

Antibiorésistance : quelle stratégie pour l'ANMV à trois ans ?

Gérard Moulin, Jean-Pierre Orand

▶ **To cite this version:**

Gérard Moulin, Jean-Pierre Orand. Antibiorésistance : quelle stratégie pour l'ANMV à trois ans ?. Les cahiers de la Recherche : Santé, Environnement, Travail, 2013, 3, pp.62-64. hal-00917719

HAL Id: hal-00917719
https://anses.hal.science/hal-00917719

Submitted on 12 Dec 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

LES CAHIERS DE LA RECHERCHE
Santé, Environnement, Travail

Les résistances aux insecticides, antiparasitaires, antibiotiques...

Comprendre où en est la recherche

OCTOBRE 2013 Édition scientifique

anses
agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail

Éditorial

L'une des propriétés de la vie est son extraordinaire pouvoir d'adaptation à des agressions. Il apparait à l'échelle de l'individu d'abord, avec des mécanismes de défense multiples. Il se manifeste aussi à l'échelle de l'espèce, amplifié par le processus de sélection qui, d'une génération à l'autre, favorise les individus dotés des génomes les rendant plus aptes à résister. On a même découvert à la fin des années 1950, que la résistance bactérienne pouvait se transmettre entre espèces. Cet extraordinaire phénomène d'adaptation se manifeste à chaque fois que l'homme tente d'influer chimiquement sur le cours de choses. Cela peut être par le biais de médicaments pour éliminer des agents pathogènes ou des cellules cancéreuses : antibiotiques, antiviraux, anti tumoraux, antiparasitaires, etc. ; ou bien des produits phytosanitaires : insecticide, herbicides ou fongicides pour protéger les cultures ou éradiquer des espèces jugées nuisibles. Les résistances se développent d'autant mieux que l'usage de telles substances devient plus intensif et régulier, ce qui a pour effet de donner un avantage compétitif permanent aux individus résistants.

L'utilisation de substances chimiques à partir de la seconde moitié du vingtième siècle a eu un impact considérable en matière de santé publique, en limitant considérablement les maladies infectieuses. Elle a également contribué à augmenter le rendement des cultures. Même si les phénomènes de résistance ont été identifiés très tôt, le ton a longtemps été à l'optimisme, leur impact ayant été masqué par l'introduction de familles successives de molécules nouvelles de telle sorte qu'il existait toujours des produits efficaces disponibles. Puis l'innovation s'est ralentie, notamment en raison des coûts croissants de développement. D'autre part, la prise de conscience de risques liés à certaines molécules pour l'homme et pour l'environnement et l'évolution de la réglementation européenne qui en a découlé, ont limité la panoplie des produits utilisables.

Le phénomène de résistance est désormais à l'origine d'inquiétudes. En premier lieu, en santé humaine, avec la résistance aux antibiotiques, c'est-à-dire l'apparition de bactéries porteuses de gènes les rendant résistantes à divers traitements. Ces gènes peuvent se multiplier dans le milieu favorable de l'hôpital et être à l'origine de maladies nosocomiales difficiles à traiter. Cette préoccupation de santé publique a pris un nouveau tournant en 2011, avec une mobilisation grandissante au niveau français et européen. En agriculture aussi, la résistance est d'actualité, avec le risque de dégâts accrus causés par des ravageurs et de maladies variées. Dans l'élevage, outre le risque de transmission de bactéries résistantes à l'homme, se pose aussi la question de pertes économiques dues à la présence d'animaux malades qu'on n'arrive plus à traiter.

Face à ces questions, des stratégies sont préconisées telle que l'utilisation prudente des substances disponibles afin de ne pas créer inutilement des résistances et limiter leur impact sur l'homme et l'environnement, le développement de nouvelles molécules pour améliorer l'arsenal des possibles, l'usage alterné de produits différents pour ne pas laisser s'installer un phénomène de résistance, des moyens de lutte alternatifs souvent biologiques.

L'importance grandissante accordée au développement de l'antibiorésistance d'agents pathogènes pour l'animal et sa transmission à des agents pathogènes humains justifie le déploiement de ressources au sein de l'Anses. Sont en première ligne des domaines d'activité telles que le médicament vétérinaire, la santé animale parce que des bactéries résistantes peuvent passer de l'animal à l'homme, via l'alimentation, l'environnement, les gestes des professionnels, la thématique des résidus de médicaments dans l'environnement, l'évaluation de méthodes de soin alternatives chez l'animal. Ces actions s'ajoutent au niveau national à celles d'établissements qui s'impliquent dans la santé humaine comme l'Institut national de veille sanitaire (InVS) et l'agence nationale de sécurité du médicament (ANSM).

L'Anses assure systématiquement l'évaluation de produits biocides ou phytosanitaires, de médicaments vétérinaires avant leur mise sur le marché. Dans certains cas, le possible développement de résistances est à

prendre en compte. Il peut également s'agir de l'évaluation de nouvelles molécules ou de méthodes de lutte alternative. L'agence peut également donner des avis sur l'utilisation de biocides par exemple dans le cadre de lutte antivectorielle, c'est-à-dire contre les insectes comme le moustique qui sont à l'origine de la propagation de diverses maladies (Ex. chikungunya, dengue, paludisme…). Celles-ci connaissent d'ailleurs une recrudescence importante dans les départements français d'Outre-mer ainsi qu'en métropole et posent de manière aiguë la question de la résistance des insectes porteurs.

Pour donner quelques chiffres pour l'année 2011, en France, on consommait par an un peu plus de 900 tonnes[1] d'antibiotiques à usages vétérinaire et près de 64 000 tonnes[2] de produits phytosanitaires.

Ce troisième numéro des cahiers de la recherche fait le point sur deux grands sujets liés aux résistances :

- La résistance aux pesticides en mettant l'emphase sur la lutte antivectorielle ;
- La résistance aux antibiotiques.

