

Ecole Nationale de la Santé Publique

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES  
Formation des ingénieurs du Génie  
Sanitaire  
1998-1999

**ANTIBIORESISTANCE BACTERIENNE DANS  
L'EAU : PROBLEMATIQUE DE LA  
TRANSMISSION DE L'ANIMAL A L'HOMME**

**Présenté par :**  
Laure DELERY  
Ingénieur diplômée INSA

**Lieu de stage :** LERES  
ENSP (Rennes)

**Responsables :**  
Monsieur Jean LESNE (LERES)  
Madame Michèle LEGEAS (EGERIES)

« L'Ecole Nationale de la Santé Publique n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les mémoires : les opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs »

Je remercie

Monsieur J. LESNE et Madame M. LEGEAS pour avoir proposé un sujet de mémoire qui m'a tenue en haleine pendant 4 mois et pour m'avoir donné toute liberté dans mes rencontres professionnelles et mes déplacements (je repense à Bruxelles...)

Monsieur J. MINET, praticien hospitalier, qui m'a donné de nombreux conseils, m'a accueillie au Laboratoire de bactériologie du CHU sud de Rennes et aidée pour la réalisation des antibiogrammes.

Sylvain MOREL, pour son aide généreuse aux moments forts

Arlette qui a passé autant de temps que moi à identifier ces chères bactéries

Isabelle, Marie-Claire, Sylvie, Sandrine x 2 qui m'ont permis de parler d'autre chose que d'antibiotique et de résistance !

L'ensemble des personnes contactées et rencontrées qui ont aimablement pris le temps de répondre à mes questions et m'ont fait goûter, l'espace d'un rendez-vous ou d'une conversation téléphonique, à des professions que je ne connaissais pas.

## ABSTRACT

### **ANTIBIORESISTANCE TRANSFER FROM ANIMAL TO MAN WITH WATER**

The use of antibiotics in animal husbandry has led to the occurrence of drug-resistant bacterial strains that can disseminate to man through the food chain and more particularly through water.

This report contains 3 parts :

- A review of bacterial antibioresistance in animal husbandry and in the environment as well as public health risks related to waterborne transfer of resistant strains and resistance genes.
- The results of a survey in which 115 *Enterococcus spp.* strains and 197 *Aeromonas spp.* strains isolated from a river were screened for resistance to various antibiotics. It can be asserted that the antibiotic resistance profiles of the isolates are linked with animal pollution at different sampling sites. However, public health risks should be a matter of concern as far as aquatic bacteria such as *Aeromonas spp.* can be found after water treatment and can persist in drinking water distribution systems.
- A proposal for antibioresistance risk management in the light of the scientific knowledge, the ground observations produced and the existing monitoring systems.

# SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	1
A SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE .....	8
I Les bases moléculaires de l'antibiorésistance bactérienne .....	8
I.1 L'action des antibiotiques.....	8
I.2 La résistance aux antibiotiques.....	10
I.3 Antibiorésistance des populations bactériennes .....	12
I.4 Détermination pratique de la résistance aux antibiotiques : l'antibiogramme .....	14
II Synthèse du débat autour de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale .....	14
II.1 Utilisation des antibiotiques en santé animale .....	15
II.2 Etat de la résistance bactérienne chez les animaux d'élevage.....	19
II.3 Emission de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement .....	24
III Résistance des bactéries aux antibiotiques dans l'environnement .....	27
III.1 Prévalence de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement .....	27
III.2 Transfert de l'antibiorésistance dans l'environnement .....	29
III.3 Persistance et évolution des déterminants de l'antibiorésistance.....	33
IV Risques pour la santé publique.....	34
IV.1 Risques communautaires .....	34
IV.2 Risques hydriques à l'hôpital.....	36
B ETUDE DES PROFILS D'ANTIBIORESISTANCE DE SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES D'UNE RIVIERE BRETONNE .....	38
I Présentation de l'étude.....	38
I.1 Objectifs.....	38
I.2 Le site étudié.....	38
II Matériel et méthodes .....	39
I.1 Plan d'échantillonnage des prélèvements.....	39
II.2 Choix de 2 espèces bactériennes d'intérêt.....	39
II.3 Constitution du soucier d'étude.....	40
II.5 Choix des antibiotiques à tester.....	42
II.6 Antibiogrammes .....	44
III Résultats et discussion.....	45
III.1 Facteurs limitants de l'interprétation des résultats.....	45

III.2 Etude des phénotypes de résistance .....	46
III.3 Suite du travail .....	48
C ELEMENTS DE REFLEXION POUR LA GESTION DES RISQUES .....	49
I Organisation des systèmes de surveillance de l'antibiorésistance bactérienne chez l'homme et chez l'animal .....	49
I.1 Réseaux de surveillance de l'antibiorésistance chez l'animal .....	50
I.2 Réseaux de surveillance de l'antibiorésistance chez l'homme.....	53
I.3 L'ONERBA : réseau global de surveillance de l'antibiorésistance en France.....	56
I.4 Discussion.....	57
II. Opportunité d'un système de surveillance environnemental.....	58
CONCLUSION .....	60
ANNEXE 1 : .....	61
ANNEXE 2 : .....	62
ANNEXE 3 .....	63
BIBLIOGRAPHIE .....	64

## **LISTE DES FIGURES**

- Figure 1 : **Consommation annuelle estimée des antibiotiques chez l'homme et chez l'animal dans l'Union Européenne (1997)** P 9
- Figure 2 : **Consommation d'antibiotiques par groupe de substance en pourcentage d'ingrédient actif à 100 % de pureté** P 10
- Figure 3 : **Le réseau de transfert de la résistance (D'après 7b)** P 19
- Figure 4 : **Schéma de localisation des sites de prélèvement** P 33

## **LISTE DES TABLEAUX**

- Tableau I** : Caractéristiques des antibiotiques utilisés chez les animaux de production P 11
- Tableau II** : Répartition spatio-temporelle des campagnes de prélèvement des *Aeromonas spp.* P 35
- Tableau III** : Répartition spatio-temporelle des campagnes de prélèvements d'entérocoques P 36

## **LISTE DES ANNEXES**

- ANNEXE 1 : Mode d'action des principales familles d'antibiotiques P 55
- ANNEXE 2 : Mécanismes permettant le transfert de gènes entre bactéries P 56
- ANNEXE 3 : Principaux germes bactériens responsables d'infections hydriques chez l'homme P 57

## INTRODUCTION

Les difficultés croissantes rencontrées à l'hôpital pour traiter certaines infections résultant de bactéries multirésistantes et l'absence de développement de nouvelles molécules d'antibiotiques suscitent une grande inquiétude à la fois en santé humaine et animale. Les préoccupations des médecins et vétérinaires pour la prise en compte du phénomène global d'antibiorésistance a abouti à l'organisation de plusieurs réunions durant ces 2 dernières années et à la rédaction de nombreux rapports par des groupes d'experts nationaux ou internationaux. C'est dans ce cadre que s'inscrivent les recommandations du rapport sur l'antibiorésistance du Comité Scientifique Directeur de la Commission Européenne (1), le Plan National d'Actions pour la Maîtrise et la Prévention de l'Antibiorésistance coordonné par le Réseau national de Santé Publique (devenu InVS) à la demande du Secrétaire d'état à la Santé en France (4).

L'adhésion à l'Union Européenne de 3 pays scandinaves ayant interdit l'usage des antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance dans les élevages a relancé le débat sur l'utilisation des antibiotiques en élevage et leur rôle dans l'émergence et la dissémination de bactéries résistantes. Des mesures d'action ont été prises au nom du principe de précaution (suspension de 4 additifs antibiotiques utilisés comme facteurs de croissance au 1<sup>er</sup> juillet 1999) même si le lien de causalité entre la quantité d'antibiotiques utilisée et le développement de la résistance n'est toujours pas clairement établi.

L'existence de voies de transmission de l'antibiorésistance des bactéries de l'animal à l'homme via la chaîne alimentaire est particulièrement préoccupante et pourrait menacer la santé publique. Ces voies sont nombreuses : la voie alimentaire est la plus contrôlée tandis que le contact avec l'animal et le transfert dans l'environnement de bactéries des flores intestinales animales sélectionnées par l'utilisation d'antibiotiques sont peu étudiés. Le compartiment environnemental est pourtant essentiel car il contribue à la dissémination des souches résistantes qu'il s'agisse de la flore banale susceptible de transmettre des gènes de résistance, ou qu'il s'agisse de bactéries pathogènes à la fois pour l'homme et l'animal.

Après un important rappel bibliographique nécessaire à la bonne compréhension du sujet, les objectifs de ce mémoire sont d'abord d'étudier les profils d'antibiorésistance de souches bactériennes isolées d'une rivière située en zone d'élevage intensif, puis de mettre les résultats en liaison avec les sources de pollution du site d'échantillonnage et avec les risques pour la santé publique résultant d'une transmission hydrique de bactéries résistantes. Enfin, les résultats obtenus sont mis en perspective avec une réflexion générale sur le contrôle de l'antibiorésistance afin de juger de l'opportunité de la mise en place d'une surveillance de mesures environnementale de l'antibiorésistance.

# A SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## I Les bases moléculaires de l'antibiorésistance bactérienne

La connaissance des bases moléculaires de la résistance naturelle et acquise (caractéristiques et variété des supports génétiques, multiplicité des mécanismes impliqués, différents modes de transfert des déterminants de la résistance entre les bactéries) est indispensable pour comprendre comment l'utilisation des antibiotiques exerce une pression de sélection sur les micro-organismes et influence leur état de résistance.

### *I.1 L'action des antibiotiques*

#### I.1.1 Généralités

Les antibiotiques sont des substances naturelles produites par des micro-organismes, bactéries ou champignons, et capables de tuer des micro-organismes sensibles ou d'inhiber leur croissance. Ces agents naturels peuvent être modifiés par des méthodes chimiques (antibiotiques semi-synthétiques), d'autres substances sont totalement artificielles (sulfamides, triméthoprime et quinolones). Le mot antibiotique sera utilisé dans tout le mémoire pour désigner tous les agents antimicrobiens à l'exception des désinfectants et des coccidiostatiques (antiparasitaires).

Les antibiotiques sont utilisés en médecine humaine et vétérinaire. Diverses autres utilisations en sont faites (protection des cultures, marqueurs pour les organismes génétiquement modifiés).

La variété des molécules antibiotiques connues rend nécessaire un essai de classification des molécules qui prend en compte la structure chimique en relation avec l'activité bactérienne. Cette classification évolue plus ou moins rapidement en fonction de l'arrivée de nouvelles molécules et de l'intérêt suscité par leur utilisation thérapeutique. Les grandes familles d'antibiotiques sont actuellement les suivantes :  $\beta$ -lactamines, aminoglycosides, macrolides, fluoroquinolones, peptides, cyclines. D'autres classes existent mais sont quantitativement moins importantes. (12a)

Les antibiotiques interagissent avec les bactéries au niveau de **cibles spécifiques**. Par exemple, certains agents vont agir sur la synthèse de la paroi cellulaire, d'autres inhibent la

synthèse des acides nucléiques, la synthèse des protéines....(cf. ANNEXE 1) La **toxicité sélective** des antibiotiques, basée sur la différence de structure ou de métabolisme entre les cellules bactériennes et animales, permet de porter le moins possible de préjudice à l'hôte.

La résistance des bactéries aux antibiotiques classiques impose la recherche de nouvelles molécules (13a). L'unité INSERM 110 travaille actuellement sur la recherche de peptides antibiotiques produits par les animaux vertébrés et invertébrés qui tuent de nombreux micro-organismes en interagissant avec leur membrane lipidique.( INSERM, 1999)

### I.1.2 Activité des antibiotiques

Le champ d'efficacité d'une substance antibiotique ou **spectre antibiotique** est soit étroit (efficacité des antibiotiques sur une variété restreinte de micro-organismes) soit large (les antibiotiques attaquent de nombreux types d'agents pathogènes différents).

Au laboratoire, la mesure de l'activité d'un antibiotique repose sur 2 grandeurs :

- la concentration minimale inhibitrice (CMI) qui correspond à la plus petite concentration qui inhibe la croissance de la bactérie (activité bactériostatique).

- la concentration minimale bactéricide (CMB) qui correspond à la plus petite concentration qui non seulement inhibe la croissance de la bactérie mais tue celle-ci (activité bactéricide).

On distingue *spectre naturel* et *spectre clinique*. Le *spectre naturel* d'un antibiotique (CAMBAU, 1996) comprend les espèces bactériennes dont la croissance est inhibée par des concentrations d'antibiotiques que l'on peut atteindre in vivo. Le *spectre clinique* d'un antibiotique est basé, non seulement sur des données bactériologiques (spectre naturel, fréquence des résistances acquises, répartition des CMI) mais aussi sur des données pharmacocinétiques et cliniques ce qui permet de définir une concentration critique inférieure « c » et une concentration supérieure « C » par rapport à un antibiotique donné (3a):

- \* Une bactérie dont la CMI est inférieure à « c » est dite **sensible** à cet antibiotique.

- \* Une bactérie dont la CMI est supérieure à « C » est dite **résistante** à cet antibiotique.

- \* Une bactérie dont la CMI est comprise entre « C » et « c » est dite de sensibilité **intermédiaire**.

Ces données sont régulièrement révisées par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) pour tenir compte de l'évolution des résistances acquises<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Pour plus de renseignements, lire l'article de C-J. SOUSSY paru dans le Bulletin de la Société Française de Microbiologie, Vol.12, n°2,172-174

## ***1.2 La résistance aux antibiotiques***

### **1.2.1 Définition de la résistance et supports génétiques**

On peut définir la **résistance bactérienne aux antibiotiques** comme la capacité des micro-organismes d'une certaine espèce à survivre ou même à se développer en présence d'antibiotiques. La résistance d'une souche bactérienne à un antibiotique peut être :

***Intrinsèque*** : l'espèce est alors caractérisée par son insensibilité naturelle à un antibiotique particulier. Cela peut résulter de l'incapacité de l'antibiotique à pénétrer dans la cellule (paroi bactérienne imperméable) et à atteindre sa cible, d'un manque d'affinité entre l'antibiotique et son site d'action, ou de l'absence de cible cellulaire.

***acquise*** : l'espèce est normalement sensible à un antibiotique mais certaines souches expriment une résistance à un ou des antibiotique(s) donné(s) grâce à plusieurs mécanismes biochimiques. Elles sont donc capables de supporter une concentration d'antibiotique(s) qui normalement est suffisante pour inhiber ou tuer des bactéries de la même espèce.

### **Supports génétiques**

Le support génétique des mécanismes de la résistance est essentiel car il conditionne sa faculté de propagation et donc la fréquence de la résistance dans une population bactérienne donnée.

Les gènes qui codent pour les mécanismes de résistance peuvent faire partie du patrimoine chromosomique de la bactérie ou appartenir à un élément mobile, plasmide, transposon ou intégron. La résistance dont le support est chromosomique a comme caractéristique d'être stable, transmise à la descendance de la cellule bactérienne (transmission verticale) mais en général elle est peu ou pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale). La résistance dont le support génétique fait partie d'un élément mobile acquis est transmise à la descendance de la cellule mais a tendance à être instable en l'absence du facteur de sélection représenté par le ou les antibiotiques concernés.

Ce type de résistance a cependant l'avantage d'être transférable d'une bactérie à l'autre et de coder pour des multirésistances.

### **1.2.2 Mécanismes de résistance (12c)**

La connaissance de ces mécanismes est précieuse pour caractériser les souches bactériennes résistantes et contribue à préciser l'épidémiologie de la résistance.

Il existe actuellement 2 hypothèses sur l'origine des mécanismes de résistance. Les micro-organismes producteurs d'antibiotiques naturels (*Streptomyces*, champignons) sont la première source probable de gènes de résistance pour les autres espèces. Une autre origine possible est l'évolution des gènes du métabolisme bactérien détournés de leur fonction initiale pour contrer l'action des antibiotiques.

Les bactéries disposent d'un arsenal varié pour résister aux antibiotiques grâce à plusieurs mécanismes biochimiques :

- i) inactivation ou modification enzymatique de l'antibiotique
- ii) diminution de la perméabilité de la bactérie à l'antibiotique et/ou augmentation de l'excrétion de la molécule hors de la bactérie (efflux actif)
- iii) altération de la cible entraînant un défaut d'affinité de l'antibiotique pour son site d'action
- iv) utilisation d'une nouvelle voie métabolique remplaçant la voie inhibée par l'antibiotique
- v) modulation de l'expression génétique au niveau transcriptionnel ou traductionnel

### 1.2.3 Acquisition de la résistance

La résistance peut être acquise de manière endogène par mutation ou de manière exogène par transfert génétique. (12b)

- Les mutations, qui résultent d'une modification spontanée, ponctuelle et rare d'un locus du chromosome bactérien (qui contrôle la sensibilité à un antibiotique donné) ont comme principale caractéristique, en terme de dissémination, d'être héritées de façon stable par la descendance.

- Les bactéries peuvent aussi échanger de l'ADN grâce à 3 mécanismes génétiques propres aux bactéries : la transformation, la conjugaison et la transduction (cf. ANNEXE 2). La dissémination de la résistance aux antibiotiques dans les conditions naturelles est fréquemment due à une combinaison de mécanismes de transfert de gènes.

La *transformation*, acquisition d'ADN nu, est vraisemblablement limitée au transfert entre genres bactériens étant donné que l'ADN entrant est stabilisé chez la cellule receveuse par recombinaison homologue.

