i> Enteritidis	22	Selles (10) Hémocultures (2) Liquide d'ascite (10)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium variant monophasique	19	Selles (17) Urines (2)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium	6	Selles (4) Urines (2)
	<i>Salmonella</i> Derby	3	Selles Hémoculture Urines
	<i>Salmonella</i> Chester	2	Selles Hémoculture
	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i>	2	Selles
	<i>Salmonella</i> Brandenburg	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Bredeney	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Dublin	1	Hémoculture
	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>houtenae</i>	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Hadar	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Infantis	1	Hémoculture
	<i>Salmonella</i> Napoli	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Poona	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Virchow	1	Selles
	<i>Salmonella</i> Paratyphi A	1	Hémoculture
<i>Salmonella</i> Typhi	1	Hémoculture	

Bibliographie

1. Dekker JP, Frank KM. *Salmonella*, *Shigella*, and *Yersinia*. Clin Lab Med. 2015 Jun;35(2):225–46.
2. Association des enseignants de microbiologie et d'immunologie des facultés de pharmacie. AEMIP 2019-*Salmonella* spp [Internet]. Available from: aemip.fr
3. Tindall BJ, Grimont P a. D, Garrity GM, Euzéby JP. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. Int J Syst Evol Microbiol. 2005 Jan;55(Pt 1):521–4.
4. Humphries RM, Linscott AJ. Practical Guidance for Clinical Microbiology Laboratories: Diagnosis of Bacterial Gastroenteritis. Clin Microbiol Rev. 2015 Jan;28(1):3–31.
5. Grimont PAD, Weill FX. Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur les *Salmonella*.
6. Parry CM, Hien TT, Dougan G, White NJ, Farrar JJ. Typhoid fever. N Engl J Med. 2002 Nov 28;347(22):1770–82.
7. Grossman DA, Witham ND, Burr DH, Lesmana M, Rubin FA, Schoolnik GK, et al. Flagellar Serotypes Of *Salmonella* Typhi In Indonesia: Relationships Among Motility, Invasiveness, And Clinical Illness. J Infect Dis. 1995 Jan 1;171(1):212–6.
8. Chen HM, Wang Y, Su LH, Chiu CH. Nontyphoid Salmonella Infection: Microbiology, Clinical Features, and Antimicrobial Therapy. Pediatr Neonatol. 2013 Jun 1;54(3):147–52.
9. livre-epillytrop2022.pdf [Internet]. [cited 2023 Mar 9]. Available from: <https://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/epilly-trop/livre-epillytrop2022.pdf>
10. Besser JM. *Salmonella* epidemiology: A whirlwind of change. Food Microbiol. 2018 May;71:55–9.
11. Stadtländer CTKH. CDC Health Information for International Travel 2016. Am J Trop Med Hyg. 2016 Nov 2;95(5):1219–20.
12. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet Infect Dis. 2019 Apr;19(4):369–81.
13. Salmonellose : informations et traitements - Institut Pasteur [Internet]. [cited 2023 Feb 25]. Available from: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/salmonellose>
14. Rapports d'activité du CNR des *Escherichia coli*, *Shigella*, *Salmonella* [Internet]. Institut Pasteur. 2016 [cited 2023 Feb 26]. Available from: <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/rapports-d-activite>
15. Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, Griffin PM, Pink D, Hand P, et al. Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. Environ Microbiol. 2010;12(9):2385–97.
16. Patrick ME, Adcock PM, Gomez TM, Altekruise SF, Holland BH, Tauxe RV, et al. *Salmonella* Enteritidis Infections, United States, 1985–1999. Emerg Infect Dis. 2004 Jan;10(1):1–7.
17. Hanning IB, Nutt JD, Ricke SC. Salmonellosis outbreaks in the United States due to fresh

produce: sources and potential intervention measures. *Foodborne Pathog Dis*. 2009;6(6):635–48.

18. Behravesh CB, Ferraro A, Deasy M, Dato V, Moll M, Sandt C, et al. Human *Salmonella* infections linked to contaminated dry dog and cat food, 2006–2008. *Pediatrics*. 2010 Sep;126(3):477–83.

19. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Human salmonellosis associated with animal-derived pet treats--United States and Canada, 2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2006 Jun 30;55(25):702–5.

20. DuPont HL. Guidelines on acute infectious diarrhea in adults. The Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol*. 1997 Nov;92(11):1962–75.

