

Maisons-Alfort, le 9 juin 2005

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une étude portant sur le niveau de la résistance aux antibiotiques observé dans la microflore sentinelle d'éleveurs de porcs, en France et sur les implications que cette étude serait susceptible d'entraîner

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments s'est auto-saisie, le 1 juin 2004, d'une demande d'avis sur les résultats d'une étude portant sur le niveau de la résistance aux antibiotiques observé dans la microflore sentinelle d'éleveurs de porcs, en France et sur les implications que cette étude serait susceptible d'entraîner ;

Considérant que cette étude a été publiée par l'Institut de Veille Sanitaire en février 2004¹ et dans le journal « Emerging Infectious Diseases » en 2004² ;

Considérant que les conclusions de cette étude indiquent une augmentation significative de la prévalence de bactéries commensales résistantes chez les sujets exposés à ce type d'élevage par rapport aux sujets contrôles non exposés à ces élevages ;

Considérant que les conclusions ouvrent comme perspective, une réflexion :

- et
- sur les conséquences pour la santé des éleveurs de porcs
 - sur les moyens de maîtrise de risques associés à l'activité professionnelle dans des élevages de porcs.

Considérant qu'une expertise est actuellement conduite par un groupe de travail, mis en place par l'Afssa, afin de répondre à une saisine d'une association de consommateurs sur les risques pour l'homme liés aux bactéries résistantes aux antibiotiques utilisés en élevage ;

Considérant que le groupe de travail a rendu l'avis suivant le 1^{er} février 2005, pris après audition de deux des auteurs de l'étude en question ;

¹ AUBRY-DAMON H., ANDREMONT A., LIENARD M., DELZESCLAUX D. et al. Résistance élevée aux antibiotiques des bactéries commensales isolées chez les éleveurs de porcs. France 2001. Institut de Veille Sanitaire, février 2004. <http://www.invs.sante.fr>

² AUBRY-DAMON H, GRENET K, SALL-NDIAYE P, CHE D, CORDEIRO E, BOUGNOUX ME, RIGAUD E, LE STRAT Y, LEMANISSIER V, ARMAND-LEFEVRE L, DELZESCAUX D, DESENCLOS JC, LIENARD M, ANDREMONT A. Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers. Emerg Infect Dis. 2004, 10:873-879.

« Position du problème

La justification de l'étude porte principalement sur l'usage animal des antibiotiques et l'impact que cet usage peut avoir sur le risque de résistance bactérienne au sein des élevages avec une mise en perspective des risques que cela peut engendrer pour la santé des populations humaines. Elle pose le problème en mettant l'accent sur le risque de transmission animal-homme des bactéries résistantes : "les conséquences pour la santé humaine de la sélection de bactéries résistantes dans les élevages sont difficiles à évaluer, on sait cependant que les élevages peuvent représenter une source d'acquisition par l'homme de bactéries résistantes dans deux circonstances: la contamination des denrées alimentaires et l'exposition directe dans les élevages d'animaux".

Il faut souligner d'emblée plusieurs éléments.

- La question de l'usage des antibiotiques en élevage et de son impact sur la santé humaine au regard du risque de résistance bactérienne à ces molécules est pertinente et fait actuellement l'objet d'une expertise scientifique à l'initiative de l'Afssa.
- L'hypothèse testée dans ce travail, ne porte pas sur le risque lié à l'usage des antibiotiques chez les animaux d'élevage, mais sur le risque lié à une activité professionnelle : l'élevage de porcs³.

Objectif

L'objectif principal de ce travail était "de tester l'hypothèse que les sujets travaillant dans les élevages de porcs ont un portage accru de bactéries résistantes dans leurs flores commensales nasale, pharyngée et digestive, en comparaison avec des individus ne partageant pas cette exposition". Les objectifs secondaires étaient "d'identifier une taille particulière d'élevage ou d'éventuelles pratiques à risque au sein des élevages pour la colonisation par des bactéries résistantes au sein des populations exposées".

Au stade des objectifs, plusieurs remarques peuvent être faites.