Dans la *conjugaison*, deux types d'éléments génétiques sont autotransférables : les plasmides et les transposons. Les plasmides « conjuguatifs » transfèrent efficacement entre les bactéries à GRAM positif ou à GRAM négatif appartenant à des genres différents. Les

transposons sont des éléments génomiques de structure compacte avec un spectre d'hôte de transfert très large qui comprend de nombreuses espèces à GRAM positif mais également des bacilles à GRAM négatif, dans le génome desquels ils s'intègrent à de hautes fréquences. Les transposons « conjugatifs » des cocci à GRAM positif représentent un moyen efficace de transfert des gènes de résistance aux antibiotiques entre des genres bactériens éloignés phylogénétiquement. Certains plasmides peuvent porter plus d'un transposon et codent pour la résistance à plusieurs antibiotiques sans relation chimique. De cette façon, les résistances deviennent liées même si elles résultent de mécanismes de transfert différents.

La *transduction* est un mécanisme de transfert de l'ADN par l'intermédiaire d'un virus bactérien ou bactériophage. Ce mécanisme est jusqu'à présent le moins étudié dans le transfert horizontal des gènes de résistance mais il semblerait qu'il joue un rôle non négligeable dans l'échange de matériel génétique entre bactéries.

#### 1.2.4 Termes utilisés pour décrire la résistance des bactéries aux antibiotiques (CAMBAU, 1996 )

Le **niveau de résistance** est défini comme le rapport de la CMI pour une bactérie résistante et celle de la bactérie sensible appartenant à la même espèce.

La **résistance croisée** entre 2 antibiotiques est définie par un même mécanisme de résistance. C'est en général le cas pour 2 antibiotiques de la même famille.

La **co-résistance** concerne la résistance à 2 antibiotiques liée à 2 mécanismes distincts.

La **multirésistance** bactérienne, quant à elle, résulte de l'accumulation de résistances à un nombre important d'antibiotiques appartenant à des familles différentes et donc ayant des mécanismes d'actions très divers. (12c)

### ***1.3 Antibiorésistance des populations bactériennes***

#### 1.3.1 Sélection des populations résistantes

L'augmentation lente mais constante du nombre de bactéries résistantes a 2 principales causes (GUILLOT, 1990) : d'abord, une épidémiologie particulière des gènes de résistance liée aux différents supports génétiques possibles (chromosome, plasmide ou transposon), ensuite, l'utilisation massive des antibiotiques chez l'homme et l'animal a inévitablement amené à la sélection de bactéries résistantes.

Quel que soit la localisation des gènes de résistance, les mécanismes de résistance à un antibiotique, le mode de dissémination des déterminants de la résistance, la présence d'un antibiotique favorise la multiplication des micro-organismes pathogènes ou commensaux de l'hôte capables de survivre en présence de cet agent. Il est pourtant très difficile de démontrer une relation claire entre l'utilisation des antibiotiques et la prévalence de la résistance, d'une part par manque de données précises sur les quantités et modes de consommation des antibiotiques par l'homme et par l'animal, d'autre part parce que la réponse de l'hôte à l'infection est multifactorielle.(1)

### I.3.2 Evolution de l'antibiorésistance (7d)

Un certain nombre de spécialistes pensent que la réduction voire la suppression de l'utilisation de certains antibiotiques permettrait de faire disparaître les résistances bactériennes correspondantes. L'hypothèse qui sous-tend cette idée repose sur le fait que la résistance induit des altérations du fonctionnement normal de la bactérie qui ont un coût. Par conséquent, en l'absence d'antibiotiques, les bactéries résistantes seraient moins performantes que les bactéries sensibles. Mais cela ne semble pas toujours vérifié. Une fois la résistance acquise, il semblerait au contraire que les bactéries en fassent un avantage évolutif. Des études récentes montrent en effet, qu'une fois apparues, les résistances ont très peu de chances de disparaître spontanément. On a observé d'autre part que les bactéries résistantes continuent à évoluer pour améliorer leurs performances et compenser leur désavantage initial, y compris en l'absence d'antibiotiques. De plus, le fait que pour le même antibiotique différentes mutations de résistance soient associées à différents coûts (en termes d'altération du fonctionnement normal) induit une diversité sur laquelle peut s'exercer la sélection. C'est la voie ouverte à une évolution ultérieure vers les mutations les moins pénalisantes. Par exemple, les plasmides qui portent des gènes de résistance peuvent parfois véhiculer toute une collection de gènes de résistance à des antibiotiques variés ou à des toxiques. Il suffit d'utiliser un seul antibiotique pour co-sélectionner l'ensemble des gènes de résistance présents sur le plasmide et donc favoriser leur prolifération. Ainsi une équipe de recherche à l'université de Géorgie (citée par PERROT) a montré que la pression de sélection exercée par le mercure qui s'échappe des plombages dentaires favorisait la résistance bactérienne au mercure et maintenait en même temps des gènes de résistance aux antibiotiques portés par le même plasmide.

#### ***1.4 Détermination pratique de la résistance aux antibiotiques : l'antibiogramme***

Il n'existe pas à l'heure actuelle d'accord entre les pays européens sur la méthode optimale pour tester la sensibilité aux antibiotiques. Les méthodes de dilution en bouillon ou en gélose permettent de déterminer les valeurs de CMI. La méthode de diffusion en gélose ou méthode des disques est la plus fréquemment utilisée. Elle est plus rapide et plus facile à effectuer en routine que les méthodes de dilution. Son principe consiste à déposer des disques de papier buvard imprégnés d'une charge donnée d'antibiotique à la surface d'un milieu gélosé Mueller-Hinton préalablement ensemencé avec une suspension d'environ  $10^6$  bactéries/ml. L'antibiotique diffuse dans la gélose, les concentrations diminuant au fur et à mesure que l'on s'éloigne du disque. Une zone d'inhibition de la culture microbienne est observable autour du disque d'antibiotique après 18 heures d'incubation à 37 °C. (TREMOLIERES, 1998)

Les bactéries disposent d'un arsenal diversifié pour s'adapter aux antibiotiques et évoluer rapidement. Les antibiotiques sont utilisés depuis le début des années 1950 dans les élevages intensifs pour améliorer l'état sanitaire des animaux et donc contribuer à la rentabilité des élevages. Leur usage a inévitablement conduit à l'émergence de bactéries d'origine animale résistantes à ces produits.

## **II Synthèse du débat autour de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale**

Le débat a pris un tournant décisif lors de la conférence mondiale organisée par l'OMS en octobre 1997 sur le thème de l'impact médical des antibiotiques utilisés dans l'alimentation animale. Depuis, une deuxième conférence a été organisée par l'OMS à Genève en juin 1998 sur le thème des « risques potentiels pour la santé publique associés à l'utilisation des fluoroquinolones chez les animaux d'élevages » tandis que le 28 mai 1999, le Comité Scientifique Directeur de la Direction Générale XXIV de la Commission Européenne rendait public son rapport sur l'étude de la résistance bactérienne aux antibiotiques .(1)

## II.1 Utilisation des antibiotiques en santé animale

### II.1.1 Quantité d'antibiotiques consommés en médecine vétérinaire dans l'Union Européenne

Les seules données connues sur la consommation d'antibiotiques à des fins vétérinaires ont été fournies par une étude de la FEDESA (Fédération Européenne de la Santé Animale) présentée lors du colloque sur la « Menace Microbienne » réuni à Copenhague au Danemark (7-10 sept. 1998). Selon cette étude, la consommation d'antibiotiques dans l'Union Européenne pour l'année 1997 se chiffre à 10 493 tonnes d'ingrédients actifs de 100% de pureté. La répartition du tonnage comprend 52 % pour la consommation en médecine humaine (hôpital et médecine de ville), 33 % pour la consommation en médecine vétérinaire et 15 % au titre d'additifs facteurs de croissance chez les animaux de production.

Cette estimation de l'utilisation des antibiotiques en volume constitue une avancée car, jusqu'à présent, les chiffres étaient publiés en valeur par rapport au chiffre d'affaires de l'industrie pharmaceutique.

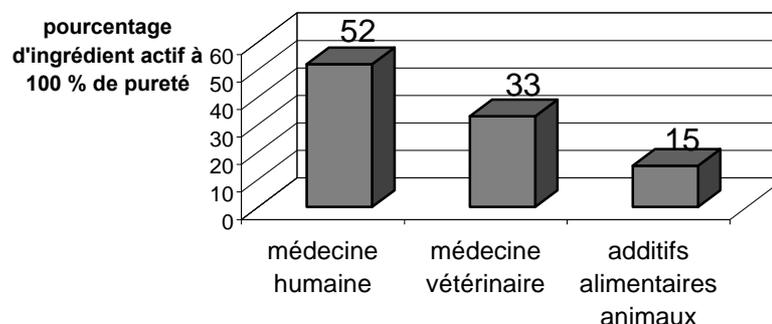


Figure 1 : Consommation annuelle estimée des antibiotiques chez l'homme et chez l'animal dans l'Union Européenne (1997)

En 1998, l'Office International des Epizooties (OIE) a chargé l'Agence Nationale des Médicaments Vétérinaires (ANMV) d'initier une réflexion sur le développement potentiel d'antibiorésistances liées à l'utilisation des médicaments vétérinaires. Cette réflexion fait l'objet d'une action concertée entre l'ANMV et le Laboratoire des Médicaments Vétérinaires (laboratoire de l'AFSSA à Fougères (35)). Un groupe de travail conduit par P. SANDERS (chef du Département Médicaments Vétérinaires au laboratoire de l'AFSSA à Fougères) a été

mis en place pour étudier la faisabilité d'un système de suivi des quantités d'antibiotiques commercialisés comme médicaments en France.

Les volumes de vente d'antibiotiques chez les animaux par groupe de substance sont détaillés par cette même étude :

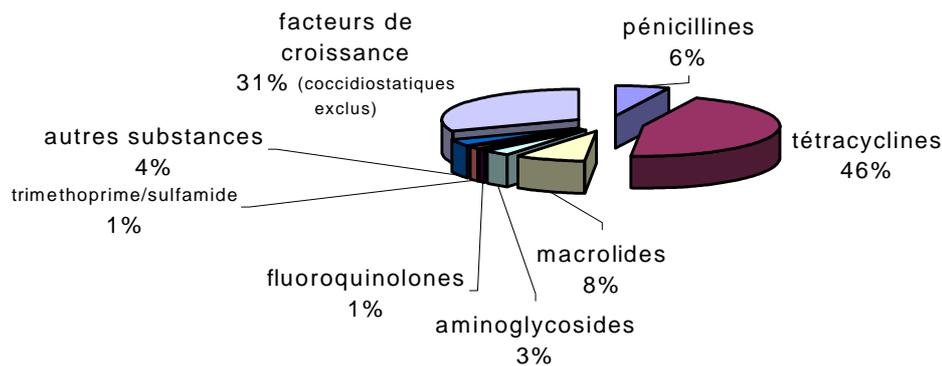


Figure 2 : Consommation d'antibiotiques par groupe de substance en pourcentage d'ingrédient actif à 100 % de pureté

Au regard de ces données, on remarque la grande place des tétracyclines, qui sont des antibiotiques à large spectre, et donc très employés dans un traitement de première intention par les vétérinaires. Les facteurs de croissance représentent près d'un tiers du total des consommations ce qui paraît assez important au regard des impacts sanitaires ou environnementaux que peut poser cet usage des antibiotiques. En effet, les additifs antibiotiques se retrouvent en grande partie dans les excréments des animaux car ils sont peu assimilés.

Il faut aussi remarquer que la connaissance du pourcentage en volume des produits antibiotiques ne permet pas d'approcher la consommation individuelle des animaux traités en médecine vétérinaire qui dépend à la fois de l'activité intrinsèque de l'antibiotique (posologie, pharmacocinétique), du dosage variable suivant les animaux (poids corporel/jour) et du mode d'administration de l'antibiotique. Elle ne permet pas non plus d'estimer la consommation d'additifs antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance par les animaux de rente, ni la taille du cheptel concerné. Par ailleurs, les consommations sont données sans distinction d'origine animale (domestique/rente). En ce qui concerne l'utilisation des antibiotiques en aquaculture, aucun enregistrement précis des quantités utilisées n'est disponible. (1)

## II.1.2 Modes d'utilisation des antibiotiques en production animale

Dans les élevages d'animaux destinés à la consommation humaine, les antibiotiques sont utilisés dans un but thérapeutique (soit curatif soit préventif – métaprophylaxie -, pour traiter une infection bactérienne déclarée) ou comme additif alimentaire pour leurs effets promoteurs de croissance. En France, un grand nombre de molécules anciennes et peu coûteuses est encore utilisé<sup>2</sup>.

Conformément à la législation européenne et aux recommandations du rapport officiel britannique SWANN en 1969, la majorité des antibiotiques utilisés à des fins thérapeutiques chez l'homme et/ou chez l'animal ne sont pas utilisés comme promoteurs de croissance. Des antibiotiques de la même famille pour lesquels des résistances croisées peuvent apparaître sont cependant utilisés et cela peut poser d'importants problèmes (cf. paragraphe II.2.4).

La situation de l'utilisation des antibiotiques est très variable en Europe. Bien que les réglementations définissant la mise sur le marché des médicaments vétérinaires et des additifs soient harmonisées au niveau européen, on constate une disparité européenne du fait de conditions d'élevage, de choix thérapeutiques et de politiques d'utilisation des antibiotiques très différents entre les pays. (3b)

D'après la plaquette de communication du Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire (11), les médicaments et additifs antibiotiques utilisés chez les animaux de production ont les caractéristiques suivantes :

**Tableau I** : Caractéristiques des antibiotiques utilisés chez les animaux de production

<b>Médicaments vétérinaires</b>		<b>Additifs</b>
Traitement des infections bactériennes	INTERET TECHNIQUE	Régulation de la flore intestinale Assimilation des aliments
Utilisation ponctuelle dans les grands effectifs (curative C, >200 g/tonne d'aliment médicamenteux) ou périodique pour la protection de l'ensemble des animaux et intégrée dans les plans sanitaires d'élevages (préventive P, 100 à 200 g/t d'aliment médicamenteux) .	MODALITES D'ADMINISTRATION	Doses très faibles dans l'aliment (5-50 g/tonne d'aliment médicamenteux) Utilisation continue sur une période de vie déterminée de l'animal

<sup>2</sup> Pour connaître en détail les molécules autorisées en France chez les animaux d'élevage, il faut se référer au Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires.

Mode d'administration : injection parentérale individuelle ou prémélange médicamenteux incorporé dans l'aliment ou l'eau de boisson		
Vaches laitières <i>(traitement des mammites, P+C)</i> Bovins viande (infections respiratoires, P+C ; infections digestives, C) Ovins/caprins Porcs <i>(infection respiratoire et digestive, P)</i> Volailles <i>(infection digestive, P+C ; infection respiratoire, C)</i>	ESPECES ANIMALES	Bovins viande Porcs volailles
Rentabilité Restauration et maintien de la santé des animaux Confort et bien-être de l'animal Sécurité des consommateurs	OBJECTIFS	Rentabilité de la production Animal sain : qualité de la viande Préservation de l'environnement Bien-être de l'animal Sécurité des consommateurs
France : loi sur la Pharmacie vétérinaire (19 mai 1975) et décrets consécutifs définissant les conditions de mise sur le marché et de prescriptions par les vétérinaires. Au niveau européen c'est la directive européenne 81/852 CEE modifiée par les directives 87/20 CEE et 92/18/CEE qui fait référence.	REGLEMENTATION	Règlement communautaire : Directive 70/524 CEE Liste positive européenne comportant actuellement 4 molécules autorisées suite au règlement 2821/98 CEE Produits non soumis à prescription
Dossier d'enregistrement et d'AMM fournissant les preuves de la qualité, efficacité, sécurité pour l'homme et pour l'animal Contrôles aléatoires sur les denrées d'origine animale consommables pour vérifier les Limites Maximales Résiduelles définies par le règlement communautaire 2377/90/CEE faisant l'objet de plans de surveillance (directive. 96/23/CEE)	CONTROLE	Dossier d'enregistrement et d'AMM (Directive 87/153) Organisation des contrôles définie par la directive 95/53 et effectués par les services de la répression des fraudes. dans les produits animaux faisant l'objet de plans de surveillance

En ce qui concerne l'aquaculture, seuls 4 antibiotiques sont autorisés en France à être administrés aux poissons d'élevage à titre curatif sous forme d'aliments médicamenteux (acide oxolinique, fluméquine –quinolones- ; sulfadiazine (sulfamide) + triméthoprime ; oxytétracycline -cycline-). Les responsables des piscicultures visitées au cours de ce mémoire ont affirmé se conformer très précisément aux doses, durée de traitement et délais d'attentes avant commercialisation du poisson indiqués par leur vétérinaire. D'après le rapport du Comité Scientifiques Directeur de la Direction Générale XXIV de la Commission Européenne (1), il semblerait que l'utilisation des antibiotiques diminue grâce à l'amélioration des conditions d'élevage, qui a permis de réduire la transmission des maladies, et du développement et de l'utilisation de vaccins efficaces.