21. Denis F et al. Bactériologie médicale - Techniques usuelles [Internet]. 3ème Edition. Elsevier. [cited 2023 Mar 19]. Available from: <https://www.elsevier-masson.fr/bacteriologie-medicale-9782294746161.html>

22. Blaser MJ, Newman LS. A review of human salmonellosis: I. Infective dose. *Rev Infect Dis*. 1982;4(6):1096–106.

23. Shimoni Z, Pitlik S, Leibovici L, Samra Z, Konigsberger H, Drucker M, et al. Nontyphoid *Salmonella* bacteremia: age-related differences in clinical presentation, bacteriology, and outcome. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1999 Apr;28(4):822–7.

24. Wangdi T, Winter SE, Bäumlér AJ. Typhoid fever. *Gut Microbes*. 2012 Mar 1;3(2):88–92.

25. Hornick RB, Greisman SE, Woodward TE, DuPont HL, Dawkins AT, Snyder MJ. Typhoid fever: pathogenesis and immunologic control. *N Engl J Med*. 1970 Sep 24;283(13):686–91.

26. Haraga A, Ohlson MB, Miller SI. Salmonellae interplay with host cells. *Nat Rev Microbiol*. 2008 Jan;6(1):53–66.

27. House D, Bishop A, Parry C, Dougan G, Wain J. Typhoid fever: pathogenesis and disease. *Curr Opin Infect Dis*. 2001 Oct;14(5):573–8.

28. Wain J, Diep TS, Ho VA, Walsh AM, Hoa NTT, Parry CM, et al. Quantitation of Bacteria in Blood of Typhoid Fever Patients and Relationship between Counts and Clinical Features, Transmissibility, and Antibiotic Resistance. *J Clin Microbiol*. 1998 Jun;36(6):1683–7.

29. Butler T, Ho M, Acharya G, Tiwari M, Gallati H. Interleukin-6, gamma interferon, and tumor necrosis factor receptors in typhoid fever related to outcome of antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 1993 Nov;37(11):2418–21.

30. Bhutta ZA, Mansoorali N, Hussain R. Plasma cytokines in paediatric typhoidal salmonellosis: Correlation with clinical course and outcome. *J Infect*. 1997 Nov 1;35(3):253–6.

31. Gruenewald R, Blum S, Chan J. Relationship between human immunodeficiency virus infection and salmonellosis in 20- to 59-year-old residents of New York City. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1994 Mar;18(3):358–63.

32. Salmonella Homepage | CDC [Internet]. 2022 [cited 2023 Jan 31]. Available from: <https://www.cdc.gov/salmonella/index.html>

33. Black PH, Kunz LJ, Swartz MN. Salmonellosis--a review of some unusual aspects. *N Engl J*

Med. 1960 Apr 21;262:811-817 contd.

34. Sinha A, Sazawal S, Kumar R, Sood S, Reddaiah VP, Singh B, et al. Typhoid fever in children aged less than 5 years. *Lancet Lond Engl.* 1999 Aug 28;354(9180):734–7.
35. Wain J, Hendriksen RS, Mikoleit ML, Keddy KH, Ochiai RL. Typhoid fever. *Lancet Lond Engl.* 2015 Mar 21;385(9973):1136–45.
36. Dougan G, Baker S. *Salmonella enterica* serovar Typhi and the pathogenesis of typhoid fever. *Annu Rev Microbiol.* 2014;68:317–36.
37. Butler T, Islam A, Kabir I, Jones PK. Patterns of morbidity and mortality in typhoid fever dependent on age and gender: review of 552 hospitalized patients with diarrhea. *Rev Infect Dis.* 1991;13(1):85–90.
38. Bitar R, Tarpley J. Intestinal perforation in typhoid fever: a historical and state-of-the-art review. *Rev Infect Dis.* 1985;7(2):257–71.
39. van Basten JP, Stockenbrügger R. Typhoid perforation. A review of the literature since 1960. *Trop Geogr Med.* 1994;46(6):336–9.
40. Reed RP, Klugman KP. Neonatal typhoid fever. *Pediatr Infect Dis J.* 1994 Sep;13(9):774–7.
41. Wain J, Hien TT, Connerton P, Ali T, M. Parry C, Chinh NTT, et al. Molecular Typing of Multiple-Antibiotic-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhi from Vietnam: Application to Acute and Relapse Cases of Typhoid Fever. *J Clin Microbiol.* 1999 Aug;37(8):2466–72.
42. Chan SSW, Ng KC, Lyon DJ, Cheung WL, Cheng AFB, Rainer TH. Acute bacterial gastroenteritis: a study of adult patients with positive stool cultures treated in the emergency department. *Emerg Med J EMJ.* 2003 Jul;20(4):335–8.
43. Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, et al. Practice Guidelines for the Management of Infectious Diarrhea. *Clin Infect Dis.* 2001 Feb 1;32(3):331–51.
44. Riddle MS, DuPont HL, Connor BA. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am J Gastroenterol.* 2016 May;111(5):602–22.
45. Shane AL, Mody RK, Crump JA, Tarr PI, Steiner TS, Kotloff K, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2017 Oct 19;65(12):e45–80.
46. Société Française de Microbiologie. REMIC 2022.
47. Gilman RH, Terminel M, Levine MM, Hernandez-Mendoza P, Hornick RB. Relative efficacy of blood, urine, rectal swab, bone-marrow, and rose-spot cultures for recovery of *Salmonella* Typhi in typhoid fever. *Lancet Lond Engl.* 1975 May 31;1(7918):1211–3.
48. Rubin FA, McWhirter PD, Burr D, Punjabi NH, Lane E, Kumala S, et al. Rapid diagnosis of typhoid fever through identification of *Salmonella typhi* within 18 hours of specimen acquisition by culture of the mononuclear cell-platelet fraction of blood. *J Clin Microbiol.* 1990 Apr;28(4):825–7.
49. Hoffman SL, Edman DC, Punjabi NH, Lesmana M, Cholid A, Sundah S, et al. Bone marrow aspirate culture superior to streptokinase clot culture and 8 ml 1:10 blood-to-broth ratio blood culture for diagnosis of typhoid fever. *Am J Trop Med Hyg.* 1986 Jul;35(4):836–9.