Sont présentés d'une part des travaux de recherche, qu'ils soient menés en propre au sein de l'Agence ou d'équipes extérieurs financées par l'Agence, et d'autre part des activités de surveillance ou d'évaluation de menées au sein de l'Anses.

Marc MORTUREUX

Directeur Général,
Anses

[1] Rapport Anses : *Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2011*.

[2] http://agriculture.gouv.fr/pesticides

Sommaire

1. Les résistances aux insecticides **5**

La réémergence des maladies vectorielles **11**

L'épidémie de chikungunya sur l'île de la Réunion, de 2005 à 2006 ..... **12**

La résistance du moustique Aedes albopictus à La Réunion **15**

La résistance du moustique Aedes aegypti à la Martinique **18**

La résistance aux biocides **21**

La résistance aux produits phytosanitaires **22**

La résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher **24**

Les interactions entre les parasites et leurs hôtes **27**

La résistance aux vermifuges des parasites digestifs des chevaux **28**

La résistance aux anticoccidiens utilisés en volaille **31**

2. Les résistances aux antibiotiques **33**

La diffusion des staphylocoques en milieu hospitalier **37**

La persistance environnementale de médicaments **40**

Évolution de l'antibiorésistance dans le sol **42**

La résistance aux antibiotiques des bactéries E. coli en milieu naturel **45**

Le typage des souches E. coli **48**

Les pratiques à risques en médecine vétérinaire **50**

La résistance aux antibiotiques en médecine vétérinaire **53**

Le coût biologique de la résistance chez les bactéries Campylobacter **56**

3. Les activités de l'Anses **58**

Les réseaux de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries à l'Anses **59**

Agence Nationale du Médicament Vétérinaire **62**

4. Les Plans nationaux **65**

Index des substances actives et des préparations citées.....68

Glossaire 69

Mentions légales 75

Avertissement à l'attention des lecteurs



Les fiches de présentation des projets de recherche reflètent les points de vue des équipes scientifiques partenaires et n'engagent ni les Ministères de tutelles ou l'Anses et les partenaires associés. Pour toute question, les contacts sont indiqués à la fin de chaque fiche.

Retrouvez les Cahiers de la Recherche sur le site de l'Agence !



www.anses.fr/fr/content/les-cahiers-de-la-recherche

Les résistances aux insecticides

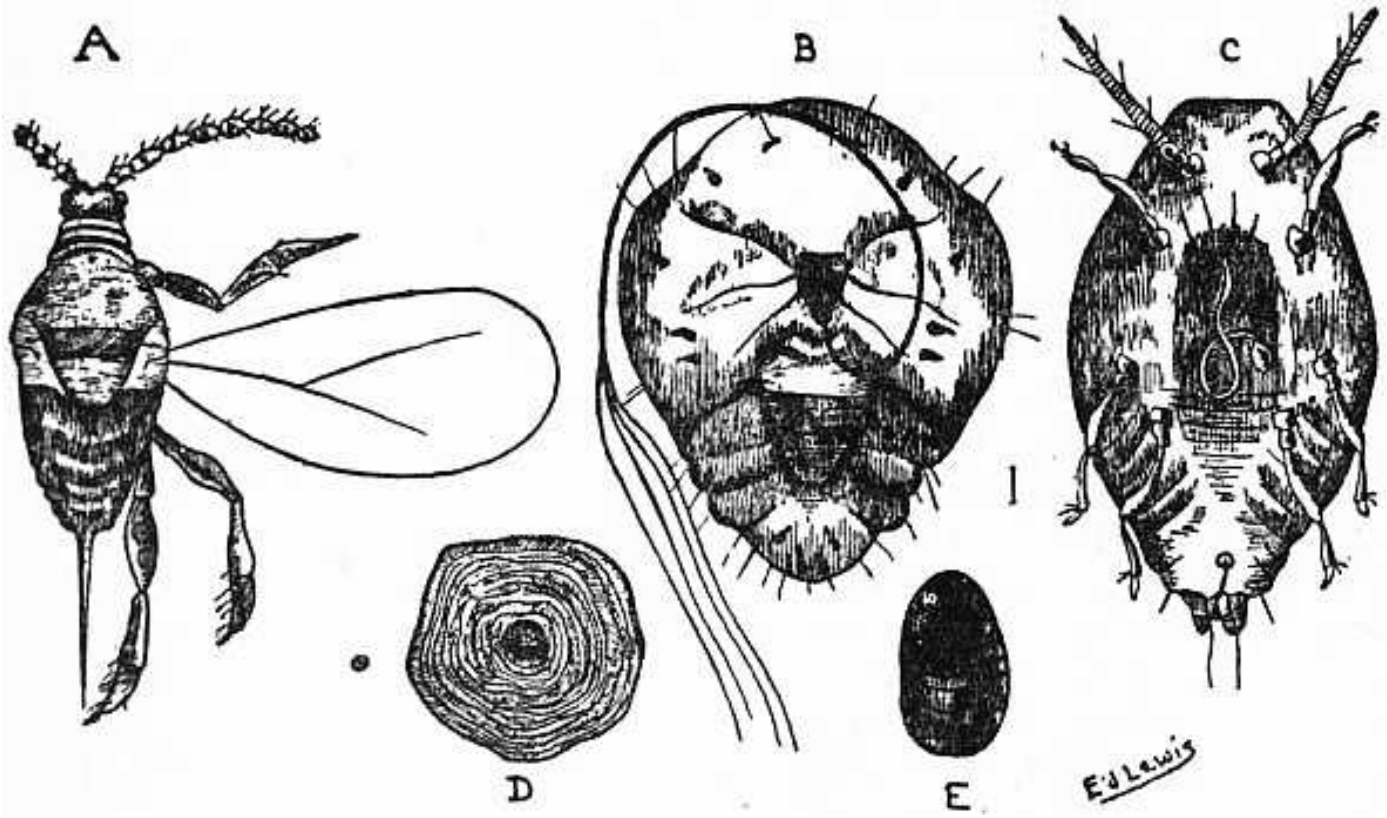
Si les insecticides remontent à l'Antiquité, il s'agissait alors de soufre ou d'arsenic, leur utilisation plus généralisée au XIXe siècle a suivi les progrès de la chimie minérale (composés à base de cuivre ou de plomb…), et la généralisation de l'usage de substances d'origine naturelles comme les dérivés du tabac, la roténone (issue de la racine de légumes tropicaux), le pyrèthre (issu du chrysanthème). Puis l'essor de la chimie organique a permis de développer de nouvelles substances. L'exemple phare est le DDT synthétisé pour la première fois en 1874, mais ça n'est qu'en 1939 que le chimiste suisse Paul Hermann Müller découvre la très grande efficacité du DDT comme insecticide. Il reçoit en 1949 le prix Nobel de physiologie ou médecine. Cette substance fut ensuite utilisée intensivement pour lutter contre les moustiques, vecteurs de maladies comme le paludisme (malaria) et les poux du corps, vecteurs d'une autre maladie grave, le typhus avant que ces effets négatifs ne soient soulignés. Les recherches sur les gaz de combat ont également eu un impact fort sur les insecticides, avec la mise sur le marché d'insecticides organophosphorés. L'usage des insecticides a connu un très fort développement au cours des années 1950 à 1970, les rendant quasiment indispensables à la plupart des pratiques agricoles (maîtrise des ressources alimentaires) et à l'amélioration de la santé publique (la lutte contre des insectes qui propagent des maladies comme les moustiques).