## **II.2 Etat de la résistance bactérienne chez les animaux d'élevage**

### II.2.1 Prévalence de la résistance (1;13b)

Les élevages intensifs hors sol créent les conditions favorables à l'émergence et à la dissémination d'agents microbiens infectieux. En effet, du fait même de la promiscuité des animaux et de leur grand nombre dans un bâtiment d'élevage, la transmission des maladies y est grandement facilitée. Aussi, les vétérinaires ont recours à des traitements collectifs pour limiter le nombre d'animaux infectés. Même si les antibiotiques sont indispensables pour le contrôle de ces infections, ils exercent de manière inévitable une pression de sélection, entraînant le développement de bactéries pathogènes ou commensales résistantes.

La résistance bactérienne aux antibiotiques qui apparaît dans les élevages diffère suivant l'espèce d'animal considérée, le stade de l'infection, la nature de la pathologie et l'antibiotique utilisé. Les principales bactéries qui posent à l'heure actuelle des problèmes de résistance dans les élevages sont les suivants :

\* *Escherichia coli* : cette espèce bactérienne est naturellement présente dans le tube digestif des animaux mais certains biotypes en font aussi l'un des plus importants pathogènes entériques chez les animaux d'élevage destinés à la consommation humaine. Des données quantitatives sur la résistance de *E. coli* chez le porc sont disponibles dans plusieurs pays (DUNLOP, 1998). De hauts niveaux de résistance (tétracyclines, sulfamides, streptomycine, ampicilline et triméthoprime/sulfamide) sont rapportés à peu près partout en Europe. En France, de hauts niveaux de résistance aux tétracyclines, ampicilline et

triméthoprime/sulfamide, néomycine et gentamicine ont été identifiés dans des isolats cliniques de veaux.

\* *Salmonella typhimurium* : la résistance aux antibiotiques de *S. typhimurium* est à la fois répandue chez l'homme et chez l'animal (bovin, porc, volaille). De nombreuses études mentionnent de hauts niveaux de résistance, y compris de la multirésistance, plus particulièrement chez les souches d'origine bovine. Le lysotype *S. typhimurium* DT 104 pose actuellement de nombreux problèmes en pathologie bovine en raison son caractère épidémique. (3d).

\* *Staphylococcus aureus* est le pathogène le plus important des infections bovines mais le faible nombre d'études publiées ne permet pas d'évaluer le niveau de résistance de cette bactérie (1).

\* Les *Enterococcus spp.* provoquent des maladies chez les animaux d'élevage de manière occasionnelle. Les isolats cliniques portent souvent des gènes de résistance transférables et constituent de ce fait des réservoirs de résistance notamment chez le porc et la volaille pouvant menacer la santé de l'homme du fait de l'existence de résistance croisées avec des antibiotiques utilisés en médecine humaine.

\* *Aeromonas salmonicida* : plus de 80 pathogènes bactériens ont été identifiés dans les piscicultures d'Europe mais seuls quelques uns semblent avoir un impact déterminant en aquaculture. Des résistances plasmidiques aux antibiotiques ont été identifiées chez certains pathogènes bactériens du poisson ; par exemple, des plasmides transférables ont été observés chez *A. salmonicida* (1).

L'apparition de souches pathogènes moins connues (*Serpulina hyodysenteriae*, spirochète anaérobie agent de la dysenterie du porc, *Pasteurella spp.* et *Actinobacillus spp.* chez les bovins) et résistantes aux antibiotiques est également rapportée (1).

## II.2.2 Relation entre utilisation des antibiotiques et prévalence de la résistance (1)

La plupart des études sur le sujet (citées par(1)) ont montré que l'introduction d'un antibiotique spécifique dans un élevage en usage thérapeutique et/ou préventif est en pratique suivie de la détection de la résistance à cet antibiotique dans les isolats bactériens d'origine clinique.

Des exemples spécifiques illustrent l'émergence de résistance consécutive à l'utilisation d'antibiotiques dans les élevages :

- L'utilisation des **fluoroquinolones** en élevage aviaire pour traiter les septicémies à *E. coli* des jeunes poulets a indirectement sélectionné des *Campylobacter jejuni* résistantes à cette catégorie d'antibiotiques (étude citée par (1)). Il a été conclu de la deuxième conférence organisée par l'OMS à Genève en 1998 que l'usage de ces antibiotiques a conduit à l'émergence de *Campylobacter* et *Salmonella* résistantes aux fluoroquinolones chez l'homme. Cependant il a également été conclu que l'impact de cette résistance chez l'homme est actuellement peu documenté et que de nouvelles recherches et la constitution de banques de données sont nécessaires pour quantifier cette possibilité. (WHO, 1998)

- L'utilisation de la gentamicine et de l'apramycine, 2 **aminosides** introduits au début des années 80 en pathologie bovine, fournit un exemple français d'émergence et de diffusion de résistance aux antibiotiques suite à leur introduction. En effet, les 1ères souches, des salmonelles résistantes à de nombreux antibiotiques dont l'apramycine et la gentamicine ont été isolées en 1984 d'animaux septicémiques d'élevages de jeunes bovins. Dès lors, on a observé la diffusion rapide de salmonelles et d'*E. coli* résistantes à ces 2 antibiotiques dans les élevages bovins. Un unique mécanisme de résistance a été identifié et un support plasmidique a été confirmé. (3c)

- Une étude danoise de 1995 (citée par (1)) a montré que l'utilisation comme promoteur de croissance d'avoparcine, un **glycopeptide**, sélectionne les entérocoques résistants à la vancomycine dans la flore intestinale des animaux d'élevage. L'association entre avoparcine et haute prévalence de la résistance aux glycopeptides chez des isolats d'origine animale a été plusieurs fois rapportée. En Suède où les glycopeptides ne sont plus utilisés depuis 1985, aucun entérocoque résistant à la vancomycine n'aurait été détecté depuis lors. (1)

Une étude récente confirme le pouvoir sélectionnant de l'avoparcine vis à vis des entérocoques (WEGENER, 1999)

- La résistance à des antibiotiques de la famille des **macrolides-lincosamides-streptogramines** (MLS) est courante chez les animaux qui reçoivent de la tylosine (macrolide) ou de la virginiamycine (streptogramine) comme facteurs de croissance. Les données semblent montrer que l'utilisation des macrolides et streptogramines en élevage aviaire ou porcin est associée à l'émergence d'entérocoques résistants à ces 2 types d'antibiotiques chez ces mêmes animaux. (KAUKAS, 1998)

Ces quelques exemples suggèrent que l'utilisation d'antibiotiques en élevage contribue fortement au développement d'antibiorésistances chez certaines bactéries pathogènes ou commensales des animaux.

### II.2.3 Impacts de la résistance sur la médecine vétérinaire en élevage

Le premier impact de la résistance aux antibiotiques est un échec des traitements empiriques d'infections bactériennes qui provoque une augmentation de la morbidité et de la mortalité des animaux de production. La gestion des maladies chez les animaux d'élevage est un enjeu économique important. En effet, lors du traitement d'un grand nombre d'animaux, un échec thérapeutique causé par un problème de résistance va nécessiter de recourir à une formulation antibiotique alternative adaptée au type d'élevage qui est souvent difficilement disponible et plus chère.

Le deuxième impact de la résistance antibiotique est l'augmentation du risque de transmission de la maladie et des bactéries résistantes : d'une part aux autres animaux à l'intérieur de l'élevage du fait de la promiscuité des animaux et dans son environnement rapproché par les fèces, d'autre part, lors du commerce et transport des animaux comme s'y est intéressée la Commission régionale de l'OIE pour l'Europe. (2)

Enfin, l'administration d'antibiotiques perturbe la flore intestinale normale par réduction des effets barrières de la flore du tube digestif et pourrait augmenter la susceptibilité à la colonisation par des micro-organismes tels que *Salmonella*.

Pour réagir à ce problème d'antibiorésistance, les acteurs vétérinaire ont entrepris 2 actions. D'une part, l'utilisation rationnelle des antibiotiques promue<sup>3,4</sup> en application des recommandations émises à Copenhague devrait permettre de prévenir et/ou de réduire la sélection de bactéries antibiorésistantes.

D'autre part, dans le cadre de la réglementation de la pharmacie vétérinaire, la délivrance d'AMM des antibiotiques va être complétée. En effet, même si la capacité d'un antibiotique à sélectionner des bactéries résistantes fait l'objet de tests avant l'autorisation de mise sur le marché, il est très difficile de prévoir l'apparition d'un mécanisme de résistance qui peut se produire des années après l'utilisation de l'antibiotique sur le terrain.

---

<sup>3</sup> « Code de bon usage des antibiotiques en élevage » rédigé par l'ANMV

<sup>4</sup> « Usage prudent des antibiotiques : principes de base » élaboré en commun par 3 organisations mondiales représentatives des principaux acteurs de la chaîne de la santé animale (AMV, Association Mondiale Vétérinaire, FIPA/IFAP, fédération Internationale des Producteurs Agricoles et COMISA, Confédération Mondiale de l'Industrie de la Santé Animale)

C'est pourquoi, certains antibiotiques récents font l'objet d'une surveillance particulière après leur AMM et qu'un projet de Directive en cours d'élaboration prévoit l'intégration dans la pharmacovigilance du suivi post-AMM de l'antibiorésistance liée à l'utilisation d'un médicament vétérinaire. (3e)

#### II.2.4 Impact sur la production animale : le problème des additifs alimentaires

Les antibiotiques utilisés en tant qu'additifs dans l'alimentation animale pour leurs effets promoteurs de croissance représentent un véritable enjeu économique pour tous les acteurs de la santé animale (éleveurs, fabricants d'additifs, fabricants d'aliments médicamenteux). Les bénéfices de croissance indéniables consécutifs à leur utilisation ont conduit à leur large usage pour améliorer la production animale : ils participent à la santé financière des élevages en termes de coûts de production (meilleur rendement nutritionnel) et de compétitivité de la filière viande européenne sur le marché mondial.

Par ailleurs, en permettant de réduire le nombre d'animaux sur pied pour la même quantité de viande produite, ils ont un impact positif sur l'environnement (réduction de la masse d'effluents d'élevage) et sur le bien-être des animaux.

Le débat sur l'utilisation d'additifs antibiotiques promoteurs de croissance est loin d'être clos comme le prouvent les nombreuses publications sur le sujet. (6)

L'impact médical de l'utilisation des antibiotiques comme additifs alimentaires chez les animaux d'élevage a été largement abordé lors de la conférence organisée par l'OMS en octobre 1997 à Berlin. Il avait été conclu que même si les conséquences de l'utilisation des antibiotiques chez les animaux de production n'est pas claire, il existe suffisamment de preuves d'émergence de résistance suite à leur utilisation pour susciter des préoccupations et prendre des mesures de restriction de cet usage.

Le manque de clarté concernant le mécanisme d'action des additifs antibiotiques (prévention d'infections de faible portée ou promotion de croissance en induisant des modifications de la flore intestinale) a conduit à l'interdiction de certains d'entre eux au Danemark, Pays-Bas et Allemagne. En 1998, l'Union Européenne a annoncé la suspension, au nom du principe de précaution, jusqu'au 31 décembre 2000, des 4 promoteurs de croissance (2 macrolides - spiramycine et tylosine-, 1 streptogramine -virginiamycine- et un peptide -bacitracine-) jusque là autorisés, pour 2 raisons principales :

\* La tylosine et la virginiamycine ont des communautés de structure avec des antibiotiques utilisés en médecine humaine et pourraient donc sélectionner des résistances croisées avec des antibiotiques utilisés chez l'homme. Par exemple, on trouve dans les élevages des entérocoques résistants aux streptogramines et on commence à utiliser à l'hôpital la pristinamycine, un analogue de structure de la virginiamycine, pour traiter des entérocoques résistants à tout arsenal disponible.

\* La bacitracine-zinc et la spiramycine sont actuellement utilisées en médecine humaine.

Cette décision a été jugée précipitée par les producteurs d'antibiotiques et éleveurs car elle n'a pas tenu compte de certaines analyses scientifiques notamment le rapport du Comité Scientifique pour la Nutrition Animale de la Commission Européenne (SCAN). Ce groupe de travail multidisciplinaire d'experts européens de toutes compétences avait été constitué à la demande de la DG XXIV à la Commission Européenne. Il avait alors jugé que l'utilisation de virginiamycine en tant que promoteur de croissance ne constituait pas un risque pour la santé publique et qu'il n'y avait aucune preuve de l'évolution de la résistance à la tylosine.

Selon D. CORPET (7b), la décision de se passer d'additifs est un choix de société : il suffit que le consommateur soit prêt à payer sa viande un peu plus cher... (!)

Toutefois, des solutions alternatives sont à l'étude (acides organiques, enzymes, probiotiques) comme a pu me l'expliquer Monsieur Rugraff de l'Institut Technique du Porc (ITP) au Rheu (35)<sup>5</sup>.

Nos connaissances actuelles ne permettent pas d'identifier tous les facteurs qui règlent la sélection et la dissémination de la résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage. L'utilisation massive et non réfléchie des antibiotiques est cependant un facteur très important dont la maîtrise pourrait atténuer l'étendue du problème.

### ***II.3 Emission de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement***

L'existence de liens entre les différents compartiments écologiques conduit à s'intéresser aux voies d'émissions des bactéries résistantes et des gènes de résistance dans l'environnement.

---

<sup>5</sup> Pour plus d'information sur le sujet, on peut lire l'article « Le défi des solutions alternatives » paru dans La revue de l'alimentation animale, n° 525, avril 1999.

De nombreuses raisons (14a) renforcées par diverses études sur le sujet (cf. paragraphe III de cette même partie) portent à croire qu'il existe un flux continu de bactéries résistantes et de gènes de résistance entre les bactéries pathogènes et commensales et entre les différents compartiments (LINTON, 1986). Par conséquent, on peut s'attendre à ce que l'apparition de résistance dans un compartiment influence l'apparition de résistance dans les autres. Le réseau de transfert de l'antibiorésistance peut être schématisé comme suit :

**Figure 3 : Le réseau de transfert de la résistance (D'après 7b)**

La chaîne alimentaire au sens large constitue un vaste réseau de transfert de la résistance aux antibiotiques permettant aux bactéries résistantes et/ou aux déterminants génétiques de la résistance de passer d'un hôte à l'autre.

Si l'on exclue le problème lié aux résidus d'antibiotiques dans les denrées alimentaires d'origine animale (jugé mineur en raison de l'établissement de Limites Maximales de Résidus dans la réglementation des médicaments vétérinaire<sup>6</sup>), on peut distinguer trois voies de dissémination de l'antibiorésistance de l'animal à l'homme :

- la viande et produits laitiers qui peuvent véhiculer des bactéries zoonotiques résistantes (Salmonelles, Campylobacter...) ou des bactéries fécales résistantes de l'animal (*E. coli*, entérocoques) suite à des contaminations et être à l'origine d'infections alimentaires chez l'homme.
- les cultures contaminées par les eaux usées des élevages contenant des bactéries résistantes aux antibiotiques.
- le compartiment hydrique qui nous intéresse, peut, dans certains cas, être l'exutoire des effluents d'élevage.

Deux possibilités sont envisageables dans le transfert de l'antibiorésistance de l'animal à l'homme via l'eau :

\* Des bactéries résistantes du tube digestif de l'animal retrouvées dans les fèces et véhiculées dans les effluents d'élevages vers l'eau et le sol pourraient transmettre leurs déterminants de résistance aux antibiotiques aux bactéries de l'eau.

\* Les additifs antibiotiques non assimilés par la flore animale et rejetés dans les excréments animaux ou bien l'utilisation d'aliments médicamenteux en excès dans les piscicultures peuvent potentiellement créer une pression de sélection favorable à l'émergence de bactéries résistantes de l'environnement au sens large.

L'introduction de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement aquatique ou terrestre par différentes voies d'émission affecte très certainement l'écologie microbienne de ce compartiment en modifiant le pool de gènes d'origine. Finalement, à condition qu'ils soient vérifiés scientifiquement, la dissémination et le transfert des déterminants de l'antibiorésistance dans l'environnement pourraient être à l'origine d'une contamination de l'eau utilisée par l'homme et résulter en un possible transfert de résistance aux bactéries pathogènes et/ou commensales humaines.

L'utilisation non prudente d'antibiotiques chez les animaux peut constituer une menace pour la santé publique mais les risques de transfert de la résistance entre les bactéries de l'animal et/ou leurs déterminants génétiques et les bactéries de l'homme sont à ce jour inquantifiables.