50. Lue YA. Is enrichment broth necessary for stool cultures? *Clin Microbiol Newsl.* 1986 Jan;8(1):5–6.
51. Sparbier K, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. Rapid detection of *Salmonella* sp. by means of a combination of selective enrichment broth and MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* 2012 May;31(5):767–73.
52. He Y, Li H, Lu X, Stratton CW, Tang YW. Mass Spectrometry Biotyper System Identifies Enteric Bacterial Pathogens Directly from Colonies Grown on Selective Stool Culture Media. *J Clin Microbiol.* 2010 Nov;48(11):3888–92.
53. Anderson NW, Buchan BW, Riebe KM, Parsons LN, Gnacinski S, Ledebner NA. Effects of solid-medium type on routine identification of bacterial isolates by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J Clin Microbiol.* 2012 Mar;50(3):1008–13.
54. Lanata CF, Levine MM, Ristori C, Black RE, Jimenez L, Salcedo M, et al. Vi serology in detection of chronic *Salmonella* Typhi carriers in an endemic area. *Lancet Lond Engl.* 1983 Aug 20;2(8347):441–3.
55. Prodesse ProGastro SSCS Assay | Hologic [Internet]. [cited 2023 Apr 20]. Available from: <http://www.hologic.ca/products/clinical-diagnostics-blood-screening/assays-and-tests/prodesse-progastro-sscs-assay>
56. BD MAX™ Enteric Bacterial Panel - BD Molecular Diagnostics [Internet]. [cited 2023 Apr 20]. Available from: <https://moleculardiagnosics.bd.com/syndromic-solutions/enteric-solutions/enteric-bacterial-panel/>
57. BioFire® FilmArray® Gastrointestinal Panel (GI) [Internet]. bioMérieux France. [cited 2023 Apr 20]. Available from: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/biofirer-filmarray-gastrointestinal-panel-gi>
58. xTAG® Gastrointestinal Pathogen Panel (GPP) [Internet]. Luminex Corporation. [cited 2023 Apr 20]. Available from: <https://www.luminexcorp.com/gastrointestinal-pathogen-panel/>
59. Seegene Inc [Internet]. [cited 2023 Apr 20]. Available from: https://www.seegene.com/assays/allplex_gastrointestinal_panel_assays
60. QIAstat-Dx [Internet]. [cited 2023 Apr 20]. Available from: <https://www.qiagen.com/de/products/diagnostics-and-clinical-research/infectious-disease/qiastat-dx-syndromic-testing/qiastat-dx>
61. Amplidiag® - Mobidiag - High-throughput molecular diagnostics [Internet]. Mobidiag. [cited 2023 Apr 20]. Available from: <https://mobidiag.com/products/amplidiag/>
62. Navidad JF, Griswold DJ, Gradus MS, Bhattacharyya S. Evaluation of Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Analyte-Specific Reagents for High-Throughput, Simultaneous Detection of Bacteria, Viruses, and Parasites of Clinical and Public Health Importance. *J Clin Microbiol.* 2013 Sep;51(9):3018–24.
63. Wessels E, Rusman LG, van Bussel MJ a. WM, Claas ECJ. Added value of multiplex Luminex Gastrointestinal Pathogen Panel (xTAG® GPP) testing in the diagnosis of infectious gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2014 Mar;20(3):O182-187.
64. Black RE, Cisneros L, Levine MM, Banfi A, Lobos H, Rodriguez H. Case—control study to