Soldat américain pulvérisant du DDT dilué à 10% dans du kérosène pour lutter contre le paludisme en Italie
(1945, archives du "National Museum of Health & Medicine" américain)

Toutefois, leur usage n'est pas sans inconvénient. Ces substances peuvent entrainer des effets sur la santé, et certaines d'entre elles peuvent s'accumuler dans l'environnement et affecter d'autres espèces (voir par exemple le livre « *Printemps silencieux* » de Rachel Carson). Un autre sujet de préoccupation qui fait l'objet de ces *Cahiers de la Recherche* est l'apparition de résistance. Les insectes cibles de l'insecticide développent divers mécanismes qui les rendent de moins en moins sensibles aux substances insecticides.

Ainsi des cas de résistance sont signalés entre 1902 et 1908 chez le pou de San Jose[3] (insecte ravageur des fruits) à l'encontre de la chaux soufrée. Puis, jusque dans les années 1940, d'autres cas apparaissent avec d'autres insectes et d'autres substances minérales. Puis de nouveaux insecticides sont introduits comme le DDT, insecticide qui à son tour cesse d'être efficace sur diverses espèces[4].



Le pou de San José (Diaspidiotus perniciosus) qui fut l'une des premières espèces sur laquelle on observa un phénomène de résistance (à la chaux soufrée)
(A, mâle; B, femelle; C, larve – Source : Encyclopædia Britannica, 1911)

De nos jours la résistance aux insecticides concerne un grand nombre d'espèce, ce qui est cause de préoccupations dans le monde agricole mais aussi dans le domaine de la santé dans la mesure où il peut être difficile d'éradiquer un insecte qui propage des maladies (qu'on appelle alors des maladies vectorielles). Des moyens sont utilisés pour réduire les effets de ces résistances (mélanges ou alternance de substances ayant des modes d'actions différents, usage raisonné, méthodes de lutte alternative aux insecticides par exemple lâcher de prédateurs des insectes cibles). En parallèle des activités de recherche sont menées.

[3] http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0048357584900877

[4] Thèse de Rémi Fourche.

Les familles des substances employées

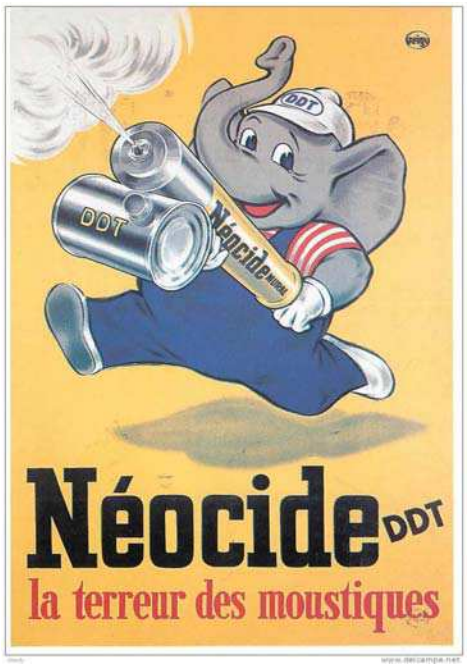
Les substances présentes dans les insecticides appartiennent à plusieurs familles différentes qui correspondent à des structures chimiques différentes. Aujourd'hui, 90 % des insecticides sont dits « de synthèse ». On distingue principalement cinq grandes familles :

- ***Les organochlorés***

Les composés organochlorés sont des molécules organiques comportant au moins un atome de chlore. Le DDT étant le plus connu d'entre eux. Ils furent très employés entre 1940 et 1970, pour éliminer les moustiques responsables de maladies comme le paludisme, comme insecticide agricole, comme traitement contre les poux ou la gale et comme insecticide domestique. L'un de leurs inconvénients est leur stabilité qui entraine leur accumulation dans l'environnement.