---

<sup>6</sup> Se reporter au paragraphe v du mémoire d'O.REILHES p 23-25

### **III Résistance des bactéries aux antibiotiques dans l'environnement**

L'utilisation des antibiotiques, à la fois en médecine humaine et vétérinaire, exerce une pression de sélection parmi les bactéries commensales ou pathogènes de l'homme ou de l'animal qui peuvent rejoindre l'environnement naturel par exemple dans les eaux continentales, côtières ou le sol, via les effluents d'élevages ou les eaux usées provenant d'activités humaines ou animales. Cela pourrait conduire à l'émergence et à la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques dans les communautés microbiennes de l'environnement. En ce qui concerne le milieu hydrique la compréhension de l'évolution spatiale et/ou temporelle des profils d'antibiorésistance chez les bactéries aquatiques (bactéries indicatrices de contamination fécale et bactéries de l'environnement) est particulièrement intéressante étant donné l'usage qui peut être fait de l'eau par l'homme (boisson, usage alimentaire ou soins). Les pré requis à un tel événement reposent d'une part sur la capacité des organismes autochtones à acquérir des gènes de résistance d'organismes saprophytes ou pathogènes introduits dans l'environnement, d'autre part, sur leur capacité ultérieure à jouer le rôle d'intermédiaires dans la maintien, la propagation et l'évolution des gènes de résistance jusqu'à ce que l'opportunité d'un transfert se présente. (YOUNG, 1993)

#### ***III.1 Prévalence de la résistance aux antibiotiques dans l'environnement***

##### **III.1.1 Résistance naturelle**

JONES (1986 a) a observé que les bactéries d'eaux naturelles de lacs de montagne isolés d'activités humaines ou animales portaient des niveaux de résistance significatifs. L'explication qu'il a apportée à ce défaut de sensibilité des bactéries aquatiques repose sur l'existence dans la nature d'un contact permanent avec des organismes producteurs d'antibiotiques (champignons, actinomycètes) et sur l'observation que la résistance aux antibiotiques s'accroît dans un environnement pauvre en nutriments. Les résultats d'une étude récente réalisée en Australie (BOON, 1999) et visant à mesurer l'incidence de la résistance de bactéries autochtones et fécales isolées de plusieurs systèmes aquatiques (rivière, réservoirs, stations de traitement d'eaux usées) ont également mis en évidence un niveau

d'antibiorésistance plus élevé chez les bactéries isolées de sites apparemment dépourvus d'impact humain ou animal.

### III.1.2 Résistance acquise (TREVOR, 1987)

La présence de bactéries résistantes est rapportée dans les eaux continentales et côtières polluées (ATTRASSI, 1993 ; PARVEEN, 1997 ; KESSIE, 1998), dans les rejets de stations de traitement des eaux usées, dans les sédiments de piscicultures (DEPAOLA, 1995), dans les effluents d'hôpitaux (KRALIKOVA, 1984). On a longtemps pensé que *Escherichia coli* et les autres coliformes mourraient rapidement dans l'environnement aquatique limitant de ce fait leur impact en tant que réservoir hydrique de gènes de résistance. Cependant, il est bien établi maintenant que de nombreux organismes entériques dans différents systèmes aqueux ne meurent pas mais évoluent vers un état de dormance non cultivable. (YOUNG, 1993)

### III.1.3 Facteurs contribuant à l'incidence de l'antibiorésistance observée dans l'environnement

JONES et al. (1986 b) font remarquer que l'interprétation des tests de sensibilité des bactéries aux antibiotiques, particulièrement la méthode des disques, est fondée sur une connaissance détaillée d'isolats d'importance médicale et vétérinaire. Or, l'évaluation de l'incidence de l'antibiorésistance des bactéries de l'environnement pose certains problèmes particuliers : il semblerait, d'après les résultats de JONES, qu'il n'y ait pas qu'une seule méthode adaptable à tous les groupes bactériens de l'environnement rendant difficile la comparaison des différentes études sur le sujet. Par exemple, dans l'environnement naturel, on obtient souvent des isolats bactériens qui ne poussent pas sur les milieux ni aux températures utilisés en routine dans les laboratoires biomédicaux pour tester l'antibiorésistance. De manière générale, JONES indique que les facteurs influençant les profils d'antibiorésistance dans l'environnement sont la nature des espèces bactériennes, le site de prélèvement, les méthodes et milieux utilisés pour isoler et cultiver les bactéries et la méthode de réalisation du test de sensibilité. De plus, l'addition d'antibiotiques dans les milieux utilisés pour l'isolement primaire pourrait introduire un biais en augmentant le nombre de résistances simples et multiples détectées. Enfin, les résultats d'incidence de résistance des bactéries de l'environnement ainsi obtenus ne fournissent aucune information fiable sur la taille relative des pools de gènes. La plupart du temps en effet, les calculs sont basés sur le dénombrement des bactéries cultivables qui ne

représentent, d'après les résultats de Jones, que 0,25 % du total de la population bactérienne. Aussi il est probable que le pool de gènes de résistance des bactéries de l'environnement est beaucoup plus important. LEFF (1993) propose de remédier à ce problème en réalisant une numération directe des bactéries en épifluorescence par acridine orange, puis de détecter les gènes de résistance aux antibiotiques grâce à l'hybridation de sondes moléculaires spécifiques d'ADN environnemental. Bien que l'examen direct de l'ADN permette de contourner les problèmes associés à une faible cultivabilité des bactéries de l'environnement, il présente de nouvelles difficultés. En effet, la détection d'une séquence d'ADN spécifique par hybridation ne démontre pas que le gène est fonctionnel et n'indique pas le niveau de transcription du gène. De plus, des gènes de séquence nucléique très différente peuvent coder pour des protéines conférant un phénotype identique, ce qui complique ultérieurement la relation entre abondance de gènes et potentiel actif de résistance.

### ***III.2 Transfert de l'antibiorésistance dans l'environnement***

Aujourd'hui, on considère que le transfert des gènes de résistance entre bactéries se produit dans toute la biosphère et plus spécialement dans les sites riches en nutriments comme les systèmes aqueux, le sol, les sédiments.

#### **III.2.1 Transfert dans le sol (TREVOR, 1987)**

Dès 1980, une étude (citée par TREVOR) montre que la microflore du sol est un réservoir naturel d'éléments génétiques transférables codant pour la résistance aux antibiotiques. Quelques études ont mis en évidence ce transfert de gènes de résistance soit *in vitro* soit *in situ* à l'aide de microcosmes (HILL, 1998) mais la complexité du sol limite les méthodes employées pour étudier les transferts de résistance. Un obstacle supplémentaire à ces études tient au fait que les bactéries du sol sont difficilement cultivables (1-10 %) et cela ne permet pas l'estimation exacte de l'étendue de la résistance aux antibiotiques des micro-organismes du sol. (1)

#### **III.2.2 Transfert dans l'eau**

Plusieurs approches ont été tentées pour étudier le transfert de gènes dans l'environnement aquatique. La détermination de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans des eaux recevant des effluents d'eaux usées d'une part et la capacité de transfert *in vitro* des

déterminants de la résistance entre bactéries d'autre part ont été tout d'abord examinés dès les années 1970 (GOYAL, 1979). Des études in situ ont permis de mettre en évidence le transfert plasmidique de gènes de résistance dans des chambres de diffusion immergées dans des eaux naturelles (ALTHERR, 1982). Enfin, l'occurrence des plasmides R comme véhicules du transfert des gènes a été examinée dans des populations bactériennes aquatiques (TORANZO, 1984). TREVOR (1987) fait remarquer que dans la plupart de ces études, le schéma expérimental exclut les interactions avec les organismes du milieu naturel. Les résultats obtenus ne sont donc pas totalement représentatifs du transfert de gènes in situ.

### *III.2.2.1 Mécanismes de transfert*

Les trois mécanismes de transfert des gènes de résistance bactériens (cf. annexe 2) ont été étudiés individuellement in situ. Il faut noter que, dans l'environnement, la dissémination des déterminants de la résistance fait intervenir plus d'un mécanisme de transfert à l'intérieur d'une population bactérienne.

Les résultats de toutes les études présentées dans ce paragraphe sont à prendre avec précaution compte tenu des différentes méthodes et techniques employées par les chercheurs pour isoler, identifier, mesurer et interpréter le transfert de l'antibiorésistance. Les résultats sont souvent exprimés en % de résistance ce qui n'est pas interprétable directement.

- **TRANSDUCTION**

Les virus sont des membres abondants et actifs des écosystèmes microbiens. Leurs interactions avec leurs hôtes peuvent contribuer significativement à la diversité génétique et à la composition de la population microbienne. Longtemps, on a considéré que le transfert de gènes par transduction était négligeable à cause de l'effet lytique de l'infection phagique. Pourtant le transfert des gènes de résistance par transduction semble jouer un grand rôle dans l'environnement. En effet, la lysogénie semble augmenter la taille et la flexibilité des pools de gènes de résistance disponibles chez les populations bactériennes de l'environnement.

Ainsi, certains chercheurs suggèrent que, dans l'environnement, la transduction de gènes est aussi importante sinon plus que la conjugaison et la transformation. En effet, à l'inverse de l'ADN transformant, l'ADN transductant est compacté dans les capsides phagiques qui le préservent d'une dégradation enzymatique. Ainsi, les virus pourraient servir de réservoirs de gènes de résistance. En 1990, SAYE et al. ont mis en évidence dans les eaux naturelles d'un réservoir la transduction in situ de plasmides et de gènes chromosomiques liés codant pour la résistance à certains antibiotiques. La transduction s'effectue entre des souches de *Pseudomonas aeruginosa* par l'intermédiaire d'un phage spécifique des *Pseudomonas spp.*

Les facteurs influençant la transduction in vitro de plasmides dans des eaux douces naturelles de l'environnement (SAYE, 1987) sont la concentration du donneur contenant le plasmide et la présence de la communauté microbienne naturelle qui entraîne une décroissance rapide du nombre de donneurs introduits et par voie de conséquence une diminution dans le temps du nombre de transductants retrouvés.

- TRANSFORMATION

Les informations concernant le transfert de gènes de résistance par transformation dans l'environnement aquatique sont limitées.

En 1990, une étude citée par YOUNG (1993) a mis en évidence le phénomène de transformation en montrant le transfert d'ADN codant pour la résistance à la rifampicine entre bactéries marines dans des microcosmes de laboratoire contenant des sédiments stériles et non stériles. La transformation n'a pas été observée en l'absence de particules de sédiments suggérant que ces derniers facilitent le procédé de transformation et constituent donc une niche probable pour la transformation dans l'environnement marin. Des modèles in situ doivent être développés pour confirmer que ce mode de transfert se produit dans l'environnement naturel. Il convient d'une part de déterminer la prévalence et la nature de l'ADN libre dans l'environnement aquatique et d'autre part d'étudier la stabilité extracellulaire des gènes de résistance dans les eaux naturelles.

- CONJUGAISON

Ce mécanisme de transfert a été plus largement et plus précocement étudié que les 2 autres mécanismes de transfert.

a) Dans l'eau douce

Tout d'abord, une étude des capacités des bactéries aquatiques à recevoir de l'ADN plasmidique de *Pseudomonas aeruginosa* portant une triple résistance antibiotique (GENTHNER, 1988) a mis en évidence la double capacité de certains plasmides à aider le transfert de plasmides non conjugatifs portant une résistance antibiotique et de mobiliser des gènes chromosomiques de résistance, favorisant par conséquent leur dissémination ultérieure. Ensuite, MARCINEK (1998) s'est penché sur l'hypothèse que des souches de la bactérie gram positif *Enterococcus faecalis* puissent servir de réservoirs d'information génétique transmissible à d'autres streptocoques, et même d'autres genres, par des procédés de conjugaison in situ. Il a donc étudié la capacité d'*Enterococcus faecalis* à transférer divers

éléments génétiques, dont un plasmide de résistance construit en laboratoire, en plaçant différentes souches de cette bactéries dans 2 microcosmes situés au niveau de 2 stations de traitement d'eaux usées municipales. Les résultats confirment l'existence d'un transfert de résistance dans les conditions naturelles définies par l'étude et montrent que la vitesse de transfert du plasmide de résistance entre différentes souches d'*Enterococcus faecalis* est 10 fois inférieure que dans les conditions de laboratoire. De plus, aucun transfert d'*Enterococcus faecalis* à une autre espèce bactérienne n'a pu être détecté.

b) Dans l'eau de mer

Une étude récente (CHANDRASEKARAN, 1998) a examiné le transfert et l'expression in situ d'un plasmide multirésistant de *Pseudomonas fluorescens* vers des bactéries halotolérantes et halophiles marines. Les résultats indiquent que les bactéries terrestres portant des plasmides de résistance aux antibiotiques et entrant en contact avec de l'eau de mer peuvent être responsables de la prévalence des gènes de résistance dans l'environnement marin. En effet, quand *Pseudomonas fluorescens* a été incubé dans de l'eau de mer, le micro-organisme a perdu progressivement sa capacité à former des colonies en 15 jours. Un examen microscopique a confirmé que les cellules étaient devenues Viables Non Cultivables (VNC). Une fréquence de transfert de  $10^{-7}$  bactéries a pourtant été obtenue même après que les cellules donneuses soient devenues VNC, ce qui suggère qu'un tel état physiologique n'était pas un frein au transfert plasmidique. Il reste à déterminer si la capacité des cellules VNC à engager la conjugaison est réservée à un genre bactérien donné ou si c'est un phénomène largement répandu.

Une étude originale réalisée par DAHLBERG en 1998 utilise une technique basée sur la détection de la GFP (Green Fluorescent Protein) en microscopie par épifluorescence. Cette technique a permis de détecter le transfert conjugatif in situ d'un plasmide de *Pseudomonas putida* codant pour la résistance à la kanamycine et au mercure vers des bactéries marines en écartant les problèmes liés à la cultivabilité des bactéries marines (moins de 1 % dans les environnements marins). La faiblesse de cette étude réside dans la méconnaissance de la stabilité ultérieure du plasmide dans les transconjugants fluorescents. De plus, la méthode GFP est limitée à des incubations aérobies. L'avantage de cette méthode est qu'elle permet d'étudier la totalité de la communauté bactérienne et de déterminer précisément les vitesses de transfert plasmidique dans l'environnement naturel par détermination in situ du transfert des gènes marqués.

Plusieurs facteurs semblent être déterminants dans le phénomène de conjugaison. Tout d'abord, ALTHERR (1982) a observé une thermosensibilité du transfert des plasmides R dans les systèmes aquatiques. Il semble que ce mode de transfert est également affecté par des facteurs environnementaux tels que le pH et la limitation en nutriments (TREVOR, 1987).

Une récente synthèse des différentes études de transfert génétique dans les habitats aqueux utilisant des microcosmes (ASHELFORD et al., 1997) rapporte que les habitats riches en nutriments de l'environnement aquatique, comme les sédiments ou les biofilms qui se forment à l'interface solide/eau, présentent une fréquence de transfert de gènes plus importante du fait d'une densité de micro-organismes supérieure à celle de l'eau brute.

### **III.3 Persistance et évolution des déterminants de l'antibiorésistance**

Très peu de données sont disponibles sur le devenir à long terme des gènes de résistance dans l'environnement, la réversibilité de la résistance acquise (conditions, durée), les conséquences de la résistance aux antibiotiques pour l'écologie du milieu incluant les organismes supérieurs. (1)

ALTHERR (1982) avait déduit de l'échec du transfert de la résistance dans des eaux pauvres en nutriments que le maintien et l'expression d'un plasmide R n'apportait aucun avantage sélectif à l'hôte placé dans des conditions de stress nutritionnel et pourrait être en fait un fardeau pour le micro-organisme. Quant à O'MORCHOE (1988), elle avait remarqué, suite à une étude de transfert conjugatif d'un plasmide R entre des souches de *Pseudomonas aeruginosa* dans des eaux naturelles, que les processus d'évolution (mutation, réarrangement des gènes) apparaissent rapidement dans l'environnement suggérant que des facteurs augmentant l'instabilité des gènes opèrent dans l'environnement.

L'évolution permanente des connaissances sur la génétique des bactéries (en particulier les mécanismes d'échange de gènes) couplée à la complexité des écosystèmes explique la production d'études parcellaires ayant chacune leurs faiblesses dans les moyens de mettre en évidence le transfert de l'antibiorésistance dans l'environnement.

L'ensemble des résultats de ces études tendent toutefois à montrer que des cascades d'échange de gènes de résistance entre espèces et genres bactériens sont tout à fait probables dans le compartiment environnemental.

## **IV Risques pour la santé publique**

L'homme a différentes occasions d'entrer en contact avec des réservoirs hydriques de bactéries résistantes. Pour que cette exposition soit en définitive préjudiciable à l'homme il faudrait que les événements suivants soient réalisés :

a) Transmission hydrique d'un pathogène résistant d'origine humaine ou animale **ou** passage des déterminants de la résistance des bactéries non pathogènes de l'eau aux bactéries commensales humaines et passage des déterminants de la résistance des bactéries commensales humaines à des bactéries humaines pathogènes.

b) Expression de la maladie

c) Traitement de l'infection résultante avec un antibiotique vis à vis duquel la bactérie est résistante : échec thérapeutique.

Pour aborder ce sujet, il est essentiel de tenir compte des capacités immunitaires de l'homme qui conduit à avoir des personnes plus sensibles que d'autres au sein de la population exposée. Pour cela, il sera distingué 2 types d'exposition à savoir une exposition communautaire d'individus que l'on considérera en bonne santé et une exposition à l'hôpital de personnes malades et/ou fragilisées.

### **IV.1 Risques communautaires**

L'être humain peut être exposé de plusieurs manières à de l'eau contenant des bactéries résistantes d'origine fécale ou aquatique : par consommation de denrées alimentaires d'origine hydrique (coquillages, crustacés, poissons) et de façon beaucoup moins fréquente d'eau de boisson non traitée (puits privés), par la consommation de végétaux irrigués par de l'eau non traitée contaminée par des bactéries résistantes pathogènes ou saprophytes ou par l'intermédiaire des eaux récréatives, par consommation d'eau de distribution publique contenant des bactéries hydriques résistantes.

#### **IV.1.1 Eau de boisson**

Le cadre réglementaire de l'eau de distribution publique est fixé par les directives européennes, transcrites en droit français par le décret 89-3 en cours de modification. En ce qui concerne la microbiologie de l'eau, les valeurs de référence qui permettent de définir une

eau « potable » sont principalement basées sur l'absence d'indicateurs de contamination fécale (coliformes thermotolérants et streptocoques fécaux). Mais cette absence d'indicateurs de contamination fécale n'a aucune relation avec la présence éventuelle d'autres germes saprophytes, pathogènes opportunistes ou pathogènes, sans lien avec les matières fécales.