identify risk factors for paediatric endemic typhoid fever in Santiago, Chile. *Bull World Health Organ.* 1985;63(5):899–904.

65. Luby SP, Faizan MK, Fisher-Hoch SP, Syed A, Mintz ED, Bhutta ZA, et al. Risk factors for typhoid fever in an endemic setting, Karachi, Pakistan. *Epidemiol Infect.* 1998 Mar;120(2):129–38.

66. Mermin JH, Villar R, Carpenter J, Roberts L, Samaridden A, Gasanova L, et al. A Massive Epidemic of Multidrug-Resistant Typhoid Fever in Tajikistan Associated with Consumption of Municipal Water. *J Infect Dis.* 1999 Jun 1;179(6):1416–22.

67. Luxemburger C, Duc CM, Lanh MN, Wain J, Hien TT, Simpson JA, et al. Risk factors for typhoid fever in the Mekong delta, southern Viet Nam: a case-control study. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2001 Jan 1;95(1):19–23.

68. Gasem MH, Dolmans WMVWMV, Keuter MM, Djokomoeljanto RR. Poor food hygiene and housing as risk factors for typhoid fever in Semarang, Indonesia. *Trop Med Int Health.* 2001;6(6):484–90.

69. Engels EA, Falagas ME, Lau J, Bennish ML. Typhoid fever vaccines: a meta-analysis of studies on efficacy and toxicity. *BMJ.* 1998 Jan 10;316(7125):110–6.

70. Wahdan MH, Sérié C, Cerisier Y, Sallam S, Germanier R. A Controlled Field Trial of Live *Salmonella typhi* Strain Ty 21a Oral Vaccine Against Typhoid: Three-Year Results. *J Infect Dis.* 1982 Mar 1;145(3):292–5.

71. Levine MM, Ferreccio C, Black RE, Germanier R. Large-scale field trial of Ty21a live oral typhoid vaccine in enteric-coated capsule formulation. *Lancet Lond Engl.* 1987 May 9;1(8541):1049–52.

72. Simanjuntak CH, Paleologo FP, Punjabi NH, Darmowigoto R, Soeprawoto null, Totosudirjo H, et al. Oral immunisation against typhoid fever in Indonesia with Ty21a vaccine. *Lancet Lond Engl.* 1991 Oct 26;338(8774):1055–9.

73. Fièvre typhoïde [Internet]. 2020 [cited 2023 Feb 26]. Available from: <https://vaccination-info-service.fr/Les-maladies-et-leurs-vaccins/Fievre-typhoide>

74. Fiche info - TYAVAX, suspension et solution pour suspension injectable en seringue préremplie. Vaccin de l'hépatite A (inactivé, adsorbé) et typhoïdique polysidique - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cited 2023 Feb 26]. Available from: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/extrait.php?specid=69725264>

75. Fiche info - TYPHIM Vi, solution injectable en seringue préremplie. Vaccin typhoïdique polysidique - Base de données publique des médicaments [Internet]. [cited 2023 Feb 26]. Available from: <https://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/extrait.php?specid=68790394>

76. Bula-Rudas FJ, Rathore MH, Maraqa NF. *Salmonella* Infections in Childhood. *Adv Pediatr.* 2015 Aug;62(1):29–58.

77. Wen SC, Best E, Nourse C. Non-typhoidal *Salmonella* infections in children: Review of literature and recommendations for management. *J Paediatr Child Health.* 2017 Oct;53(10):936–41.

78. Arshad MM, Wilkins MJ, Downes FP, Rahbar MH, Erskine RJ, Boulton ML, et al. Epidemiologic attributes of invasive non-typhoidal *Salmonella* infections in Michigan, 1995–2001. *Int J Infect Dis.* 2008 Mar 1;12(2):176–82.