Ancienne publicité pour l'usage domestique du DDT
(Source : Département américain de l'Agriculture, 1947)



Ancienne publicité anti-moustiques
(Auteur anonyme, 1950)

Des résistances sont apparues très tôt. A partir de la fin des années 1940, on observe des cas de résistance des mouches au DDT, et des moustiques au DDT et à la dieldrine dans les années 1950[5]. L'emploi des organochlorés baissa après les années 1970, suite au constat de leur persistance dans l'environnement, mais aussi compte tenu de leur toxicité pour les écosystèmes voire l'homme. Beaucoup furent interdits dans de nombreux pays. Ils sont encore utilisés dans certaines parties du monde pour lutter contre la transmission du paludisme et du typhus.

- ***Les organophosphorés***

Fruits de recherches sur les gaz de combat commencées pendant la Seconde Guerre Mondiale puis, poursuivies en URSS pendant la Guerre froide, ces substances contiennent au moins un atome de phosphore lié directement à un carbone. Elles sont moins persistantes dans l'environnement que les organochlorés mais possèdent une toxicité aiguë. Ce sont de puissants agents neurotoxiques. Leur première commercialisation date des années 1940. Dans les années 1970, les composés organophosphorés remplacent les organochlorés, qui font l'objet d'interdictions, comme le DDT. Des cas de résistance des moustiques à ce type de substance apparaissent dans

[5] http://whqlibdoc.who.int/bulletin/1967/Vol36/Vol36-No4/bulletin_1967_36(4)_569-577.pdf

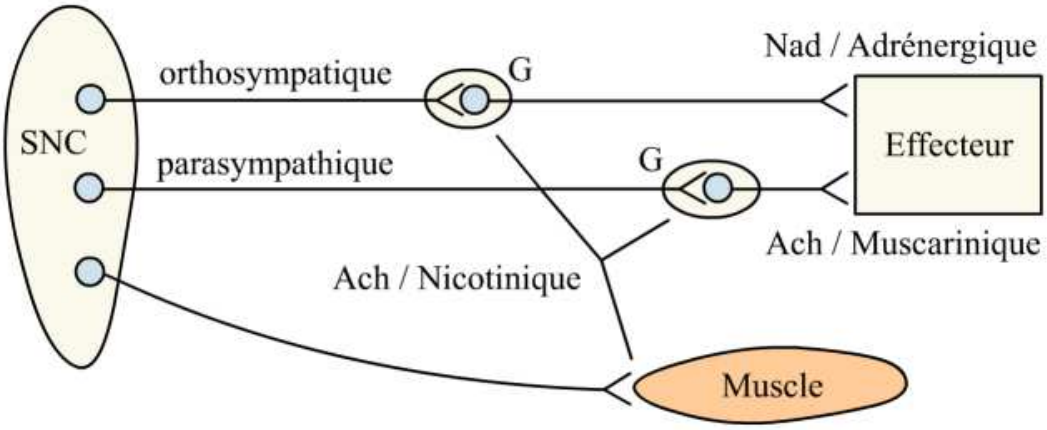
les années 1960[6]. Certains sont toujours utilisés. En raison de leur faible rémanence, ils se décomposent rapidement au contact de l'air ou du sol et nécessitent la répétition des traitements pour assurer une longue protection. Par ailleurs, manipuler des composés organophosphorés n'est pas sans risque sur la santé humaine (Ex. présentation sous la forme de poudre, dilution avec des solvants…).

- ***Les carbamates***

Dérivés de l'acide carbamique, ces substances sont apparues dans les années 1950. Leur mode d'action est semblable à ce lui des organophosphorés. Ils sont en général peu persistants dans l'environnement. Leur toxicité pour les mammifères est variable d'une substance à l'autre. Les carbamates peuvent être dotés de propriétés acaricides, insecticides, molluscicides, etc. Ils sont utilisés en agriculture, en horticulture et dans les produits à usages domestiques pour lutter contre les parasites (Ex. poux, puces, tiques…) qui vivent sur la surface corporelle des animaux de compagnie. Parmi les substances les plus utilisées à usage domestique, figurent deux matières actives : le propoxur[7] et le carbaryl[8].

- ***Les néonicotinoïdes***

Les néonicotinoïdes forment une famille d'insecticides neurotoxiques qui se fixent sur des récepteurs sensibles l'acétylcholine (composé transmettant des informations entre neurones) et perturbent ainsi le système nerveux des insectes. Ils sont utilisés de différentes manières pour protéger un certain nombre de cultures (colza, coton, maïs et tournesol) : enrobage de semences, en granulés (pour le traitement des sols) ou en pulvérisations (traitement des feuilles). D'une grande efficacité, ils sont aussi très controversés car soupçonnés d'être responsables de l'effondrement des insectes pollinisateurs, dont les abeilles. Suite aux risques identifiés par les scientifiques de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (Efsa)[9], des restrictions d'usage sont envisagées en Europe, d'ici la fin de l'année 2013 pour trois substances actives : la clothianidine, l'imidaclopride et le thiaméthoxame.



Rôle de l'acétylcholine dans le système nerveux périphérique.
Au niveau de chaque synapse sont indiqués le neurotransmetteur et le récepteur impliqués.
Ach : Acétylcholine, G : Ganglions, Nad : Noradrénaline, SNC : Système nerveux central.

[6] J. Mouchet.

[7] Le propoxur est utilisé comme insecticide contre les moustiques et les insectes piqueurs (par exemples, sous la forme d'aérosols ou de pulvérisateurs) et comme antiparasitaires sur des animaux familiers (par exemples, sous la forme de colliers pour chats et chiens).

[8] Le carbaryl est utilisé comme régulateur de croissance pour réduire la chute des fruits des arbres fruitiers et pour éclaircir les semis trop serrés.