On peut ainsi retrouver en faible concentration dans l'eau conforme à la norme de potabilité, des *Pseudomonas spp.*, *Legionella spp.*, *Aeromonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, dont la présence dans le réservoir hydrique est sans danger pour des populations en bonne santé (HARDALO, 1997). On peut toutefois supposer que suite à une telle exposition, une éventuelle génération de « porteurs de gènes de résistance sains » présenterait un risque d'infection le jour où ces personnes seraient fragilisées.

Un autre point important concernant l'eau publique est le réseau de distribution (15b). En effet, ce dernier joue un rôle non négligeable dans la dégradation de la qualité microbiologique de l'eau. On y retrouve divers micro-organismes, dont des bactéries, ainsi que des nutriments (matière organique dissoute biodégradable) qui ont traversé la chaîne de traitement ou qui proviennent d'eaux d'infiltration ou d'accidents de distribution (cassures, réparations...). Les micro-organismes sont détectés, à la fois dans la phase eau mais aussi à l'interface eau/paroi des canalisations où ils forment un « biofilm ». D'un point de vue qualitatif, un très grand nombre d'espèces bactériennes comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila* ou des coliformes comme *E. coli*, ont été identifiées dans les réseaux de distribution d'eau potable. Ainsi les réseaux de distribution réunissent les conditions favorables à l'existence d'un écosystème microbien très diversifié producteur de bactéries qui peuvent arriver au robinet du consommateur si la teneur en chlore actif résiduel n'est pas suffisante dans le réseau.

L'eau des fontaines réfrigérantes constitue une autre particularité : cette eau mise à disposition des consommateurs doit répondre aux critères de potabilité mais devrait faire l'objet de contrôles sanitaires supplémentaires puisque la stagnation de l'eau favorise le développement de micro-organisme pathogènes opportunistes.

La consommation d'eau dite « du robinet » dans les pays qui contrôlent leurs process de traitement représente un risque faible pour la santé de l'homme. L'eau de boisson n'est sans doute pas la source principale de gènes de résistance.

Par contre, dans de nombreux pays du monde, l'eau est consommée sans traitement. Les auteurs d'une étude portant sur l'incidence de la résistance aux antibiotiques dans la flore

fécale aérobie en Inde (citée par YOUNG, 1993) ont postulé que les bactéries commensales intestinales multirésistantes qu'ils avaient retrouvées chez des individus sains résultaient probablement de l'ingestion d'eau contenant des bactéries résistantes qui auraient donné des gènes de résistance à des bactéries intestinales humaines pendant leur passage dans le tube digestif. En Inde, la présence de bactéries coliformes portant une résistance plasmidique aux antibiotiques est courante dans l'intestin humain (GAUR, 1992). Dans les régions tropicales où les shigelloses et les salmonelloses sont endémiques et de plus en plus fréquentes, les épidémies de souches multirésistantes apparaissent.

La présence de bactéries résistantes dans l'eau de boisson pourrait donc poser un problème de la santé publique. Aussi, il semblerait pertinent de confirmer le rôle de l'eau de boisson comme réservoir de gènes de résistance par des études plus détaillées. Il est aussi très important d'évaluer les risques de dissémination des souches résistantes afin de la réduire et de préserver le succès des traitements antibiotiques.

#### IV.1.2 Eaux de loisir

Diverses études (citées par YOUNG, 1993) ont rapporté la prévalence croissante des organismes résistants aux antibiotiques dans les eaux récréatives en Europe. Cela suggère que l'ingestion ou le contact cutanéomuqueux d'organismes résistants par l'homme durant ses activités récréatives dans l'eau de lac, rivière ou mer contaminée, pourrait fournir l'occasion de contracter des pathologies bactériennes pouvant poser des problèmes de traitement antibiotique.

#### **IV.2 Risques hydriques à l'hôpital**

A l'hôpital également, le milieu hydrique est le véhicule de nombreux germes bactériens saprophytes et accidentellement des bactéries pathogènes opportunistes ou pathogènes. Les canalisations de distribution de l'eau en particulier constituent un danger. La qualité microbiologique de l'eau distribuée peut facilement se dégrader à cause de la complexité des circuits, de la longueur des réseaux hospitaliers et des travaux éventuels de réparation dont ceux-ci peuvent faire l'objet. (JADIN, 1998). Certains germes comme *Pseudomonas* spp. et *Legionella pneumophila* profitent de conditions favorables pour se développer sur les surfaces internes des canalisations d'eau.

Il est très difficile d'évaluer un risque d'infection nosocomiale d'origine hydrique en milieu hospitalier puisque les voies de contaminations sont multiples (orale, cutanéomuqueuse, respiratoire...) et l'état immunitaire des patients très diversifié. (15c)

#### IV.2.1 Eau de boisson

Les critères de qualité de l'eau de distribution publique fixés par la réglementation conviennent pour la majorité des consommateurs hospitaliers. La seule restriction porte sur une possible non adéquation avec un usage pour boisson pour des sujets très immunodéprimés pour lesquels les critères microbiologiques actuels pourraient être insuffisants. *Pseudomonas aeruginosa* est actuellement la plus importante des bactéries à gram négatif aérobies impliquées dans les infections nosocomiales. Cette bactérie peut s'adapter à une variété d'environnement humides avec des facteurs de virulence très étendus. (MONTEIL et HARF-MONTEIL, 1997)

#### IV.2.2 Autres voies d'exposition (JADIN, 1998)

Une infection nosocomiale d'origine hydrique peut aussi apparaître :

- par voie cutanéomuqueuse par contact avec de l'eau ou des boues utilisées pour les soins (*Aeromonas spp.*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Flavobacterium spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Mycobacterium spp.*). Ainsi, l'utilisation d'eau de lavage peut être à la source de transmission de *Pseudomonas aeruginosa* chez des patients atteints de mucoviscidose ou chez les grands brûlés chez lesquels l'eau courante est utilisée pour irriguer les brûlures lors de l'admission à l'hôpital. L'utilisation d'aérosols contaminés par des bactéries à gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella spp.*, *Acinetobacter spp.*) par des patients immunodéprimés ou dont les cellules épithéliales sont fragilisées représentent aussi une source d'infection importante.
- par utilisation d'eau désionisée (qui n'élimine pas les micro-organismes tels que *Aeromonas spp.*, *Pseudomonas spp.*) comme eau sanitaire par exemple en début de chaîne d'hémodialyse
- par l'intermédiaire du matériel (appareils de monitoring sous pression...) mis en contact avec l'eau.

# **B ETUDE DES PROFILS D'ANTIBIORESISTANCE DE SOUCHES BACTERIENNES ISOLEES D'UNE RIVIERE BRETONNE**

Les activités d'élevage sont à l'origine du rejet d'eaux usées dans l'environnement en particulier via les cours d'eau, le plus souvent sans aucun traitement préalable. Or on ne connaît pas vraiment à l'heure actuelle les conséquences environnementales résultant de l'utilisation intensive des antibiotiques chez les animaux d'élevages.

## **I Présentation de l'étude**

A la demande du responsable de l'étude réalisée par le LERES dans laquelle s'intègre ce travail, la localisation géographique de la zone d'étude ne sera pas précisée. Toutefois, les éléments essentiels pour la compréhension seront fournis.

### ***1.1 Objectifs***

Les objectifs initiaux de ce travail étaient de 2 ordres :

- 1) Etudier les profils d'antibiorésistance de souches isolées d'un milieu hydrique naturel situé en zone d'élevage intensif. Cela devrait permettre de mettre en liaison la résistance bactérienne aux antibiotiques avec le site d'échantillonnage soumis aux différents rejets d'élevages ou de piscicultures et de discuter des conséquences de l'utilisation d'antibiotiques en complément de l'alimentation animale et /ou en traitement curatif dans les piscicultures.
- 2) Mettre les résultats obtenus en perspective avec les risques d'échecs de l'antibiothérapie humaine, compte tenu de la possibilité d'un transfert de l'animal à l'homme de certaines bactéries via l'eau.

### ***1.2 Le site étudié***

La rivière bretonne qui a fait l'objet de notre étude se situe dans un bassin versant de 400 km<sup>2</sup>. Son débit annuel est d'environ 2,7 m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>. Tout le long de cette rivière, il existe une forte densité animale résultant d'une activité agricole intense (bovins, porcs, volaille) mais non documentée par nos soins, d'une activité piscicole (2 élevages de truites arc-en-ciel soit environ 220 000 poissons et un élevage d'alevins). L'activité industrielle est limitée à une usine d'équarrissage et 2 zones artisanales.

Ce cours d'eau est utilisé pour l'alimentation en eau potable de 3 collectivités dont l'une dessert un hôpital.

## II Matériel et méthodes

### 1.1 Plan d'échantillonnage des prélèvements

La collecte des souches bactériennes s'inscrit dans le cadre d'un suivi annuel de la qualité de l'eau brute de la rivière étudiée (24 campagnes bimensuelles d'octobre 1998 à juillet 1999) auquel ont été rajoutées 8 campagnes de prélèvement d'eau traitée de juillet à août.

Les stations de prélèvement d'eau sont au nombre de 7 :

6 stations de prélèvements d'eau brute (stations R, A, B, C, D, E)

1 station de prélèvement d'eau traitée (station F).

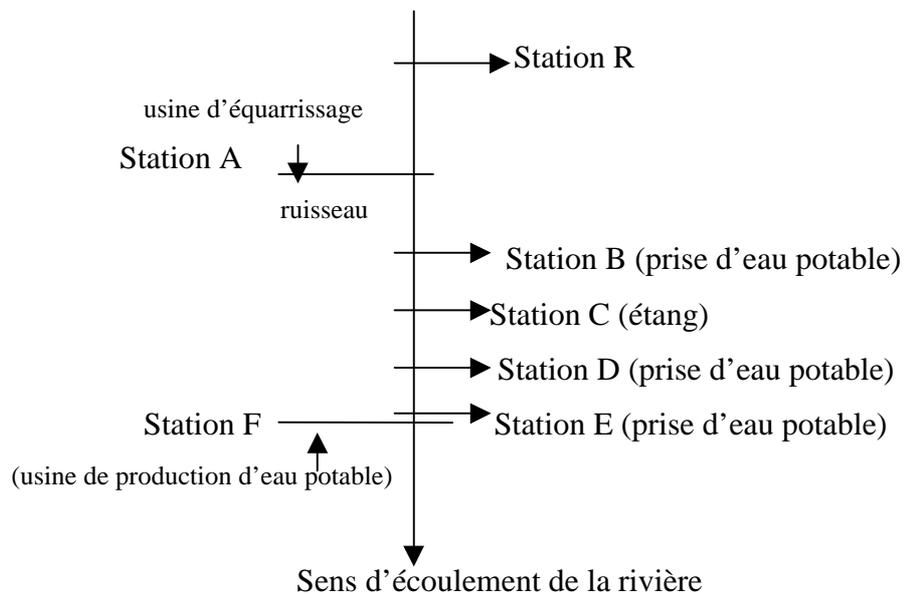


Figure 4 : Schéma de localisation des sites de prélèvement

### 11.2 Choix de 2 espèces bactériennes d'intérêt

Compte tenu du temps imparti pour la réalisation de ce mémoire, deux genres bactériens ont été retenus : *Aeromonas spp.* et entérocoques.

Les entérocoques, hôtes normaux de l'intestin des hommes et animaux à sang chaud, ont été retenus pour leur caractère d'indicateur de contamination fécale, donc des sources de pollution humaine et animale. L'antibiorésistance des souches isolées dans l'environnement

est acquise et résulte de la pression de sélection des traitements antibiotiques en médecine humaine ou par l'utilisation des additifs antibiotiques en élevage (KAUKAS, 1988). De plus, une étude réalisée par RICE en 1995 montrait que de hauts niveaux de résistance aux aminoglycosides étaient observés dans des isolats d'entérocoques provenant de divers systèmes aqueux (effluents agricoles, rivières, fleuve, eaux usées et puits). Les résultats de cette étude sont d'autant plus intéressants que l'eau de puits et de rivière utilisées dans l'échantillonnage servaient de sources pour l'eau de boisson et que l'auteur avait précédemment remarqué que les entérocoques étaient plus résistants qu'*Echerichia coli* à la désinfection par le chlore.

Les *Aeromonas spp.* mésophiles ont été choisies car ce sont des bactéries autochtones de divers milieux hydriques. Certaines souches sont des pathogènes responsables de gastro-entérites et de pathologies assez graves (septicémies, péritonites...) chez les sujets immunodéprimés.(MONTEIL, 1997)

La présence, dans les systèmes de distribution d'eau potable d'*Aeromonas* capables de se multiplier et de persister est rapportée. (KUHN, 1997) Il semble actuellement difficile de corréler la présence d'*Aeromonas* dans l'eau potable avec le développement de maladies communautaires (MOYER, 1987) mais le rôle important joué par l'eau au niveau des infections hospitalières nous a fortement motivé à choisir cette bactérie (MILLERSHIP et al., 1988 ; PICARD et al., 1987). Elle pourrait jouer un rôle dans le transfert de l'antibiorésistance de l'animal à l'homme via l'environnement puisqu'elle est à la fois présente dans l'environnement soumis aux activités agricoles et dans les réseaux d'eau potable. Cependant, une multirésistance naturelle aux antibiotiques rend délicate la détection d'une antibiorésistance nouvelle sous l'effet d'une pression de sélection.

### **II.3 Constitution du souchier d'étude**

Au cours du suivi, chaque échantillon d'eau fait l'objet d'un isolement bactérien sur milieux sélectifs (suivant des protocoles propres au LERES) suivie d'une identification des souches isolées.

Aucune des 8 campagnes de prélèvement d'eau en sortie de traitement (station F) n'a permis d'isoler des *Aeromonas spp.* dans 500 ml.

### II.3.1 *Aeromonas spp.*

Suite à l'isolement sur milieu sélectif ADA (Ampicillin Dextrin Agar) (37 °C, 24h) et au test de l'oxydase, l'identification du genre *Aeromonas* des 342 souches de la collection est faite par galerie API 20 NE (Biomérieux). 196 souches pures identifiées au genre *Aeromonas* ont été conservées à 4 °C entube de gélose en pente.

**Tableau II** : Répartition dans l'espace et dans le temps des campagnes de prélèvement des *Aeromonas spp.*

date	point						Total
	A	B	C	D	E	R	
25/08/98			24				24
12/10/98				24			24
26/10/98						15	15
09/11/98	17						17
23/11/98		22					22
07/12/98			24				24
21/12/98				22			22
04/01/99						8	8
18/01/99	4						4
01/02/99		20					20
15/02/99			20				20
01/03/99				27			27
15/03/99						21	21
29/03/99	18						18
12/04/99		9					9
26/04/99			10				10
17/05/99				9			9
31/05/99			9				9
14/06/99				17			17
28/06/99					12		12
12/07/99					10		10
Total	39	51	87	99	22	44	342

### II.3.2 Entérocoques

Les 115 entérocoques de la collection proviennent d'un premier isolement sur milieu Slanetz-Bartley à 37 °C (24h) puis d'un transfert sur milieu BEA (Bile Esculine Agar) à 44 °C (24 h). Le test de la catalase et la détection de l'une de leur enzyme, la  $\beta$ -glucosidase (microplaques entérocoques SANOFI PASTEUR) ont été rajoutés pour confirmation. Les conditions sélectives de culture des microplaques ne permettent la croissance que des entérocoques *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. durans*, *E. hirae*, *E. casseliflavus*, *E. mundtii* et *E. raffinosus*.

De la même façon que pour les *Aeromonas spp.*, les souches pures identifiées au genre *Enterococcus* ont été conservées à 4 °C entube de gélose en pente.

**Tableau III** : Répartition spatio-temporelle des campagnes de prélèvements d'entérocoques

date	point						Total
	A	B	C	D	E	R	
18/01/99	11						11
15/02/99	3		6	2	3		14
01/03/99				17			17
15/03/99				2	7		9
29/03/99	3					5	8
12/04/99		7					7
26/04/99	3		4				7
17/05/99				6			6
31/05/99			6				6
14/06/99				15			15
28/06/99					9		9
12/07/99						6	6
Total	20	7	16	42	19	11	115

### II.5 Choix des antibiotiques à tester

Un des pré requis essentiels à la réalisation de cette étude est le choix pertinent des antibiotiques à tester pour les bactéries choisies.

Au début du mémoire, L. Thébault (AFSSA Fougères) nous avait donné quelques indications pour le choix des antibiotiques à tester, nous conseillant de choisir certaines familles pertinentes (quinolones,  $\beta$ -lactamines, chloramphénicol) et des molécules utilisées en médecine humaine qui appartiennent aux 3 catégories suivantes :

- utilisées en médecine vétérinaire
- jamais utilisées en médecine vétérinaire
- récemment interdites en médecine vétérinaire

Le choix final résulte de plusieurs réflexions:

#### Démarche ①

- 1) compte tenu de la nature des espèces bactériennes constituant le soucier et de la pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisés dans l'élevage
  - 2) choisir les molécules pouvant induire des résistances chez les souches étudiées ou choisir
  - 3) les molécules auxquelles les souches étudiées sont naturellement sensibles
- retenir les molécules utilisées chez l'homme

Mais l'absence de données pertinentes sur le poids respectif de chaque antibiotique en terme d'utilisation chez les animaux d'élevage a rapidement posé problème. Aussi une deuxième démarche a été suivie :

#### Démarche ②

- 1) Les molécules communes à l'homme et à l'animal d'élevage ont été triées grâce à l'utilisation du VIDAL pour la médecine de ville, des informations collectées à la pharmacie de Pontchaillou et du dictionnaire des médicaments vétérinaires
- 2) Les molécules les plus utilisées chez l'animal pouvant induire des résistances chez l'homme pour les souches étudiées ont alors été sélectionnées.