79. Angulo FJ, Swerdlow DL. Bacterial enteric infections in persons infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1995 Aug;21 Suppl 1:S84-93.
80. Onwuezobe IA, Oshun PO, Odigwe CC. Antimicrobials for treating symptomatic non-typhoidal *Salmonella* infection. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2012 [cited 2023 Mar 8];(11). Available from: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD001167.pub2/full>
81. HCSP. Survenue de maladies infectieuses dans une collectivité. Conduites à tenir [Internet]. Rapport de l'HCSP. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2012 Sep [cited 2023 Mar 9]. Available from: <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=306>
82. FH. Principe de la détermination de la sensibilité et de la résistance des bactéries aux antibiotiques [Internet]. 2022 [cited 2023 Mar 19]. Available from: http://aemip.fr/?page_id=3762
83. Masson E. Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie [Internet]. EM-Consulte. [cited 2023 Mar 19]. Available from: <https://www.em-consulte.com/article/47300/interet-du-e-test-dans-le-suivi-de-l-antibiotherap>
84. Threlfall EJ. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiol Rev*. 2002 Jun;26(2):141–8.
85. Anderson ES. Drug resistance in *Salmonella* Typhimurium and its implications. *Br Med J*. 1968 Aug 10;3(5614):333–9.
86. Rowe B, Threlfall EJ. Drug resistance in gram-negative aerobic bacilli. *Br Med Bull*. 1984 Jan;40(1):68–76.
87. Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ. Multidrug-resistant *Salmonella* typhi: a worldwide epidemic. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 1997 Jan;24 Suppl 1:S106-109.
88. Su LH, Chiu CH, Chu C, Ou JT. Antimicrobial Resistance in Nontyphoid *Salmonella* Serotypes: A Global Challenge. *Clin Infect Dis*. 2004 Aug 15;39(4):546–51.
89. Helms M, Ethelberg S, Mølbak K. International *Salmonella* Typhimurium DT104 Infections, 1992–2001. *Emerg Infect Dis*. 2005 Jun;11(6):859–67.
90. Threlfall EJ, Ward LR, Rowe B. Multiresistant *Salmonella* typhimurium DT 104 and salmonella bacteraemia. *Lancet Lond Engl*. 1998 Jul 25;352(9124):287–8.
91. Hall RM. Salmonella genomic islands and antibiotic resistance in *Salmonella enterica*. *Future Microbiol*. 2010 Oct;5(10):1525–38.
92. Davis MA, Hancock DD, Besser TE, Rice DH, Gay JM, Gay C, et al. Changes in antimicrobial resistance among *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium isolates from humans and cattle in the Northwestern United States, 1982-1997. *Emerg Infect Dis*. 1999;5(6):802–6.
93. Marchello CS, Carr SD, Crump JA. A Systematic Review on Antimicrobial Resistance among Salmonella Typhi Worldwide. *Am J Trop Med Hyg*. 2020 Dec;103(6):2518–27.
94. Rowe B, Ward LR, Threlfall EJ, Wallace M, Yousif A. Spread of multiresistant *Salmonella* typhl. *The Lancet*. 1990 Oct 27;336(8722):1065–6.
95. Hawkey J, Le Hello S, Doublet B, Granier SA, Hendriksen RS, Fricke WF, et al. Global phylogenomics of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198. *Microb Genomics*. 2019 Jul;5(7):e000269.