[9] Communiqué de presse, 16 janvier 2013 : www.efsa.europa.eu/fr/press/news/130116.htm

- ***Les pyréthrinoïdes de synthèse***

Très vivace, le pyrèthre de Dalmatie est cultivé, par exemple, pour ses fleurs blanches qui contiennent des pyréthrines, utilisées comme insecticide naturel au dix neuvième siècle. Les pyréthrinoïdes de synthèse, qui sont proches des pyréthrines, sont apparus dans les années 1970, après l'interdiction des organochlorés. Ce sont aujourd'hui les insecticides les plus utilisés. Ils sont utilisés dans la lutte anti-moustiques mais aussi contre les araignées, les cafards, les poux, les mites, etc. Ils sont rapidement détruits par le soleil (un ou deux jours) ; ils ne persistent pas dans les sols et peuvent être dégradés par la plupart des organismes présents dans l'eau. Ils sont aussi très peu toxiques pour les mammifères. Mais, comme l'indique un avis de l'Anses[10], des insectes commencent à manifester des phénomènes de résistance comme les méligèthes, insectes ravageurs du colza. Ainsi, « la deltaméthrine pourrait être remise en cause à plus ou moins brève échéance à cause des résistances ».

Les mécanismes de résistance aux insecticides

Des phénomènes de résistance ont été observés à l'encontre de toutes les familles d'insecticides. C'est un phénomène complexe qui met en jeu trois grands types de mécanismes.

- ***La résistance comportementale***

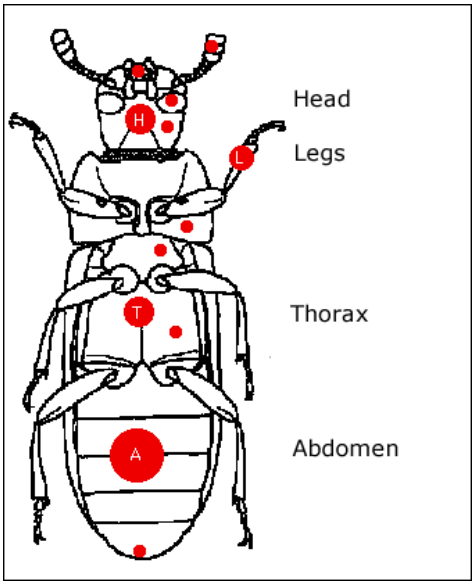
Les insectes et acariens adoptent un comportement différent qui empêche les insecticides d'agir. Citons quelques exemples. Ainsi, les « mouches des cornes » qui parasitent les bovins (*Haematobia irritans*) séjournent habituellement à la base des cornes ou sur leur dos. Lorsque les bovins possèdent à l'oreille une étiquette imprégnée de pyréthrinoïdes de synthèse, les mouches changent leur comportement et fréquentent les régions ventrales et postérieures non traitées. Second exemple celui des mouches tsé-tsé. Dans les années 1970, on a remarqué, que les mouches tsé-tsé étaient attirées par des surfaces monochromes[11], dont celles de couleur bleue. Or, on observe que les écrans et les tissus imprégnés de pyréthrinoïdes de synthèse pour les éliminer perdent rapidement de leur attractivité. Les mouches les plus âgées s'envolent pour s'éloigner. Ce qui signifie une reconnaissance de la substance toxique par les récepteurs sensoriels de l'insecte et un comportement d'évitement. Dernier cas, de nature différente, celui des chenilles résistantes du papillon nocturne (*Heliothis virescens*). Celles-ci réduisent le contact avec l'insecticide en réduisant leurs mouvements. Elles peuvent ainsi rester jusqu'à six heures sans bouger sur une surface de verre traitée avec de la perméthrine, limitant ainsi leur exposition.

- ***La résistance physiologique***

Autre mécanisme de résistance : des modifications affectant la physiologie de l'insecte peuvent être à l'origine de la résistance aux insecticides par exemple la modification de la pénétration ou de l'excrétion de la substance. Pour atteindre leurs cibles, les insecticides pénètrent à l'intérieur des insectes en traversant la cuticule[12] ou les parois du tube digestif. Cette pénétration dépend de la nature de l'insecticide mais aussi des caractéristiques des barrières à traverser. Si la traversée des parois est lente, l'insecticide envahira le corps plus lentement laissant le temps de le dégrader à des mécanismes de détoxication. Il en va ainsi, par exemple, pour le ver de farine (*Tribolium castaneum*) où diverses mutations rendant les parois plus imperméables ont pu être identifiées : d'où l'apparition d'espèces résistantes.

[10] *Recherche d'insecticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle*, Avis et rapport d'expertise collective de l'Anses, 29 novembre 2011.
[11] Les rayures du zèbre le protègent de ce parasite.
[12] La cuticule (lat. *cuticula*, « petite peau ») désigne la couche rigide et imperméable qui recouvre les insectes.

Par ailleurs, les chercheurs ont observé, chez d'autres insectes et acariens tels le charançon du blé (*Sitophilus granarius*) et le perceur de grains (*Rhyzopertha dominica*), des phénomènes d'excrétion directe des substances toxiques sans biotransformation.



Ver de farine (*Tribolium castaneum*) résistant
Représentation schématique d'après le Département américain de l'Agriculture

- ***La résistance biochimique***

Les mécanismes de dégradation des molécules contenues dans les insecticides se situent au niveau cellulaire. Il en existe de différentes natures : modification des molécules ciblées par les insecticides, stockage des toxines loin des tissus sensibles ou « séquestration », surproduction d'une ou plusieurs enzymes, conjugaison de ces substances avec des métabolites préexistantes qui favorise ensuite l'excrétion, etc. Tous ces mécanismes de résistance sont très compliqués d'autant plus que les molécules conjuguées ne sont ni faciles à détecter ni à analyser. Ils constituent un large spectre d'actions qui peuvent être comparés à des systèmes immunitaires.