1 - La justification de l'étude porte sur une hypothèse de transmission de bactéries résistantes de l'animal à l'homme. L'hypothèse principale testée porte sur une différence de colonisation en fonction d'une exposition professionnelle (personne travaillant dans un élevage de porcs ou non). Tester l'hypothèse de la transmission aurait nécessité un recueil d'information microbiologique (notamment colonisation bactérienne à *S. aureus*) protocolisé auprès des animaux vivants dans les élevages en s'attachant à contrôler les séquences chronologiques entre les prélèvements faits chez les animaux et ceux faits chez l'homme. En conséquence, l'absence de données concernant le portage et l'état des résistances aux antibiotiques des *S. aureus* chez les porcs des élevages recrutés est un obstacle important à la justification de l'hypothèse présentée.

2 - La collecte de données spécifiquement françaises comporte a priori un intérêt pour répondre à une absence quasi totale d'information sur ce sujet conduisant systématiquement à la nécessité d'extrapoler à la France des résultats issus de travaux réalisés dans des pays dont les pratiques professionnelles sont différentes, à la fois dans les techniques d'élevage et les méthodes de traitement (Pays Bas en particulier).

3 - L'objectif principal suppose que les comparaisons portent sur des indicateurs de prévalence, c'est-à-dire sur un dénombrement des bactéries résistantes isolées rapporté au nombre d'individus inclus dans les échantillons.

³ A ce titre il faut souligner qu'il s'agit d'une exposition à l'élevage sans en détailler les modalités

Méthode épidémiologique

D'un point de vue méthodologique, il s'agit d'une étude transversale appariée "exposé - non exposé". Le terme « exposé » désignant l'exposition professionnelle aux élevages de porcs. L'appariement a été réalisé sur le sexe, l'âge, la zone géographique du lieu de travail et le médecin du travail (appariement 1:1, 5 paires par médecin). La méthode épidémiologique choisie est pertinente au regard de l'objectif principal annoncé. Elle est inadéquate pour tester une hypothèse de transmission de bactéries résistantes de l'animal à l'homme.

Le protocole est en adéquation avec l'objectif. La population source est parfaitement définie et le choix des individus contrôlés est correctement organisé. Les modalités de recrutement des individus exposés ou non (consultation dans le cadre de médecine du travail par la Mutualité Sociale Agricole) sont raisonnables si l'on fait l'hypothèse que les consultations dans ce contexte sont indépendantes de l'évènement d'intérêt ou des facteurs qui pourraient y être associés. Bien que rien ne soit précisé sur ce point, il semble qu'il s'agisse surtout de consultations systématiques de médecine du travail.

La comparabilité initiale des exposés et des non exposés peut être discutée.

- D'abord du point de vue de la fréquence du recours à la médecine du travail entre exposés et non-exposés. En effet, ne peut-on pas imaginer qu'il existe entre ces deux populations une différence de perception de son propre état de santé ayant une influence sur la fréquence d'exposition personnelle aux antibiotiques ?

- Mais surtout, d'autres facteurs que les facteurs d'appariement seraient susceptibles d'avoir une influence sur la colonisation par des staphylocoques résistants. Notamment, les 2 populations ne sont pas homogènes par leur statut social (salariés du secteur agricole et salariés du secteur tertiaire ; ce qui suppose un mode de vie différent (manuel/sédentaire) et des habitudes probablement différentes en ce qui concerne l'usage des antibiotiques et donc une exposition à des risques autres que le contact avec les animaux.

- D'autres éléments manquant pour la comparaison des groupes sont : la prise d'antibiotiques dans les semaines précédant les prélèvements, l'état de santé de l'entourage... A ce titre le recueil d'information concernant l'exposition personnelle aux antibiotiques, voire l'usage d'antibiotiques dans l'entourage des individus inclus, aurait pu être approfondi. Ceci constituera une faiblesse de l'imputabilité professionnelle des différences observées.

On peut souligner que l'exclusion des sujets ayant fait l'objet d'une hospitalisation, ou dont un membre au moins de la famille avait été hospitalisé, n'a pas été prévue a priori, ce qui a rendu nécessaire l'exclusion de 5 sujets dans le groupe « éleveurs ». Cette exclusion post hoc peut poser le problème de la qualité du critère informatif l'ayant rendu possible et, de ce fait, d'un biais différentiel entre les exposés et les non exposés vis à vis de l'évènement d'intérêt.