96. Le Hello S, Harrois D, Bouchrif B, Sontag L, Elhani D, Guibert V, et al. Highly drug-resistant *Salmonella enterica* serotype Kentucky ST198-X1: a microbiological study. *Lancet Infect Dis*. 2013 Aug;13(8):672–9.
97. Mulvey MR, Boyd DA, Finley R, Fakharuddin K, Langner S, Allen V, et al. Ciprofloxacin-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Kentucky in Canada. *Emerg Infect Dis*. 2013 Jun;19(6):999–1001.
98. Cloeckaert A, Chaslus-Dancla E. Mechanisms of quinolone resistance in *Salmonella*. *Vet Res*. 2001;32(3–4):291–300.
99. Baucheron S, Imberechts H, Chaslus-Dancla E, Cloeckaert A. The AcrB multidrug transporter plays a major role in high-level fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage type DT204. *Microb Drug Resist Larchmt N*. 2002;8(4):281–9.
100. Su LH, Chiu CH, Chu C, Wang MH, Chia JH, Wu TL. In Vivo Acquisition of Ceftriaxone Resistance in *Salmonella enterica* Serotype Anatum. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Feb;47(2):563–7.
101. Allen KJ, Poppe C. Occurrence and characterization of resistance to extended-spectrum cephalosporins mediated by beta-lactamase CMY-2 in *Salmonella* isolated from food-producing animals in Canada. *Can J Vet Res Rev Can Rech Veterinaire*. 2002 Jul;66(3):137–44.
102. Makanera A, Arlet G, Gautier V, Manai M. Molecular Epidemiology and Characterization of Plasmid-Encoded β -Lactamases Produced by Tunisian Clinical Isolates of *Salmonella enterica* Serotype Mbandaka Resistant to Broad-Spectrum Cephalosporins. *J Clin Microbiol*. 2003 Jul;41(7):2940–5.
103. Chu C, Chiu CH, Wu WY, Chu CH, Liu TP, Ou JT. Large drug resistance virulence plasmids of clinical isolates of *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001 Aug;45(8):2299–303.
104. Llanes C, Kirchgessner V, Plesiat P. Propagation of TEM- and PSE-type beta-lactamases among amoxicillin-resistant *Salmonella* spp. isolated in France. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999 Oct;43(10):2430–6.
105. Dunne EF, Fey PD, Kludt P, Reporter R, Mostashari F, Shillam P, et al. Emergence of domestically acquired ceftriaxone-resistant *Salmonella* infections associated with AmpC beta-lactamase. *JAMA*. 2000 Dec 27;284(24):3151–6.
106. Fey PD, Safraneck TJ, Rupp ME, Dunne EF, Ribot E, Iwen PC, et al. Ceftriaxone-resistant salmonella infection acquired by a child from cattle. *N Engl J Med*. 2000 Apr 27;342(17):1242–9.
107. Vaubourdolle M. *Le Moniteur - Infectiologie*. 4ème édition. (Le Moniteur; vol. 4).
108. Vázquez-Laslop N, Mankin AS. How macrolide antibiotics work. *Trends Biochem Sci*. 2018 Sep;43(9):668–84.
109. AZITHROMYCINE ARROW LAB 500 mg cp pellic séc - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cited 2023 Mar 27]. Available from: https://evidal-vidal-fr-s.docadis.univ-tlse3.fr/medicament/azithromycine_arrow_lab_500_mg_cp_pellic_sec-208723.html#pharmacocinetique
110. Dinos GP. The macrolide antibiotic renaissance. *Br J Pharmacol*. 2017 Sep;174(18):2967–83.

111. Braoudaki M, Hilton AC. Mechanisms of resistance in *Salmonella enterica* adapted to erythromycin, benzalkonium chloride and triclosan. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 Jan;25(1):31–7.
112. Stock I, Wiedemann B. Natural antibiotic susceptibility of *Salmonella enterica* strains. *Int J Antimicrob Agents*. 2000 Nov 1;16(3):211–7.
113. Lalak NJ, Morris DL. Azithromycin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*. 1993 Nov;25(5):370–4.
114. Panteix G, Guillaumond B, Harf R, Desbos A, Sapin V, Leclercq M, et al. In-vitro concentration of azithromycin in human phagocytic cells. *J Antimicrob Chemother*. 1993 Jan 1;31(suppl_E):1–4.
115. La maladie - Recommandations CNR des *Escherichia coli*, *Shigella* et *Salmonella* [Internet]. Institut Pasteur. 2016 [cited 2023 Apr 30]. Available from: <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/escherichia-coli-shigella-salmonella/la-maladie-recommandations>
116. Steitz TA. A structural understanding of the dynamic ribosome machine. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008 Mar;9(3):242–53.
117. Pfister P, Jenni S, Poehlsgaard J, Thomas A, Douthwaite S, Ban N, et al. The structural basis of macrolide-ribosome binding assessed using mutagenesis of 23S rRNA positions 2058 and 2059. *J Mol Biol*. 2004 Oct 1;342(5):1569–81.
118. Pokharel BM, Koirala J, Dahal RK, Mishra SK, Khadga PK, Tuladhar NR. Multidrug-resistant and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Salmonella enterica* (serotypes Typhi and Paratyphi A) from blood isolates in Nepal: surveillance of resistance and a search for newer alternatives. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 2006 Nov;10(6):434–8.
119. Butler T, Sridhar CB, Daga MK, Pathak K, Pandit RB, Khakhria R, et al. Treatment of typhoid fever with azithromycin versus chloramphenicol in a randomized multicentre trial in India. *J Antimicrob Chemother*. 1999 Jan 1;44(2):243–50.
120. Chinh NT, Parry CM, Ly NT, Ha HD, Thong MX, Diep TS, et al. A Randomized Controlled Comparison of Azithromycin and Ofloxacin for Treatment of Multidrug-Resistant or Nalidixic Acid-Resistant Enteric Fever. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Jul;44(7):1855–9.
121. Frenck RW, Mansour A, Nakhla I, Sultan Y, Putnam S, Wierzba T, et al. Short-course azithromycin for the treatment of uncomplicated typhoid fever in children and adolescents. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2004 Apr 1;38(7):951–7.
122. Girgis NI, Butler T, Frenck RW, Sultan Y, Brown FM, Tribble D, et al. Azithromycin versus ciprofloxacin for treatment of uncomplicated typhoid fever in a randomized trial in Egypt that included patients with multidrug resistance. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999 Jun;43(6):1441–4.
123. Parry CM, Ho VA, Phuong LT, Bay PVB, Lanh MN, Tung LT, et al. Randomized controlled comparison of ofloxacin, azithromycin, and an ofloxacin-azithromycin combination for treatment of multidrug-resistant and nalidixic acid-resistant typhoid fever. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007 Mar;51(3):819–25.
124. DuPont HL. Clinical practice. Bacterial diarrhea. *N Engl J Med*. 2009 Oct 15;361(16):1560–9.
125. Sjölund-Karlsson M, Joyce K, Blickenstaff K, Ball T, Haro J, Medalla FM, et al. Antimicrobial Susceptibility to Azithromycin among *Salmonella enterica* Isolates from the United States ▽. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Sep;55(9):3985–9.