La réémergence des maladies vectorielles

Ces dernières années ont vu l'émergence ou la résurgence de maladies vectorielles, dans un contexte de changement climatique, telles que le paludisme en Guyane et à Mayotte, la dengue dans les départements français d'Amérique, à la Réunion et dans la région Pacifique et le chikungunya en métropole. Il s'agit de maladies infectieuses ou parasitaires qui sont pour certaines transmises par des moustiques et pour d'autres par des diptères. Le schéma typique est le suivant : la contamination humaine survient à la suite d'une piqûre par un insecte qui s'est lui-même contaminé après avoir piqué une personne ou d'un animal déjà contaminés... Or, il n'y a actuellement ni vaccin ni traitement efficace pour un grand nombre de ces affections virales ou parasitaires ; des stratégies de lutte ont été mises en place qui visent à réduire les expositions des personnes aux vecteurs dans les zones où sévissent ces pathologies qui reposent sur un ensemble de leviers d'action (lutte contre les gites larvaires, information, formation, usage de produits biocides larvicides, et adulticides, etc.).

Vecteurs	Maladies
Aedes aegypti	Chikungunya et dengue
Aedes albopictus	Chikungunya et dengue
Aedes polynesiensis	Dengue
Anopheles gambiae	Paludisme
Culex pipiens et quinquefasciatus	Virus du Nil ou « West Nile »

Malheureusement, la lutte antivectorielle se heurte à de nombreuses difficultés, notamment la diminution de l'efficacité de certains insecticides et les risques liés à leur utilisation (Ex. effets sur la santé, impacts sur les écosystèmes…). La lutte antivectorielle s'organise aujourd'hui principalement autour de deux substances actives : le Bti[13] (larvicide) et la deltaméthrine (adulticide). Aussi, des cas de résistance à la deltaméthrine, et plus généralement aux pyréthrinoïdes sont maintenant observés dans de nombreux territoires français. Ces résistances attribuent aux moustiques qui les développent, une moins grande sensibilité aux produits utilisés, ayant pour conséquence de diminuer leur efficacité. Dans ce contexte, la réémergence des maladies vectorielles revêt un enjeu crucial de santé publique.

[13] « Biopesticide » issu d'une bactérie qui vit naturellement dans les sols (*Bacillus thuringiensis israelensis)*.

L'épidémie de chikungunya sur l'île de la Réunion, de 2005 à 2006

Évaluation des risques et de l'efficacité des produits adulticides et larvicides

Ohri YAMADA (Unité d'évaluation des risques liés à l'air, DER – Anses)

Mots-clés : arbovirus, chikungunya, épidémie, La Réunion, lutte antivectorielle, maladie infectieuse, moustiques

Le chikungunya est une maladie infectieuse, due à un arbovirus, transmise par des moustiques du genre *Aedes* : *Aedes albopictus* et *Aedes aegypti*. Cette maladie provoque de fortes fièvres, accompagnées de maux de têtes et de douleurs musculaires et articulaires, souvent invalidantes. D'où l'origine de son nom qui signifie en swahili : « maladie de l'homme courbé » ou « maladie qui brise les os ». Il existe aussi des formes cliniques plus sévères. La douleur aiguë peut devenir chronique et durer plusieurs mois, voire plusieurs années. Il n'existe pas de remède contre cette maladie ; le traitement repose uniquement sur des anti-douleurs et des anti-inflammatoires mais il ne présente aucun effet préventif. La prévention du chikungunya repose donc sur la lutte antivectorielle.

Un premier cas a été enregistré à La Réunion, le 22 février 2005[14], signifiant le début d'une épidémie de grande ampleur dans tout l'Océan Indien : Comores, Madagascar, Maurice, les Seychelles, Mayotte, etc.

L'épidémie sur l'île de la Réunion

Après un premier épisode entre les mois de mars et juin 2005, l'épidémie de chikungunya a repris sur l'île de la Réunion en octobre 2005, avant d'atteindre son pic en février 2006. L'Institut de veille sanitaire (InVS) estime qu'environ 266.000 personnes ont présenté une forme clinique de cette maladie. Outre l'ampleur sans précédent de cette épidémie, des formes sévères de la maladie ont pour la première fois été décrites : encéphalites, hépatites fulminantes, myocardites, syndromes de Guillain-Barré… Ces complications graves ont été principalement rencontrées chez des personnes âgées et des nouveau-nés[15].

Ainsi, pendant l'année 2006 :

- 246 personnes ont été hospitalisées ;
- une quarantaine de cas de transmission materno-néonatale avec confirmation biologique ont été retrouvés ;
- 254 certificats de décès mentionnant le chikungunya ont été recensés[16].

La transmission du virus ne se fait pas d'homme à homme ; elle nécessite la présence d'un moustique vecteur de l'espèce *Aedes albopictus.* Ce dernier, reconnaissable à cause de sa silhouette noire à rayures blanches, est aussi surnommé moustique « tigre ».



Moustique Aedes albopictus
(Source : James Gathany, CDC)

Comme chez toutes les espèces de moustiques, seules les femelles piquent. Elles sont hématophages ; ce qui signifie qu'elles doivent se nourrir de sang pour assurer le développement de leurs ovaires et de leurs œufs.

[14] Centre National de Référence des arbovirus de l'Institut Pasteur.
[15] Infectés *in utero* par leurs mères malades.
[16] Épidémie de chikungunya : point de l'InVS au 19 avril 2007.

Elles peuvent s'infecter en piquant un être humain ou un animal infecté et deviennent porteuses de l'agent infectieux. Sachant qu'une femelle *Aedes* pond environ 300 œufs au cours de son existence (un mois) et que ces derniers peuvent « survivre » à de longues périodes de sécheresse, il ne faut pas se limiter à l'élimination des adultes mais supprimer les gîtes larvaires (Ex. coupelles de pots de fleurs, canettes, pneus usagés, récipients naturels, vases de cimetières…).