La taille des échantillons est plus faible que ceux utilisés dans les deux autres études disponibles sur cette question ; 290 éleveurs dans l'étude de Nijsten et al. (1994)⁴ et 260 éleveurs dans l'étude de Nijsten et al. (1996)⁵. D'un point de vue plus anecdotique, on peut souligner que les effectifs présentés dans le rapport de l'InVS et dans de l'article publié ne sont pas strictement identiques.

⁴ NIJSTEN R., LONDON N., VAN DEN BOGAARD A. & STOBBERINGH E. Resistance in faecal *Escherichia coli* isolated from pigfarmers and abattoir workers. *Epidemiol Infect*, 1994, **113**, 45-52

⁵ NIJSTEN R., LONDON N., VAN DEN BOGAARD A. & STOBBERINGH E. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolate from faecal samples of pig farmers and pigs. *J Antimicrob Chemother*, 1996, **37**, 1131-1140.

Le recueil d'informations épidémiologiques en élevage est assez minimaliste probablement parce qu'il n'a pu être mis en place lors du dessin de l'étude.

Néanmoins, les auteurs auraient pu tenter de documenter plus précisément les modalités d'utilisation des antibiotiques dans l'élevage :

- la nature des antibiotiques utilisés, les posologies, les durées de traitement, le lieu des traitements (en maternité : truies, porcelets, les deux; en post-sevrage : en 1er âge, en 2ème âge, les deux ; en engraissement ou en cours de gestation) ;

- le mode de traitement :

- Individuel [Injectable, isolé (fréquent en engraissement) ou systématique (fréquent sur le porcelet en maternité) / Oral : chez la truie, le porcelet nouveau né],

- Collectif : aliment médicamenteux : chez le porcelet en 1er âge, sur d'autres animaux, / traitements dans l'eau de boisson [dans la machine à soupe, dans l'eau de boisson à l'aide d'une « pompe doseuse », et, dans ce cas, à partir d'un médicament liquide ou solide].

Méthode microbiologique

Les méthodes microbiologiques utilisées dans ce travail n'appellent pas de commentaires.

Méthode statistique

Le calcul du nombre de sujet nécessaire (CNSN) repose sur une hypothèse de différence globale de risque de colonisation par des bactéries résistantes, qui aurait pu être plus précisément définis. De plus, peut être aurait-il fallu que les auteurs se centrent sur un pathogène, par exemple celui pour lequel la vraisemblance a priori est maximale ou celui pour lequel l'enjeu sanitaire paraît le plus critique. Cette absence d'une formalisation plus avancée du pathogène ou du phénotype de résistance auquel on s'intéresse conduit à discuter la multiplicité des tests statistiques sans les corrections nécessaires dans ce genre de situation pour éviter de conclure à tort au rejet de l'hypothèse nulle.

Concernant l'analyse, le protocole prévoyait un appariement sur l'âge, le sexe et le canton du lieu de travail des exposés et des non exposés, ceci afin de limiter les effets de ses facteurs sur les différences entre les deux populations. Cet appariement n'a pas été conservé jusqu'au terme de l'analyse. L'abandon de l'appariement est probablement lié à la décision en cours d'étude par les auteurs d'effectuer des comparaisons sur les taux de résistance et non sur la prévalence de colonisation par des bactéries résistantes. Cette stratégie est discutable.

Résultats et discussion

Les deux publications successives, l'une sous forme d'un rapport, l'autre d'un article sont basées sur les mêmes travaux issus d'un travail financé par le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (programme Environnement et Santé) et la Mutualité Sociale Agricole et associant des auteurs de l'InVS, de l'INSERM EPI9933 (CHU Bichat, Paris), de la Mutualité Sociale Agricole et de la Fédération Nationale de la Coopération Bétail Viande. Cependant, des différences substantielles existent dans la rédaction des 2 publications.

L'introduction et la discussion du rapport sont très orientées sur des hypothèses qui n'ont pas fait l'objet du travail et qui ne sont pas argumentées, entre autres l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance (ou à but prophylactique ou thérapeutique) qui n'est pas remise dans son contexte, n'a pas été étudiée chez les porcs des élevages concernés et fait l'objet d'une mise en exergue exagérée.

La publication est par contre plus factuelle et gagne en objectivité dans la mesure où la discussion et les conclusions sont centrées sur les résultats obtenus.