L'inconvénient de cette démarche était d'exclure tous les phénomènes de résistances croisées.

Finalement, nous nous sommes appuyés sur l'expérience pratique du Docteur Minet, bactériologiste hospitalier au CHU Sud de Rennes. Sa connaissance des mécanismes de résistance bactériens associés à chaque antibiotique, son savoir-faire quant à la réalisation des antibiogrammes nous ont été indispensables.

16 antibiotiques ont été retenus pour le test de sensibilité du genre *Aeromonas spp.*

<b>b-lactamine</b>	
carboxypénicilline	ticarcilline (75 µg)
β-lactamine + inhibiteur de β-lactamase	Augmentin (amoxicilline 20 µg + acide clavulanique 10 µg)
céphalosporines 1 <sup>ère</sup> génération	céfalotine (30 µg)
2 <sup>ème</sup> génération	céfamandole (30 µg) et céfuroxime (30 µg)
3 <sup>ème</sup> génération	céfotaxime (30 µg), ceftazidime (30 µg), céfépime (30 µg)
Aminosides	gentamicine (15 µg)
Quinolones	acide nalidixique (30 µg)
fluoroquinolones	ciprofloxacine (5 µg), péfloxacine (5 µg)
Cyclines	tétracycline (30 UI)
Phénicolés	chloramphénicol (30 µg)
Sulfamides	sulfamides (200 µg) Bactrim (triméthoprime 1,25 µg + sulfaméthoxazole 23,75 µg).

11 antibiotiques pour les entérocoques :

β-lactamine pénicilline A	amoxicilline (25 µg)
Peptides Glycopeptide Thiazolopeptide	vancomycine (30µg) bacitracine (10 UI)
Aminosides	gentamicine (500 µg) kanamycine (1 mg)
Phénicolés	chloramphénicol (30 µg)
Cyclines	tétracycline (30 UI)
Macrolides	érythromycine (15 UI) spiramycine (100 µg)
Fluoroquinolones	ciprofloxacine (5 µg)

## **II.6 Antibiogrammes**

Tous les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés au laboratoire de bactériologie du CHU Sud de Rennes avec le Docteur Minet.

197 souches d'*Aeromonas spp.* et 115 souches entérocoques ont été examinées.

Les antibiogrammes ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur des boîtes carrées (12x12 cm) de milieu Mueller-Hinton (AES Laboratoire) avec des disques d'antibiotiques de charge standard (SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR).

Les boîtes ont été ensemencées par écouvillonnage à l'aide d'une suspension bactérienne réalisée avec une culture fraîche (moins de 24 h) de bactéries. Les disques ont ensuite été appliqués à l'aide d'un distributeur. Les boîtes ont été placées dans l'incubateur pendant 18-20 h à 28 °C pour les *Aeromonas spp.* et 37 °C pour les entérocoques avant lecture des résultats.

### **III Résultats et discussion**

#### **III.1 Facteurs limitants de l'interprétation des résultats**

Ils sont de plusieurs ordres :

- 1) La collecte des souches a été trop restreinte et pas assez anticipée pour pouvoir faire une étude statistique de fréquence de répartition des diamètres des zones d'inhibition de chaque antibiogramme et donc réaliser une étude spatiale et/ou temporelle. En effet, l'effort de collecte est plus important sur certains points et les 7 stations n'ont jamais fait l'objet de prélèvements le même jour. Le seul moyen de traiter les résultats consiste à réaliser des classes de phénotype de résistance
- 2) Nous avons uniquement réalisé l'étude des profils d'antibiorésistance des bactéries viables ce qui ne nous donne qu'une image déformée d'un phénomène environnemental qui pourrait être beaucoup plus amplifié.
- 3) Nous avons utilisé la méthode des disques pour tester la sensibilité aux antibiotiques des bactéries du souchier. Or l'interprétation des résultats est basée sur une catégorisation clinique des souches qui n'est sûrement pas tout à fait adaptée aux bactéries de l'environnement. De plus, cette technique possède certaines faiblesses (3 a). En effet, malgré sa facilité et sa rapidité d'exécution et son faible coût par rapport aux autres techniques, les résultats de la techniques des disques doivent être plutôt considérés de manière qualitative en raison de la variabilité expérimentale des diamètres. La catégorisation Sensible, Intermédiaire et Résistant est parfois difficile à apprécier.
- 4) L'identification des souches n'est pas suffisante pour conclure de manière solide à l'origine animale ou humaine de ces bactéries ou pour l'interprétation des classes de résistance apparues.

5) La localisation des élevages le long de la rivière, la nature des filières d'élevage (bovins laitiers ou viande, porc ou volailles) et la taille des cheptels n'ont absolument pas été documentées rendant très difficile l'interprétation des résultats par rapport à l'origine des pressions de sélection.

### **III.2 Etude des phénotypes de résistance**

L'interprétation des résultats n'est pas définitive dans le sens où quelques difficultés ont été rencontrées pour apprécier les résultats obtenus avec certaines familles d'antibiotiques. Aussi, nous n'aborderons que les résultats dont nous sommes certains.

#### III.2.1 Entérocoques

Ils sont naturellement résistants à bas niveau aux aminosides.(12c, DECRE, 1997)

Toutes les souches examinées sont sensibles à l'amoxicilline et à la vancomycine. La sensibilité à ce dernier antibiotique confirme l'absence de toute résistance croisée potentielle avec l'avoparcine, un additif antibiotique suspendu en 1997 par la Communauté européenne.

- 38 souches examinées (33 % du total des souches) sont sensibles à tous les antibiotiques testés.
- 52 souches (45.2 %) possèdent au moins une résistance acquise à un des antibiotiques.
- 37 souches (32 %) possèdent 1 résistance acquise (erythromycine ou ciprofloxacine ou tétracycline ou bacitracine)
- 8 souches (6.7 %) possèdent 2 résistances (ciprofloxacine + tétracycline, ciprofloxacine + erythromycine, bacitracine + tétracycline)
- 1 souche (0.8 %) possèdent une triple résistance (bacitracine + tetracycline + erythromycine)
- 4 souches (3.2 %) possèdent 4 résistances simultanées (spiramycine + erythromycine + tetracycline + Haut Niveau kanamycine, spiramycine + erythromycine + chloramphenicol + tetracycline)
- 1 souche possède 5 résistances simultanées (bacitracine + spiramycine + erythromycine + chloramphenicol + tetracycline)

Les résistances acquises identifiées par la réalisation d'antibiogrammes sont représentatives d'une pression de sélection très certainement d'origine animale puisque la zone étudiée est exclusivement agricole. La résistance acquise aux additifs (bacitracine, spiramycine) confirme l'utilisation de ces molécules dans les élevages environnants et leur passage des excréments des animaux dans la rivière via les effluents d'élevages.

La résistance à la ciprofloxacine (molécule de la famille des fluoroquinolones utilisée en nouveau traitement de pathologies animales) signifie que les traitements curatifs des animaux ne sont pas si étanches que ce qu'ils devraient être suite aux prescriptions vétérinaires.

De façon générale, la résistance aux antibiotiques des entérocoques intestinaux du milieu hydrique ne menace pas directement la santé de l'homme puisque le traitement de l'eau potable les élimine et que les infections nosocomiales à entérocoques sont le plus souvent reliées à l'administration préalable d'antibiotiques, à la transmission manuportée des germes, à la durée de l'hospitalisation. (DECRE, 1997). La résistance à l'érythromycine illustre le phénomène de résistance croisée redouté par les acteurs de la santé humaine et qui est à l'origine de la suspension des 4 additifs de la famille des MLS.

La multirésistance est plus inquiétante mais nécessite d'être expliquée par une analyse des mécanismes de résistance.

### III.2.2 *Aeromonas spp.*

Ces bactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines voire à certaines céphalosporines (TALON, 1996 ; MONTEIL, 1997). Cette résistance naturelle n'est pas bien documentée à l'heure actuelle d'où des difficultés pour définir le phénotype sauvage.

- 122 souches (62.2 %) des souches possèdent le phénotype sauvage défini comme céfalotine Résistant + ticarcilline R/I + Augmentin S/I + sensible à tout le reste des antibiotiques = classe (I).

- 27 souches (13.8 %) possèdent le phénotype sauvage + résistance à un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (Augmentin) résultant de l'expression d'une  $\beta$ -lactamase différente de celle associée à la résistance naturelle = classe (II).

Suivant le phénotype sauvage considéré on a donc 62.2 % ou 76.6 % de souches sauvages dans la collection d'*Aeromonas spp.* analysée.

- 47 souches (24%) possèdent au moins une résistance à l'un des antibiotiques testés hors phénotype sauvage défini comme (II).

si l'on considère le phénotype sauvage sans résistance à l'Augmentin (I):

11 souches (5.5 %) possèdent une résistance acquise (céfamandole, tétracycline, acide nalidixique)

4 souches (2%) possèdent 2 résistances acquises (sulfamides R + Bactrim R ; acide nalidixique R + tetracycline R ; céfuroxime R + acide nalidixique R

2 souches (1 %) possèdent 4 résistances acquises (acide nalidixique R + tetracycline R + sulfamides R + Bactrim R ; tetracycline R + chloramphenicol R + sulfamides R + Bactrim R)

si l'on considère le phénotype sauvage portant en plus une résistance à l'Augmentin (II):

6 souches (3%) possèdent une résistance acquise (céfamandole, tétracycline, acide nalidixique)

2 souches (1 %) possèdent 3 résistances acquises(chloramphénicol + sulfamides + Bactrim ; céfamandole + céfuroxime + acide nalidixique)

1 souche (0.5 %) possède 4 résistances acquises (céfamandole + céfuroxime + cefotaxime + acide nalidixique)

La résistance acquise retrouvées chez les *Aeromonas spp.* a une certaine importance par rapport aux risques d'échec des traitements thérapeutiques humains compte tenu du fait que les *Aeromonas spp.* peuvent être retrouvés dans l'eau potable ou dans certains aliments contaminés par des eaux souillées (poissons, coquillages, crustacés, crudités) et que leur pouvoir pathogène chez l'homme se traduit le plus souvent par des infections d'origine hydrique (FOSSE, 1993).

Ils pourraient jouer un grand rôle dans le transfert environnemental des gènes de résistance de l'animal à l'homme puisqu'ils peuvent passer la barrière du traitement de l'eau potable et recoloniser les réseaux.

### **III.3 Suite du travail**

Plusieurs pistes sont envisageables pour compléter le travail entrepris :

- 1) Compléter l'interprétation des résultats en intégrant l'explication des profils obtenus à l'aide des mécanismes de résistance moléculaires.
- 2) Aller plus loin dans l'identification des souches pour expliquer plus précisément les différences de sensibilité aux antibiotiques de souches collectées en une même point de prélèvement et documenter plus exhaustivement la résistance naturelle des *Aeromonas spp.*
- 3) Compléter les résultats obtenus avec les profils d'antibiorésistance des autres bactéries du souchier pour avoir une image plus représentative du phénomène de résistance : comment différents genres réagissent à la même pression de sélection.
- 4) Le premier objectif n'ayant pas été complètement atteint, il faudrait perfectionner le plan d'échantillonnage pour parvenir à une étude spatiale. Cette étude permettrait de suivre l'évolution de l'antibiorésistance en relation avec les activités d'élevage.

## **C ELEMENTS DE REFLEXION POUR LA GESTION DES RISQUES**

### **I Organisation des systèmes de surveillance de l'antibiorésistance bactérienne chez l'homme et chez l'animal**

La surveillance est essentielle pour le contrôle et la prévention des résistances bactériennes aux antibiotiques. Une des recommandations du sommet antibiotiques de Copenhague soulignait, à ce propos, la nécessité d'amplifier les réseaux de l'épidémiologie.

L'objectif de tout système de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques est de recueillir des données fiables permettant d'évaluer l'état actuel et l'évolution de la résistance des principales espèces bactériennes d'intérêt médical ou vétérinaire aux antibiotiques. La surveillance de la résistance aux antibiotiques ne nécessite une organisation des laboratoires en réseaux grâce auxquels les données sur les profils d'antibiorésistance peuvent être mis en commun pour l'analyse et l'interprétation des résultats. (SOUSSY, 1997)

Des données sur la résistance sont nécessaires au niveau local, national et international pour guider la prise de décision et le choix des actions à entreprendre pour lutter contre la résistance aux antibiotiques. Au niveau local, l'information est nécessaire pour aider les prescripteurs dans leurs décisions thérapeutiques individuelles et guider les politiques de contrôle et de prévention des infections. Au niveau national, l'information est nécessaire pour orienter les actions de santé publique, mettre à jour les recommandations nationales en terme de traitement (contribuer à définir et à réactualiser les spectres d'activité antibactérienne qui figurent dans les mentions légales de chaque antibiotique), aider à définir et à promouvoir une utilisation plus rationnelle de l'antibiothérapie, permettre de détecter, surveiller et en conséquence prévenir la diffusion des mécanismes de résistance, et évaluer les effets des stratégies d'intervention. La collecte de données de surveillance au niveau international permet de mettre en commun l'information concernant l'émergence des bactéries pathogènes, d'analyser l'impact des résistances et des politiques de contrôle de la résistance, de stimuler le dialogue entre les dirigeants politiques...(8a)

L'analyse des réseaux de surveillance de l'antibiorésistance ayant déjà été traitée, en grande partie, dans le mémoire d'O. REIHLES, j'ai choisi de compléter son travail en mettant à jour les données disponibles sur l'organisation des systèmes de surveillance de l'antibiorésistance,

à la fois chez l'animal et chez l'homme et pour les différents niveaux d'organisation présentés en introduction.

## ***1.1 Réseaux de surveillance de l'antibiorésistance chez l'animal***

### **I.1.1 Au niveau national**

#### *En France*

Dans le cadre du Salon International de l'Agriculture de Paris, en mars 1999, le Ministère de l'Agriculture et de la Pêche a organisé une Rencontre d'information sur le thème de la prévention de l'antibiorésistance chez les animaux. Cette journée a été l'occasion pour la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) de rendre publiques les actions engagées par le Ministère sur le sujet. Ces actions font suite au rapport rédigé par les professeurs Bories et Louisot en 1997 dans lequel ces derniers recommandaient « la mise en place d'un programme d'épidémiologie des résistances aux antibiotiques additifs et thérapeutiques » et de « favoriser une utilisation mieux raisonnée et limitée des antibiotiques facteurs de croissance dans les élevages ».

Des mesures engagées par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA) vont ainsi être lancées pour développer la surveillance des bactéries résistantes chez les animaux et les produits animaux. Le principe du réseau de surveillance des antibiorésistances en pathologie bovine, le RESABO (3d) animé par le laboratoire de l'AFSSA à Lyon sera progressivement étendu aux filières avicoles et porcines. Des moyens supplémentaires seront accordés au réseau *Salmonella*, animé par le laboratoire de l'AFSSA à Paris, afin qu'il affine son suivi de l'évolution de la résistance de ces bactéries aux antibiotiques.

Dans ce cadre, Madame Kobisch du laboratoire de l'AFSSA à Ploufragan (22), rencontrée au cours de ce mémoire, participe à la coordination d'un contrat d'un an avec la DGAL pour faire le point sur l'état d'antibiorésistance chez le porc. A cette fin, 7 laboratoires départementaux ont été choisis en France pour récolter tous les antibiogrammes réalisés. Cela suppose dans un premier temps de recenser les techniques utilisées, de voir si elles sont standardisées, s'il existe un contrôle qualité interne au laboratoire, quelles bactéries ont été isolées...A long terme, une base de données sera constituée et un réseau de surveillance de l'antibiorésistance chez le porc pourra être initié.

Elargissement à d'autres pays européens : Résultats de l'enquête de l'Office International des Epizooties (2)

Les résultats d'une enquête lancée par l'OIE sur le « Rôle du commerce international des animaux, des produits d'origine animale et des aliments du bétail dans la transmissibilité de l'antibiorésistance et les moyens d'en maîtriser la propagation » ont été rendus publics lors de la conférence européenne organisée par l'OIE sur le thème « Utilisation des antibiotiques chez les animaux – Moyens de protection de la santé publique » les 24-26 mars 1999 à Paris. Le but de cette enquête était d'établir une évaluation objective du nombre de programmes nationaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les élevages en Europe, de déterminer leurs caractéristiques, ainsi que les données de résistance disponibles et le degré de standardisation des méthodologies utilisées.

Les résultats montrent que l'harmonisation des programmes de surveillance est loin d'être une réalité. Seulement 16 pays sur 35 ayant répondu au questionnaire, ont établi des programmes de surveillance de la résistance dont 7 possèdent une coordination entre les programmes humain et vétérinaire.

Les réponses ont donné un bon aperçu des moyens actuellement utilisés pour le contrôle et la prévention de la dissémination des bactéries antibiorésistantes en élevage animal. Mais elles mettent aussi en évidence la quantité de travail qu'il reste à faire pour contrôler et harmoniser la situation à un niveau européen.