La lutte antivectorielle

Dans ce contexte épidémique, en l'absence de vaccin et de traitement efficace, la principale voie de contrôle de l'épidémie est la lutte antivectorielle ; ces mesures permettent de réduire la densité des moustiques *Aedes*. Dès janvier 2006, l'Agence a été saisie pour une première mission d'appui pour évaluer les dangers et les risques pour l'homme et l'environnement du téméphos. À La Réunion, des opérations de lutte antivectorielle ont été renforcées :

- utilisation d'adulticides (Ex. produits organophosphorés à base de fénitrothion puis, pyréthrinoïdes de synthèse comme la deltaméthrine…) ;
- utilisation de larvicides (Ex. produits biocides à base de téméphos puis, *Bti*[17] à partir du 20 février 2006…)



Néanmoins, le caractère explosif de l'épidémie réunionnaise, dès le début de la saison des pluies 2005-2006, ainsi que la morbidité et la mortalité associées ont plongé le département dans une crise sanitaire aux répercussions socio-économiques majeures. D'où la nécessité :

- d'identifier les raisons, y compris les carences éventuelles de prévention, qui ont permis à l'épidémie de se développer ;
- d'évaluer la pertinence des méthodes de lutte antivectorielle mises en œuvre, assortie d'un encouragement à développer des solutions alternatives aux substances actuellement utilisées[18] ;
- de définir une stratégie globale des moyens de lutte contre le chikungunya.

Ces opérations de lutte antivectorielle doivent également être accompagnées de mesures de protection individuelle. Il s'agit par exemple, de limiter sa propre exposition au moustique vecteur en portant des vêtements amples, longs et clairs et d'appliquer des lotions répulsives sur les vêtements et les moustiquaires. Si la présence du virus n'est plus qu'épisodique dans les îles de l'Océan indien, le Ministère chargé de la santé a néanmoins rappelé en mai 2007 que les « territoires, situés en zone tropicale, restent exposés au risque lié aux maladies transmises par des moustiques. En particulier, le paludisme est présent à Mayotte et en Guyane, la dengue dans les départements français d'Amérique ». Par ailleurs, il ne faut pas oublier qu'une part importante de la population n'est pas immunisée (près des 2/3 selon l'InVS) ; ce qui fait qu'une résurgence du virus du chikungunya dans ces territoires reste possible.

Les perspectives

En 2007, le chikungunya a fait son apparition en Europe ; une flambée épidémique est survenue en Italie, touchant des centaines de personnes dans la région de Ravenne[19]. En 2010, les deux premiers cas autochtones[20] ont été établis dans le sud de la France

[17] *Bacillus thuringiensis israelensis*.

[18] Malgré les inconvénients liés à son (éco)toxicité, l'usage du téméphos a bénéficié d'une prolongation de son autorisation d'utilisation au-delà du 1er septembre 2006, pour usage essentiel, dans le cadre de la Directive Biocides 98/8/CE. Cette prolongation, limitée aux Départements français d'Outre-mer et pour un usage de lutte antivectorielle, a été accordée jusqu'au 14 mai 2009, puis prolongée à plusieurs reprises. La dernière prolongation jusqu'au 14 mai 2014 a été publiée dans la décision 2011/48/UE de la commission européenne. Mais aucun arrêté n'ayant été publié par la France en application de cette décision de la commission européenne, le téméphos n'est de fait actuellement pas autorisé.

[19] DGS, communiqué de presse, 31 août 2007.

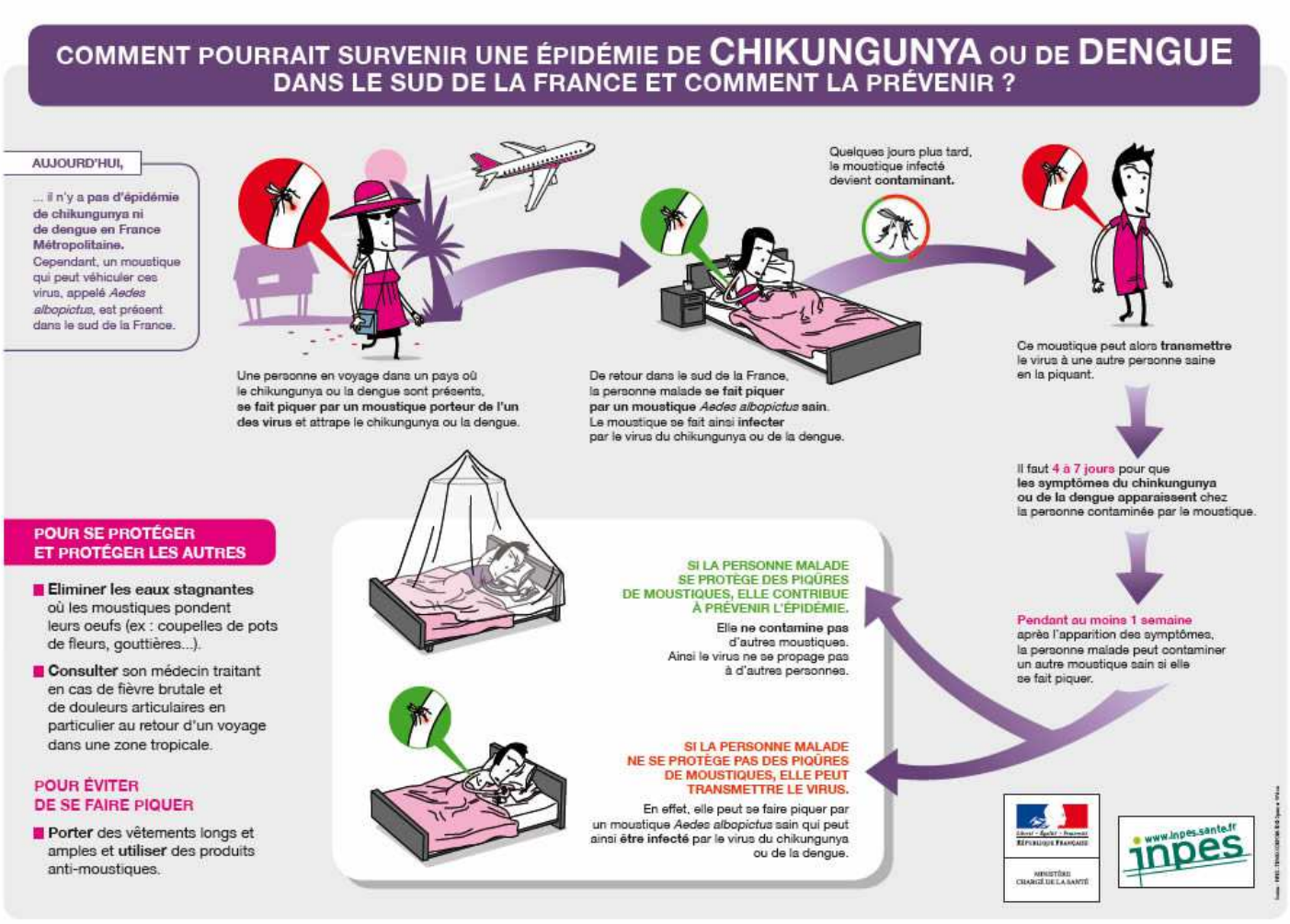
(Var) : d'où l'ajout du chikungunya à la liste des maladies à déclaration obligatoire.