126. González-Abad MJ, Alonso Sanz M. Susceptibility to azithromycin in non-typhoid *Salmonella*: A therapeutic option. *An Pediatría Engl Ed*. 2021 Dec 1;95(6):468–9.
127. Müller S, Tappe D, Frosch M, Abele-Horn M, Valenza G. Resistance to ampicillin, third-generation cephalosporins, ciprofloxacin, co-trimoxazole and azithromycin in clinical isolates of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* from Germany: real problem or sporadic circumstance? *Scand J Infect Dis*. 2011 May;43(5):389–91.
128. Gunell M, Kotilainen P, Jalava J, Huovinen P, Siitonen A, Hakanen AJ. In Vitro Activity of Azithromycin against Nontyphoidal *Salmonella enterica*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Aug;54(8):3498–501.
129. Martín-Pozo A, Arana DM, Fuentes M, Alós JI. [Susceptibility to azithromycin and other antibiotics in recent isolates of *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(6):369–71.
130. Xie M, Chen K, Chan EWC, Chen S. Identification and genetic characterization of two conjugative plasmids that confer azithromycin resistance in *Salmonella*. *Emerg Microbes Infect*. 2022 Dec;11(1):1049–57.
131. Arthur M, Andremont A, Courvalin P. Distribution of erythromycin esterase and rRNA methylase genes in members of the family *Enterobacteriaceae* highly resistant to erythromycin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1987 Mar;31(3):404–9.
132. Gomes C, Martínez-Puchol S, Palma N, Horna G, Ruiz-Roldán L, Pons MJ, et al. Macrolide resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae*: Focus on azithromycin. *Crit Rev Microbiol*. 2017 Feb;43(1):1–30.
133. Roberts MC. Update on macrolide-lincosamide-streptogramin, ketolide, and oxazolidinone resistance genes. *FEMS Microbiol Lett*. 2008 May;282(2):147–59.
134. Hong YP, Chen YT, Wang YW, Chen BH, Teng RH, Chen YS, et al. Integrative and Conjugative Element-Mediated Azithromycin Resistance in Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* serovar Albany. *Antimicrob Agents Chemother*. 2023 May 1;65(5):e02634-20, AAC.02634-20.
135. Chen K, Yang C, Chan EW, Chen S. Emergence of Conjugative IncC Type Plasmid Simultaneously Encoding Resistance to Ciprofloxacin, Ceftriaxone, and Azithromycin in *Salmonella*. *Antimicrob Agents Chemother*. 65(9):e01046-21.
136. Darton TC, Tuyen HT, The HC, Newton PN, Dance DAB, Phetsouvanh R, et al. Azithromycin Resistance in *Shigella* spp. in Southeast Asia. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018 Mar 27;62(4):e01748-17.
137. Nusrin S, Asad A, Hayat S, Islam B, Begum R, Nabila FH, et al. Multiple Mechanisms Confer Resistance to Azithromycin in *Shigella* in Bangladesh: a Comprehensive Whole Genome-Based Approach. *Microbiol Spectr*. 10(4):e00741-22.
138. Nüesch-Inderbilen M, Heini N, Zurfluh K, Althaus D, Hächler H, Stephan R. *Shigella* Antimicrobial Drug Resistance Mechanisms, 2004–2014. *Emerg Infect Dis*. 2016 Jun;22(6):1083.
139. Campbell D, Bowen A, Bhatnagar A, McCullough A, Grass J, Chen J, et al. Identification and characterization of *Shigella* with decreased susceptibility to azithromycin in the United States, 2005 to 2014. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020 Jun;21:417–9.