### 1.1.2 En Europe

Programme FEFANA

Un « plan de surveillance » de la résistance aux additifs antibiotiques des *Enterococcus faecium* dans la filière porc et poulet de chair, financé par la Fédération Européenne des Fabricants d'Adjuvants pour la Nutrition Animale (FEFANA), a démarré en janvier 1999 dans 6 états membres (Suède, Danemark, Pays-Bas, France, Espagne et Royaume Uni), pour 2 ans, sur la base de prélèvements aléatoires réalisés par les services vétérinaires. Ce « plan » vise tout spécialement à obtenir des éléments quantitatifs indispensables à l'évaluation et à la gestion des éventuels risques pour la santé publique liés à l'utilisation des additifs antibiotiques dans les élevages européens. (9)

Action concertée FAIR

P. Sanders coordonne depuis janvier 1998 une action concertée, ARBAO (Antibiotic Resistance in Bacteria from Animal Origin), réunissant 25 participants provenant de 13 pays de la Communauté Européenne. Ce projet intitulé FAIR PL 97 3654 est soutenu par la

Commission européenne (DG XII) pour une durée de 3 ans. Cette action s'inscrit dans la politique de protection des consommateurs engagée au niveau européen. Elle vise à répondre aux attentes des consommateurs en terme de qualité et d'innocuité des produits animaux (absence de bactéries pathogènes, de résidus d'antibiotiques ou de tout autre risque).

Les objectifs de cette action concertée sont les suivants :

- a) Mettre au point un réseau scientifique européen sur la résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale (*Salmonella*, *E. coli*, *Campylobacter*, *Enterococcus* ...) en élargissant les germes cibles des bactéries pathogènes aux bactéries naturellement présentes chez l'animal sain ou les bactéries retrouvées dans les produits animaux.
- b) Surveiller les résistances aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale et produire des recommandations, basées sur des résultats scientifiques, pour améliorer la sécurité alimentaire.
- c) Harmoniser les méthodes d'études de l'antibiorésistance. En effet, les pays nordiques travaillent déjà avec les CMI, beaucoup plus fiables et comparables que la réalisation d'antibiogrammes. Pour cela il est envisagé de s'aligner sur le système américain « National Comitee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) qui a établi des protocoles standardisés pour les tests de sensibilité aux antibiotiques incorporant des souches de référence qui servent au contrôle de qualité.
- d) Mettre en place des programmes européens de recherche sur les conditions d'apparition de la résistance, ainsi que sur le risque pour la santé publique lié à l'utilisation des antibiotiques chez l'animal (étude du transfert de l'animal à l'homme). A terme, ils seront destinés à améliorer l'utilisation des antibiotiques aux les bénéfices de la communauté.

Cette action concertée contribuera à la maîtrise de l'antibiorésistance par l'émission de recommandations techniques pour des études épidémiologiques d'antibiorésistance (méthodes, indicateurs du taux de résistance aux antibiotiques par espèce) et par l'organisation de discussions sur différentes approches envisageables pour l'évaluation des risques de la sélection/dissémination de la résistance aux antibiotiques pendant/après leur utilisation. De plus, un échange des informations sur la résistance aux antibiotiques est attendu entre les réseaux nationaux et les groupes scientifiques spécialisés sur le sujet.

## ***1.2 Réseaux de surveillance de l'antibiorésistance chez l'homme***

### **1.2.1 En France**

#### ***A l'hôpital***

La surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) en particulier *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) et *Klebsiella pneumoniae* productrice de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) est jugé prioritaire par l'ensemble des autorités sanitaires. (MARTY, 1998)

Les réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques sont développés par les C-CLIN (Centre interrégional de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales) qui collectent les données des laboratoires de bactériologie hospitaliers.

La surveillance systématique de la résistance a plusieurs objectifs (5) :

- 1) Aider à guider les choix thérapeutiques individuels.
- 2) Aider à définir les protocoles d'antibiothérapie de première intention (traitements dits probabilistes).
- 3) Guider et étayer les enquêtes menées lors de cas groupés d'infections.
- 4) Aider à distinguer les souches bactériennes responsables d'infections nosocomiales de celles qui sont responsables d'infections acquises dans la collectivité.
- 5) Identifier les bactéries multirésistantes.
- 6) Détecter l'émergence de nouveaux caractères de résistance chez des bactéries responsables d'infections nosocomiales.

Dans les faits, il est très difficile de dresser un bilan de l'état d'antibiorésistance des bactéries hospitalières du fait du manque de données spécifiques fournies par une surveillance épidémiologique régulière de la résistance des bactéries aux antibiotiques. Les bilans existants sont basés sur des observations dans les hôpitaux, des résultats d'études ponctuelles ou provenant des Centres Nationaux de Référence.

Le Comité Technique national des infections nosocomiales (CTIN) vient de rendre public les nouvelles « 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales » qui comprend 2 chapitres et 10 recommandations relatives à la surveillance des BMR. (10)

Un projet international INSPEAR (International Surveillance Program for Emerging Antimicrobial Resistance) vient d'être initié en lien avec le CDC d'Atlanta mais par manque de temps aucune information détaillée n'a été obtenue.

Les principaux points faibles du système de surveillance hospitalier, qui apparaissent lors de son analyse, semblent résider d'une part dans la non généralisation de la standardisation des techniques de mesure de l'antibiorésistance ou des méthodes d'interprétation (ce qui ne permet pas toujours de pouvoir comparer les résultats entre les différents laboratoires). D'autre part, selon Monsieur Minet, bactériologiste au CHU sud de Rennes, la gestion informatique des données serait très hétérogène entre les différents laboratoires français.

#### En ville

La mise en place d'un système de surveillance de la résistance est nettement moins avancée au sein des laboratoires d'analyses médicales de ville qu'à l'hôpital. A l'exception de quelques réseaux qui ne regroupent qu'un faible pourcentage des quelques 3500 laboratoires d'analyses privés en France, le recueil épidémiologiques des résultats n'est pas organisé. Pourtant, pour certaines bactéries, les résistances peuvent être très importantes : les principales inquiétudes concernent actuellement les otites et les septicémies causées par *Streptococcus pneumoniae*, les infections urinaires (*Escherichia coli*), les intoxications alimentaires collectives liées à *Salmonella enteritica* serotype *typhimurium* ainsi que la tuberculose (*Mycobacterium tuberculosis*). (7a)

Une conversation téléphonique avec Madame Aubry-Damon, qui travaille à l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), m'a permis d'approcher le rôle de l'InVS dans la mise en place d'un réseau de surveillance de l'antibiorésistance en ville. Depuis fin 1998, Madame Aubry-Damon travaille au projet de création d'un réseau national sentinelle de biologistes. Ce dernier se révèle nécessaire pour connaître les données de base pour suivre la tendance générale des principales infections communautaires (nature des bactéries responsables, sensibilité aux antibiotiques. Le choix des germes à surveiller en continu n'est pas encore arrêté mais il devrait comprendre 6 agents pathogènes

#### 1.2.2 En Europe (8b)

Tous les pays européens sont concernés par l'émergence de la résistance aux antibiotiques mais leurs moyens d'appréhender ce problème sont variables. En effet, des différences existent au niveau des antibiotiques testés, des procédures d'échantillonnage, des systèmes de tests de sensibilité utilisés et les limites adoptées.

Afin d'obtenir des données comparables et fiables, la Direction Générale V (DG V) de la Commission Européenne finance actuellement un système de surveillance européen EARSS (European Antimicrobial Surveillance System). Ce dernier, auquel l'ensemble des Etats membres, l'Islande, la Norvège et la Suisse participent, est coordonné par l'Institut National

de Santé Publique et de l'Environnement des Pays-Bas (RIVM). Plus de 400 laboratoires ont exprimé leur volonté de participer à ce réseau européen des maladies transmissibles.

EARSS est un réseau international de réseaux nationaux. Son *objectif* est de rassembler des données comparables et fiables sur la résistance antibiotiques au profit de la Santé publique en Europe. En tenant compte des méthodes de laboratoire et des principes épidémiologiques, EARSS explorera , au cours d'une étude de 18 mois, la faisabilité d'analyser les différences régionales, d'évaluer les facteurs de risques qui expliquent en partie ces différences, de faciliter de nouvelles recommandations pour l'utilisation des antibiotiques

et d'assurer, par voie électronique, un retour d'information. Les microbiologistes et épidémiologistes des pays participants collecteront des données quantitatives sur la sensibilité à la pénicilline et aux céphalosporines des *Streptococcus pneumoniae* d'infections communautaires, isolés du sang ou du liquide céphalo-rachidien, ainsi que les données sur la résistance à la méthicilline des *Staphylococcus aureus* isolés du sang.

Les méthodes de standardisation et de contrôle de qualité microbiologique ont été mises au point avec le concours de l'European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). EARSS fait partie du «réseau des réseaux» mis en place par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour la surveillance internationale.

### 1.2.3 Perspective internationale d'un système de surveillance de la résistance antibiotiques (8a)

L'OMS possède un mandat particulier sur le problème de l'antibiorésistance bactérienne. Dans le cadre de son programme de maîtrise de la résistance aux antibiotiques, sa division «surveillance et contrôle des maladies émergentes et transmissibles» travaille à plusieurs missions :

- 1) Réussir à établir un consensus international pour standardiser la surveillance de la résistance aux antibiotiques ( pathogènes prioritaires, méthodes de surveillance, données minimales, échange et partage des données, analyse et interprétation des données..). Cela fournira une vision claire des standards qui devraient être adoptés pour assurer une surveillance minimale et créera un environnement propice à l'échange des expériences internationales.
- 2) Renforcer les systèmes de surveillance nationaux dont dépend la qualité de la surveillance internationale de l'antibiorésistance .

- 3) Créer une base d'informations internationales sur la résistance de pathogènes clefs qui pourrait servir à orienter les prescriptions des médecins lors de traitements empiriques d'infections importées. Elle pourrait aussi fournir un mécanisme officiel d'alerte lorsque de nouveaux phénotypes de résistance sont identifiés.

L'OMS, pour soutenir son objectif de surveillance globale de la résistance aux antibiotiques, a développé un système informatique, le WHONET, qui permet à tous les laboratoires qui le désirent de traiter leurs données de résistance de manière harmonisée. (14b)

### ***1.3 L'ONERBA : réseau global de surveillance de l'antibiorésistance en France***

L'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux antibiotiques (ONERBA), créé en 1997, (SOUSSY, 1997) est la structure française qui coordonne la surveillance de la résistance chez l'homme et l'animal. Il fédère actuellement 11 réseaux, incluant des réseaux hospitaliers mais aussi 2 réseaux de ville et un réseau vétérinaire.

Les **missions** de l'ONERBA sont les suivantes :

- 1) Regrouper les informations disponibles en harmonisant les méthodes de collecte, les analyser et les comparer à celles obtenues à l'étranger.
- 2) Agir en conseiller pour améliorer les conditions de recueil.
- 3) Susciter des études destinées à recueillir des informations non disponibles.
- 4) Fournir, à leur demande, les informations aux différents partenaires concernés.
- 5) Participer à toute action de formation, notamment par le biais de présentations et de publications.
- 6) Promouvoir des activités de recherche sur ce sujet.

Les **participants** à ce système de surveillance sont les laboratoires d'analyses et les Centres Nationaux de Référence (CNR) étroitement associés en tant qu'experts des espèces bactériennes dont ils sont les référents.

Les données collectées par l'ONERBA sont transmises à l'InVS qui a pour mission de coordonner les différents systèmes de surveillance, de les évaluer et de participer aux réseaux européens et internationaux de surveillance de l'antibiorésistance bactérienne. Les résultats seront diffusés sous forme de rapports annuels destinés aux laboratoires participants ainsi qu'aux autorités sanitaires, aux sociétés savantes et aux professionnels de la santé. Ils seront aussi diffusés dans les revues spécialisées, le bulletin de la SFM, le BEH...

## **1.4 Discussion**

Les réseaux de surveillance actuels reposent sur de l'épidémiologie alors que les bactéries saprophytes résistantes jouent probablement un rôle majeur dans la transmission de l'antibiorésistance. Cet aspect du problème a été pris en considération par certains nouveaux réseaux (FAIR).

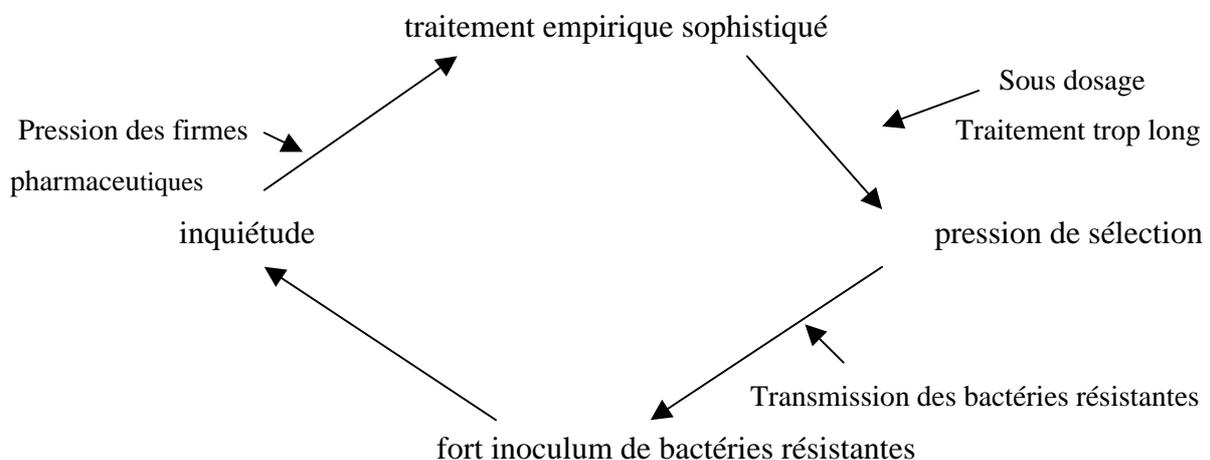
A l'exception de l'hôpital, le lien entre la consommation d'antibiotiques et le développement de résistances bactériennes n'est pas clairement établi ce qui empêche toute évaluation de l'impact d'actions de prévention mises en place pour réduire l'émergence et la dissémination des bactéries résistantes aux antibiotiques.

De plus, les méthodes de mesure de l'antibiorésistance et l'interprétation des résultats ne sont pas toujours harmonisées au sein de chaque réseau rendant difficile toute comparaison des données de la résistance.

Par ailleurs, du fait des intérêts propres à chaque réseau de surveillance en France, l'information collectée est dispersée et incomplète :

A l'hôpital, la priorité est donnée au soin des malades et donc à la résolution immédiate d'échecs thérapeutiques résultant de l'apparition d'une résistance bactérienne. Il est donc souvent difficile de collecter une information de manière régulière et de la faire remonter à l'échelon national.

En ville, le système de surveillance est embryonnaire du fait de la lourdeur de mise en place de réseaux basés sur le volontariat des médecins. Les pratiques de prescriptions reposent essentiellement sur des traitements empiriques faisant appel aux dernières molécules antibiotiques mises sur le marché par les industries pharmaceutiques, d'où le cercle infernal de la résistance : (d'après MARTY, JARLIER, 1998)



Un autre trait spécifique de la médecine de ville est lié aux problèmes de compliance des patients qui ne respectent pas les prescriptions ce qui favorise l'émergence de bactéries résistantes.

En élevage, toutes les filières de production ne sont pas encore surveillées (troupeau aviaire, élevage porcin, aquaculture) et les problèmes liés aux additifs nécessitent l'accumulation de données de résistance prospectives chez les bactéries intestinales de l'animal (programme FEFANA) afin de comparer les effets pré et post suspension du 1<sup>er</sup> juillet 1999..

Au niveau international, la diversité des particularités nationales, des objectifs et méthodologies entraîne une impossibilité de comparer les résultats des différents programmes de surveillance.

## **II. Opportunité d'un système de surveillance environnemental**

En analysant les réseaux de surveillance de l'antibiorésistance existants, on se rend bien compte que le compartiment environnemental n'est pas pris en compte.

De plus, les données scientifiques sur la résistance des bactéries de l'environnement résultant d'activités humaines ou agricoles sont peu nombreuses.

L'environnement et plus particulièrement l'eau est pourtant un maillon du réseau de transfert de l'antibiorésistance. La présence de bactéries saprophytes ou pathogènes pouvant transférer leurs gènes de résistance aux antibiotiques à des micro-organisme pathogènes pour l'homme est une menace pour la santé publique.

Dès 1990, des scientifiques ont réfléchi à la mise en place de nouveaux critères microbiologiques de la qualité de l'eau intégrant les profils d'antibiorésistance de bactéries multirésistantes (*E. coli*) isolées de milieux hydriques soumis à des rejets d'élevages ou eaux usées humaines. Ces critères permettent essentiellement d'identifier les sources de contamination fécale mais ils ne sont pas tout à fait au point (EL-ZANFALY, 1991).

L'intérêt de la mise en place d'un réseau de surveillance environnemental réside principalement dans le suivi des phénotypes de résistance de bactéries aquatiques comme *Pseudomonas spp.* présentes dans les eaux récréatives et naturelles et pouvant être retrouvées dans l'eau traitée et dans les réseaux de distribution d'eau publique. Leur présence dans le milieu hydrique pourrait poser des problèmes de santé publique si in fine leurs gènes de

résistance étaient transférés à une bactérie pathogène pour l'homme. Un suivi de qualité des cours d'eau étant déjà opérationnel, de nouveaux paramètres seraient rajoutés aux mesures classiques.