Le résultat non discutable le plus important de l'article est que les éleveurs de porcs (n=112) sont plus fréquemment colonisés à S. aureus que les sujets contrôles (n=112) (44,6% vs 24,1%, p<0,01) et que ces staphylocoques sont plus résistants à certains antibiotiques (macrolides). Ce point n'est discuté qu'en rapport avec une possible transmission issue des porcs. D'autres hypothèses ne sont pas discutées, mais peuvent être avancées, notamment l'effet de recontamination à S. aureus en rapport avec une hygiène des mains ou la survenue possiblement plus fréquente d'infection de plaies liées au travail manuel, la manipulation d'aliments contenant des antibiotiques...

Alors que la discussion est centrée sur *S. aureus* d'autres espèces bactériennes ont été étudiées pour lesquelles des différences sont retrouvées mais non expliquées.

Les résultats permettent d'observer un taux de résistance plus élevé chez les éleveurs de porcs concernant *S. aureus* et macrolides [44,4% (n=108) vs 22% (n=100), $p < 0,01$], streptocoques commensaux de la gorge et ampicilline [72% (n=50) vs 7,4% (n=27), $p < 0,01$], *E. coli* du tube digestif et tétracycline, cotrimoxazole et acide nalidixique, et la résistance des flores sous dominantes lactose + à la streptomycine, au chloramphenicol, la tétracycline et l'acide nalidixique.

La résistance à l'ampicilline plus importante chez les streptocoques des sujets exposés est beaucoup moins mise en exergue que celle des staphylocoques aux macrolides. Elle aurait cependant mérité d'être analysée plus en détail. On sait en effet que ce sont surtout les macrolides qui avant 1999, étaient utilisés chez les porcs comme additif alimentaire⁶ et le sont actuellement en thérapeutique. Les auteurs relient l'absence d'entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) à la suppression de l'avoparcine comme facteur de croissance. Compte tenu de l'absence de données historiques sur la présence d'ERV dans les flores digestive des éleveurs de porcs français, cette interprétation est discutable. Néanmoins, la discussion expose bien les limites de l'approche notamment du point de vue de la démonstration de la causalité.

Conclusion

Plusieurs éléments de ce travail peuvent être discutés. A ce titre, il en est de ce travail comme de tous les travaux de recherche épidémiologiques Au delà des critiques méthodologiques qui rendent parfois difficiles l'interprétation des résultats, le principal mérite de cette étude est de poser le problème du risque professionnel des éleveurs au regard de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Il y a peu d'études de ce genre et elles sont nécessaires. On ne peut remettre en cause les faits d'observations portant sur la colonisation plus fréquente par certaines bactéries résistantes des éleveurs de porcs recrutés pour cette étude. Il est essentiel que ce problème puisse faire l'objet de travaux scientifiques futurs.

Les principaux problèmes méthodologiques peuvent être résumés de la façon suivante :

Il s'agit tout d'abord de la relative discordance entre l'objectif de l'étude et l'argumentation présentée dans la justification de l'étude qui porte plus sur le risque lié à l'usage des antibiotiques chez les animaux que sur le risque lié à des pratiques professionnelles qui constitue en réalité la seule hypothèse qui a été testée. Dès lors, les résultats ne peuvent être interprétés au delà des questions qui correspondaient à cette hypothèse.

D'un point de vue méthodologique, l'absence de formalisation précise de l'hypothèse principale (en termes d'indicateur et de quantification) conduit nécessairement à affaiblir la portée de l'interprétation des résultats notamment puisque les auteurs n'ont pas pris en compte le caractère multiple des tests statistiques réalisés et n'ont pas tenu l'appariement jusqu'au terme de l'analyse.

⁶ L'étude a été réalisée en 2001

L'interprétation des résultats est délicate. En effet, attribuer aux différences d'activités professionnelles les différences observées ne peut pas être formellement affirmé compte tenu des incertitudes portant sur l'usage personnel des antibiotiques des exposés et des non exposés ainsi que des différences très vraisemblables dans le mode de vie personnelle et les risques rencontrés dans leur vie professionnelle par les volontaires des deux groupes. Ceci est susceptible d'affaiblir les conclusions des auteurs sur les observations faites, sur la relation suggérée avec l'exposition aux porcs, les différences entre les deux groupes de volontaires étant bien plus nombreuses que cette seule différence.