140. Giske CG, Turnidge J, Cantón R, Kahlmeter G, EUCAST Steering Committee. Update from the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *J Clin Microbiol*. 2022 Mar 16;60(3):e0027621.
141. CLSI-2020.pdf [Internet]. [cited 2023 Mar 19]. Available from: <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
142. EUCAST Breakpoint Tables. 12.
143. Molloy A, Nair S, Cooke FJ, Wain J, Farrington M, Lehner PJ, et al. First report of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi A azithromycin resistance leading to treatment failure. *J Clin Microbiol*. 2010 Dec;48(12):4655–7.
144. Fricke WF, McDermott PF, Mammel MK, Zhao S, Johnson TJ, Rasko DA, et al. Antimicrobial resistance-conferring plasmids with similarity to virulence plasmids from avian pathogenic *Escherichia coli* strains in *Salmonella enterica* serovar Kentucky isolates from poultry. *Appl Environ Microbiol*. 2009 Sep;75(18):5963–71.
145. Weill FX, Bertrand S, Guesnier F, Baucheron S, Cloeckaert A, Grimont PAD. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Kentucky in travelers. *Emerg Infect Dis*. 2006 Oct;12(10):1611–2.

ABSTRACT***Salmonella* spp and azithromycin: status of resistance at Toulouse University Hospital between 2016 and 2021**

Bacteria of the genus *Salmonella* cause various pathologies in humans, ranging from asymptomatic carriage to typhoid fever. Typhoid strains (*Salmonella* Typhi, Paratyphi A, B and C) cause typhoid and paratyphoid fevers, while minor strains cause gastroenteritis. The first-line antibiotics used in these infections are the 3rd generation cephalosporins, fluoroquinolones and azithromycin. Azithromycin has lower resistance rates than the other molecules and is becoming an antibiotic of choice in the treatment of salmonellosis.

Our work focused on the study of the sensitivity of *Salmonella* spp. strains to azithromycin, through the study of MICs for azithromycin of all strains isolated at the Toulouse University Hospital between 2016 and 2021. This study shows an almost constant sensitivity of *Salmonella* to azithromycin, justifying its positioning as a first line antibiotic in the treatment of salmonellosis.

SALMONELLA SPP ET AZITHROMYCINE : ÉTAT DES LIEUX DE LA RÉSISTANCE AU CHU DE TOULOUSE ENTRE 2016 ET 2021

Présentée et soutenue publiquement par : Justine MADAULE

RESUMÉ

Les bactéries du genre *Salmonella* sont à l'origine de pathologies diverses chez l'Homme, allant d'un portage asymptomatique jusqu'à la fièvre typhoïde. Les souches typhiques (*Salmonella* Typhi, Paratyphi A, B et C) sont à l'origine des fièvres typhoïde et paratyphoïde, alors que les souches mineures entraînent un syndrome gastro-entéritique. Les antibiotiques utilisés en première intention dans ces infections sont les céphalosporines de 3^{ème} génération, les fluoroquinolones et l'azithromycine. L'azithromycine présente des taux de résistance inférieurs à ceux observés avec les autres molécules et devient un antibiotique de choix dans le traitement des salmonelloses.

Notre travail a porté sur l'étude de la sensibilité des souches de *Salmonella* spp à l'azithromycine, au travers de l'étude des CMI pour l'azithromycine de toutes les souches isolées au CHU de Toulouse entre 2016 et 2021. Il ressort de cette étude une sensibilité quasiment constante des salmonelles à l'azithromycine, justifiant son positionnement comme antibiotique de première ligne dans le traitement des salmonelloses.

TITRE ET RÉSUMÉ EN ANGLAIS : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Biologie Médicale

MOTS-CLES : Salmonella – Azithromycine – Résistance aux antibiotiques

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Laboratoire de Bactériologie – Hygiène
CHU de Toulouse - Institut Fédératif de Biologie
330 Avenue de Grande Bretagne
31300 Toulouse

DIRECTEUR DE THÈSE : Docteur Pauline FLOCH