Toutefois certaines limites existent (essentiellement du fait de la technique de l'antibiogramme) :

- 1) coût assez important de la réalisation d'antibiogramme et de l'identification des bactéries
- 2) limites de l'interprétation des résultats (les critères d'interprétation cliniques ne sont pas forcément adaptés aux bactéries de l'environnement ; seules les bactéries viables sont examinées)
- 3) les risques de transfert des gènes de résistance depuis l'environnement naturel jusqu'au robinet du consommateur sont actuellement inquantifiables compte tenu de du chemin parcouru par l'eau (traitement, réseau de distribution) et de la complexité des voies d'exposition de l'homme suivant l'usage qui est fait de l'eau

Il semble plus urgent de suivre en priorité la consommation des antibiotiques en médecine humaine et animale, de définir des stratégies rationnelles de l'utilisation des antibiotiques et de mettre en place des mesures de prévention de transmission de l'antibiorésistance pour maîtriser l'émergence et la diffusion des bactéries résistantes. Les données fournies par les réseaux de surveillance existants ou à venir permettront de cerner le lien entre consommation d'antibiotiques et développement de résistance bactérienne et d'engager des actions pour améliorer le choix des prescriptions et utiliser au mieux les antibiotiques existants.

## CONCLUSION

La réalisation de ce mémoire a permis de souligner l'intérêt qui devrait être porté au compartiment hydrique en terme de transmission d'antibiorésistance.

Même si l'interprétation des résultats obtenus au cours de l'étude de terrain n'est pas suffisamment poussée pour conclure à l'origine précise des résistances acquises mises en évidence, l'identification de phénotypes de multirésistance aux antibiotiques chez des bactéries isolées d'une rivière servant à la prise d'eau potable est particulièrement préoccupante. Les 2 genres bactériens choisis ont permis d'une part de lier les profils d'antibiorésistance à certains sites d'échantillonnage soumis à une contamination fécale très probablement d'origine animale (*Enterococcus spp.*) et d'autre part d'approcher les risques pour la santé publique qui résulteraient d'une transmission de cette résistance à des pathogènes humains (*Aeromonas spp.*). L'objectif initial de réalisation d'une étude spatiale de l'antibiorésistance n'a pu être mené principalement à cause de la composition du souchier étudié. Quoiqu'incomplète à cause du temps imparti, cette étude a cependant permis d'identifier plusieurs facteurs limitant cette interprétation dont l'on pourra tenir compte pour la suite du travail.

En termes de gestion du risque, l'analyse des réseaux de surveillance existants et à venir a permis de rendre compte du travail colossal qui serait à accomplir pour avoir une image globale du phénomène de circulation et de diffusion de l'antibiorésistance. Avant de mettre en place un système de surveillance global prenant en compte toutes les voies de transmission possibles de la résistance, le bon sens recommande d'agir à la source du problème : l'utilisation des antibiotiques. La lutte contre la résistance microbienne nécessite une réduction et une utilisation rationnelle des antibiotiques tant en médecine humaine que vétérinaire ce qui suppose une surveillance des ventes et consommations d'antibiotiques. L'information des professionnels de la santé, des éleveurs, des producteurs de denrées alimentaires, des industriels et consommateurs est nécessaire afin de les rendre conscients du d'un problème où chacun est acteur à son niveau, et pour encourager tous les moyens de prévention de transmission de la résistance.

## ANNEXE 1 :

### Modes d'action des principales familles d'antibiotiques

MODES D'ACTION	ANTIBIOTIQUES
Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	$\beta$ -lactamines pénicilline G pénicillines A pénicillines M carboxypénicillines uréidopénicillines Glycopeptides (vancomycine, avoparcine) Bacitracine
Altération des membranes	Polymyxines
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Quinolones
Inhibition de la synthèse protéique	Aminosides Tétracyclines Phénicolés Macrolides-Lincosamides-Streptogramines
Inhibition du métabolisme de l'acide folique	Sulfamides Trimethoprim

## **ANNEXE 2 :**

Mécanismes permettant le transfert de gènes entre bactéries (d'après 7c)

### ANNEXE 3

#### Principaux germes bactériens responsables d'infections hydriques chez l'homme (D'après 15a)

Pathologie		Agent responsable	Origine la plus fréquente
Digestive	Fièvre typhoïde	<i>Salmonella typhi</i>	Coquillages, eau de boisson eau de boisson
	Gastro-entérites	<i>E. coli</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	eau de boisson aliments crus baignades
	Choléra	<i>Aeromonas spp.</i> <i>Vibrio cholerae</i>	eau de boisson, aliments souillés, coquillages
Infection générale	Leptospirose	<u>Leptospire</u>	Tout contact avec l'eau
Respiratoire-ORL	Legionellose	<u>Legionella spp</u>	aérosols
Cutanéomuqueuse	Candidose	<i>Candida albicans</i>	Baignades
	Suppuration	<i>Staphylococcus</i> <i>Pseudomonas</i>	
	autre	<i>Aeromonas spp.</i>	

## **BIBLIOGRAPHIE**

ATTRASSI B., 1993, Multirésistance bactérienne aux antibiotiques en milieu marin (côte atlantique, Maroc), *Environmental Technology*, vol. 14, 1179-1186

ALTHERR, 1982, In situ studies with membrane diffusion chambers of antibiotic resistance transfer in *E. coli*, *Applied Environmental Microbiology*, vol. 44, n°4, 838-843

ASHELFORD, 1997, Using microcosms to study gene transfer in aquatic habitats, *FEMS Microbiology Ecology*, 23, 81-94

BOON P. I. et al., 1999, Antibioresistance of native and faecal bacteria isolated from rivers, reservoirs and sewage treatment facilities in Victoria, South Eastern Australia, *Letters in Applied Microbiology*, 28, 164-168

CAMBAU E., 1996, Antibiotiques, *La Revue Du Praticien*, n° 46, p 2343-2350

CHANDRASEKARAN S. et al., 1998, Transfer and expression of a multiple antibiotic resistance R plasmid in marine bacteria, *Current Microbiology*, vol. 37, 347-351

COURVALIN P., 1994, Transfer of antibiotic resistance genes between gram positive and gram negative bacteria, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 38, n°7, p 1447-1451

DAHLBERG, 1998, In situ detection of high levels of horizontal plasmid transfer in marine bacterial communities, *Applied Environmental Microbiology*, vol.64, n°7, 2670-2675

DECRE D., COURVALIN P., 1997, Entérocoques, *GRAM*, n°2, 19-24

DEPAOLA, 1995, Effect of oxytetracycline-medicated feed on antibiotic resistance of gram negative bacteria in catfish ponds, *Applied and Environmental Microbiology*, 61, n°6, 2335-2340

DUNLOP R. H. et al., 1998, Prevalence of resistance to 7 antimicrobials among fecal *E. coli* of swine on 34 farrow-to-finish farms in Ontario, Canada, *Preventive Veterinary Medicine*, 34, 265-282

- EL ZANFALY, 1991, The need for new microbiological water quality criteria, *Water Science Technology*, 24, n° 2, 43-48
- FOSSE, 1993, Infections à *Aeromonas spp.* : épidémiologie et pathogénicité, *Méd. Mal. Infec.*, 23, 475-480
- GAUR, 1992, transferable antibiotic resistance among thermotolerant coliforms from rural drinking water in India, *Epidemiology Infectiology*, 109, 113-120
- GENTHNER F. J. et al., 1988, Capacity of aquatic bacteria to act as recipient of plasmid DNA, *Applied Environmental Microbiology*, vol.54 (1), 115-125
- GOYAL S. et al., 1979, Transferable drug resistance in bacteria of coastal canal water and sediment, *WaterResearch*, vol. 13, 349-356
- GUILLOT J. F., 1990, Bases moléculaires et épidémiologiques de l'antibiorésistance bactérienne, *Annales de Recherche Vétérinaire*, n° 21, 1-11
- HARDALO C. et EDBERG S. C., 1997, *Pseudomonas aeruginosa* : assessment of risk from drinking water, *Critical Reviews in Microbiology*, 23(1), 47-75
- HILL, 1998, Gene transfer in soil systems using microcosms, *FEMS Microbiology Ecology*, 25, 319-329
- INSERM, 1999, Les peptides antimicrobiens : les agents anti-infectieux du futur ?, Atelier de formation n° 110
- JADIN J.-M. et LAFONTAINE A., 1998, De l'importance de la prévention des maladies nosocomiales principalement d'origine hydrique en hygiène hospitalière, *Journal Européen d'Hydrologie*, vol.28 (3), 271-282
- JONES J. G. (a), 1986, Antibiotic resistant bacteria in Windermere and two remote upland tarns in the english lake district, *Journal of Applied Bacteriology*, vol. 60, p 443-453
- JONES J. G. (b), 1986, Factors affecting the measurement of antibiotic resistance in bacteria isolated from lake water, *Journal of Applied Bacteriology*, vol.60, p 455-462

KAUKAS A., 1988, The effect of growth-promoting antibiotics on the faecal enterococci of healthy young chickens, *Journal of Applied Bacteriology*, 64, 57-64

KESSIE, 1998, Plasmid profile and antibioresistance in coagulase-negative staphylococci isolated from polluted water, *Journal of Applied Microbiology*, 84, 417-422

KRALIKOVA, 1984, Transferable resistance to gentamicine and other antibiotics in Enterobacteriaceae isolates from municipal wastewater, *Journal of Hygiene Epidemiology*, 2, 161-166

KUHN I. et al., 1997, Diversity, persistence and virulence of *Aeromonas* strains isolated from drinking water distribution systems in Sweden, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 63, n°7, 2708-2715

LEFF, 1993, Detection of TN-5 like sequences in kanamycine-resistant stream bacteria and environmental DNA, *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 417-421

LINTON A.H., 1986, Flow of resistance genes in the environment and from animal to man, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 18, 189-197

MARCINEK H. et al., 1998, *Enterococcus faecalis* gene transfer under natural conditions in municipal sewage water treatment plants, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, n° 2, 626-632

MARTY et JARLIER, 1998, Surveillance des bactéries multirésistantes, *Pathologie biologique*, 46, n°4, 217-226

MILLERSHIP et al., 1988, Epidemiology of *Aeromonas* species in a hospital, *Journal of hospital infectiology*, 11, 169-175

MONTEIL H., 1997, Infections à *Aeromonas*, *La presse médicale*, 26, n°37, 1790-1798

MONTEIL H., C. Harf-Monteil, 1997, Aerobic gram- negative bacilli : newer nosocomials pathogens, *International Journal of Antimicrobial Agents*, 8, 217-231

MOYER, 1987, Clinical significance of *Aeromonas* species isolated from patients with diarrhea, *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 25, n°11, 2044-2048

- O'MORCHOE S B et al., 1988, Conjugal transfer of R68-45 and FP5 between *Pseudomonas aeruginosa* strains in a fresh water environment, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 54, n°8, p 1923-1929
- PARVEEN S. et al., 1997, Association of multiple antibiotic resistance profiles with point and non-point sources of *E. coli* in Apachicola bay, *Applied and Environmental Microbiology*, vol.63, n°7, p 2607-2612
- PICARD et GOULLET, 1987, Seasonal prevalence of nosocomial *Aeromonas hydrophila* infection related to aeromonas in hospital water, *Journal Of hospital Infectiology*, 10, 152-155
- REILHES O., 1998, Analyses des risques sanitaires liés à l'utilisation massive d'antibiotiques dans les élevages intensifs, *Mémoire de fin d'études*, formation des ingénieurs du génie sanitaire
- RICE E. W. et al., 1995, Occurrence of high-level aminoglycoside resistance in environmental isolates of Enterococci, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 61, n° 1, 374-376
- SAYE D. J. 1987, Potential for transduction of plasmids in a natural water environment : effect on plasmid donor or concentration and on natural microbial community on transduction in *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 53, n° 5, 987-995
- SAYE, 1990, Transduction of linked chromosomal genes between *Pseudomonas aeruginosa* strains during incubation in situ in a fresh water habitat, *Applied and Environmental Microbiology*, 56, n°1, 140-145
- SOUSSY C. J., 1997, ONERBA, *Les nouvelles de la Lettre de l'Infectiologie*, 12, 9
- TALON D. et al., 1996, Pulsed-field gel electrophoresis as an epidemiological tool for clonal identification of *Aeromonas hydrophila*, *Journal of Applied Bacteriology*, 80, 277-282
- TAYLORD J, 1999, Antimicrobial use in animals and its consequences for human health, *Clinical Microbiology Infectiology*, 5, p 119-124
- TORANZO, 1984, Plasmid coding for transferable drug resistance in bacteria isolated from cultured rainbow trout, *Applied and Environmental Microbiology*, 48, n°4, 827-877
- TREMOLIERES F., 1998, Apprécier la sensibilité d'un germe aux antibiotiques, *Médecine interne*, 120, 3, 158-164

TREVORS J. T. et al., 1987, Gene transfer among bacteria in soil and aquatic environment, , *Canadian Journal of Microbiology*, vol. 33, p 191-198

YOUNG, 1993, Antimicrobial resistance spread in aquatic environments, *Journal Of antimicrobial Chemotherapy*, 31, 627-635

WEGENER H C et al., 1999, Use of antimicrobiel growth promoters in food animals and Enterococcus faecium resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe, *Emerging Infectious Diseases*, vol 5 n° 3

WHO MEETING, 2-5 june 1998, use of quinolones in food animals and potential impact

## Documents de travail

(1) Opinion du Comité Scientifique Directeur sur la résistance antimicrobienne  
Commission Européenne- DG XXIV- 28 Mai 1999 (version originale en anglais)

(2) Rapport de la Conférence Scientifique Européenne de l'OIE : The use of antibiotics in animals, ensuring the protection of public health, 24-26 mars 1999

BOISSEAU J. ROSTEL B., The role of international trade in animals, animals products and feed in the spread of infectious agent resistance factors, 179-197

(3) Antibiothérapie et antibiorésistance, Journées nationales GTV-INRA, Nantes, 26-27-28 mai 1999

(3)a GUERIN-FAUBLEE V. et CARRET G., L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêts et limites, 5-12

(3)b SANDERS, Situation européenne de l'utilisation des antibiotiques en élevage, 127-131

(3)c CHASLUS DANCLA, Mécanismes de résistance aux antibiotiques, 133-137

(3)d MARTEL, Importance de la résistance aux antibiotiques en pathologie animale et moyens de surveillance, 139-143

(3) e MOULIN, Prise en compte des phénomènes d'antibiorésistance dans l'AMM, 145-147

(4) Plan national d'action pour la maîtrise et la prévention de l'antibiorésistance, RNSP, janvier 1999

(5) C. CLIN -OUEST, 1999, Surveillance des bactéries multirésistantes

(6) HAN FOUNDATION, 1999, Emergence of a debate : AGP's and Public Health

- (7) *LA RECHERCHE*, n° 314 Novembre 98 DOSSIER ANTIBIOTIQUES
- (7)a AUBRY-DAMON, La surveillance s'organise, 54-55
  - (7)b CORPET, Viande : après les hormones, les antibiotiques ?, 59-61
  - (7)c TRIEU CUOT, Visite guidée au cœur de l'arsenal bactérien, 62-67
  - (7)d PERROT V., Une évolution sans doute irréversible, 68-69
- (8) *British Medical Journal*, 1998, n° 7159
- (8)a WILLIAMS J. and RYAN M. J., 1998, surveillance of antimicrobial resistance : an international perspective, 651
  - (8)b BRONZWAER S., 1998, A surveillance system for Europe, 615
- (9) Notre Alimentation, n° 17, 1998
- (10) CTIN, « 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales », 1999
- (11) SIMV, 1999, plaquette d'information sur les médicaments antibiotiques utilisés chez les animaux
- (12) *Médecine Thérapeutique*, vol.3 (hors série), 1997
- (12)a BRYSKIER A., Historique, classifications et perspectives de développement des antibiotiques et des agents antibactériens, 7-18
  - (12)b COURVALIN P. Stratégies évolutives des résistances aux antibiotiques, 19-23
  - (12)c JARLIER V., Mécanismes de résistance aux antibiotiques, 46-58
- (13) *Bulletin de la Société française de Microbiologie*, Vol.12, n° 2, 1997
- (13)a DECRE D., COURVALIN P., De l'intérêt d'antibiotiques nouveaux, 160-164
  - (13)b CHASLUS-DANCLA, MARTEL, Résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage, 152-159
- (14) *Clinical Infectious Diseases*, 24 (1), 1997, Monitoring and management of bacterial resistance to antimicrobial agents : a world health organization symposium
- (14)a O'BRIEN, The global epidemic nature of antimicrobial resistance and the need to monitor and manage it locally, 52-58
  - (14)b STELLING J M & O BRIEN TF, Surveillance of antimicrobial resistance : the WHONET program, 157-168
- (15) *Hygiènes*, 1998, Eau et établissements de soins, vol.VI, n°6

(15)a HARTEMANN, L'eau de distribution publique, 353-359

(15)b MATHIEU, Ecosystème et biofilm des réseaux de distribution d'eau potable, 375-384

(15)c HARTEMANN, Risque infectieux, eau et hôpital, 385-388