L'interprétation de ces résultats ne peut donc nullement inférer une causalité à l'usage des antibiotiques dans les élevages, mais pose sans aucun doute le problème d'un risque professionnel dont :

- 1- les conséquences sont inconnues, notamment en termes de morbidité et de mortalité,*
- 2- les déterminants restent non clarifiés. Même si on admet l'existence d'un risque professionnel, l'absence de documentation et d'analyse des divers facteurs de risque potentiel empêche l'analyse de ce risque et donc de prendre les mesures correctives nécessaires. Par exemple, concernant les staphylocoques dorés qui, dans cette étude sont en plus grand nombre et plus résistants aux macrolides, plusieurs facteurs de risque sont non analysés et non discutés : le rôle de la poussière et de la manipulation des aliments dans lesquels sont ajoutés des antibiotiques, n'est pas clairement discuté, ni celui d'autres dangers professionnels qui pourraient être associée à une plus grande fréquence d'utilisation d'antibiotiques chez les porchers.*

Pour étayer avec plus de confiance un sur-risque de colonisation des éleveurs de porcs par S. aureus d'origine animale résistant aux macrolides, il est indispensable de promouvoir d'autres travaux de recherches en s'attachant à documenter la colonisation des porcs par S. aureus, au contact desquels les éleveurs se trouvent, ainsi que la caractérisation génotypique des souches. Dans le cadre de l'hypothèse posée, il faut s'intéresser aux souches porcines de S. aureus de portage et non seulement aux souches d'infections qui peuvent appartenir à des clones différents, plus pathogènes, voire avoir été transmises de l'éleveur aux animaux. Par ailleurs, il pourrait être souhaitable de reconsidérer le choix des témoins, pour par exemple les choisir parmi des ouvriers agricoles n'ayant pas de contact avec les porcs mais dont l'activité professionnelle est plus semblable à des éleveurs de porcs que des employés du secteur tertiaire. »

Eléments d'éclairage apportés par les auteurs de l'étude

Si les auteurs de l'étude s'accordent globalement avec l'analyse du groupe de travail, des précisions sont ajoutées en réponse à certains points :

- concernant le recrutement des sujets, il est précisé que les personnes retenues ont été jugées en bonne santé lors de la visite médicale obligatoire annuelle de la Mutualité sociale agricole, et n'ont, ni fait l'objet d'une hospitalisation, ni pris des antibiotiques, durant le mois précédent l'étude (critère présenté dans l'article publié dans Emerging infectious disease);
- concernant le recueil d'information épidémiologique en élevage, il est souligné que la transparence sur les usages des antibiotiques en filière de production animale, et en particulier en filière porcine, s'est améliorée depuis la date à laquelle s'est conduite cette étude (2001) ; aussi, si des études du même type devaient se poursuivre, ce type d'informations pourraient être plus facilement disponibles ;
- concernant la méthode statistique utilisée, le débat d'experts concerne la pertinence d'utiliser certains tests de correction (correction de Bonferroni notamment) au regard du caractère exploratoire de l'étude.

Conclusion

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Microbiologie », réuni le 22 mars 2005 l'**Agence française de sécurité sanitaire des aliments** souligne l'intérêt des travaux épidémiologiques, rares en France, contribuant à nourrir la réflexion sur les risques pour l'homme de l'émergence, la transmission et la diffusion de la résistance bactérienne aux antibiotiques, en relation avec le secteur de la production animale.

L'Afssa souligne en outre que les données de l'étude en question, telles que présentées, ne portent pas sur le risque lié à l'usage des antibiotiques chez les animaux d'élevage, mais sur le risque lié à une activité professionnelle.

Au stade actuel des données disponibles, les risques sanitaires pour les éleveurs de porcs, en France, liés à un portage plus fréquent de *S. aureus* résistant à certains antibiotiques, ne sont pas démontrés et les facteurs de risque de ce portage ne sont pas clairement définis.

En revanche, l'expertise contradictoire a permis d'identifier des pistes de travaux de recherche complémentaires indispensables à la démarche d'appréciation des risques, tels que:

- 1- la caractérisation des souches et des phénomènes de diffusion entre l'animal et l'homme;
- 2- les conséquences d'une colonisation plus fréquente par certaines bactéries résistantes, sur la morbidité et la mortalité des éleveurs de porcs.

Martin HIRSCH