Sur l'île de la Réunion, des premiers cas de résistance aux produits organophosphorés et pyréthrinoïdes ont été observés chez des souches de moustiques prélevées sur le terrain. Ces résistances confèrent aux organismes qui les développent, une moindre sensibilité aux produits de lutte antivectorielle, ayant pour conséquence de diminuer l'efficacité des traitements. C'est pourquoi, l'Agence a été saisie, le 3 juin 2009, par les ministères chargés de l'écologie, de la santé et du travail afin d'identifier les insecticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle. D'où la recherche de nouvelles substances actives plus efficaces et/ou de solutions alternatives présentant une moindre toxicité pour la santé humaine et l'environnement.

Depuis, cette recherche s'est appuyée sur deux Conventions de Recherche et Développement IRD/Anses/ARS :

- Résistance des vecteurs d'arboviroses aux insecticides dans les départements français d'Outre-mer et implications opérationnelles ;
- Évaluation de nouveaux candidats insecticides pour la lutte contre les moustiques, vecteurs d'arboviroses.

Des travaux sur la résistance sont actuellement en cours d'étude à Mayotte et de nouvelles informations seront communiquées d'ici la fin de l'année 2013.



Plaquette d'information (Source : Inpes/Illustrations Spencer Wilson)[21]

[21] http://www.inpes.sante.fr/10000/themes/maladies-moustiques/chikungunya/chikungunya-outils.asp

La résistance du moustique *Aedes albopictus* à La Réunion

La résistance des vecteurs d'arboviroses aux insecticides dans les départements français d'Outre-mer et implications opérationnelles

Frédéric DARRIET, Séverine LICCIARDI, Vincent CORBEL, Jean-Sébastien DEHECQ et Fabrice CHANDRE

Mots-clés : biocides, *Bti*, chikungunya, deltaméthrine, diflubenzuron, insecticides, lutte antivectorielle, moustiques, pyriproxyfène, spinosad, téméphos

Depuis l'épidémie qui s'est déclarée sur l'île de la Réunion, de 2005 à 2006, le chikungunya représente une préoccupation de santé publique majeure dans l'Océan indien. Cette maladie est due à un arbovirus transmis par le moustique *Aedes albopictus*.

Le contexte

Outre l'apparition de résistances aux insecticides, l'évolution de la réglementation européenne en matière d'utilisation de produits biocides[22] entraîne le retrait progressif de substances actives, qui limite la panoplie des produits utilisables à des fins de lutte antivectorielle. Ces traitements exposent en premier lieu, les opérateurs (expositions cutanée et respiratoire), voire la population générale[23]. Sachant que l'intérêt économique des fabricants de pesticides pour développer de nouveaux produits pour la lutte antivectorielle est faible[24], aucun produit de « remplacement » n'a été envisagé en France pour suppléer les molécules existantes.

Pour limiter le développement des résistances, il est nécessaire de varier les substances actives utilisées, de trouver des substances moins toxiques et/ou d'associer différentes méthodes, les unes aux autres :

- la lutte physique ou lutte mécanique, destruction physique des petits gîtes de pontes, assèchements des gîtes qui ne peuvent pas être détruits…
- la lutte biologique sur la relation proie/prédateur (Ex. poissons larvivores…) ; utilisation du *Bti*
- la lutte chimique : utilisation de larvicides et d'adulticides de synthèse ;
- la lutte génétique dont l'acceptabilité par la population est plus délicate ;
- sans oublier la protection individuelle (Ex. vêtements amples et longs, répulsifs, moustiquaires…).



D'autre part, l'Institut de recherche pour le développement (IRD) s'oriente vers l'association de plusieurs substances actives pour mieux lutter contre les moustiques. Pouvons-nous combiner insecticides et répulsifs ? Quelles associations d'insecticides et de synergistes peuvent constituer des pistes prometteuses pour diversifier les modes d'actions et entraîner des effets synergiques, encore sous-exploités dans le domaine de la lutte antivectorielle ?

Institut de recherche pour le développement (IRD)

[22] Directive Biocide 98/8/CE.

[23] Face à ces effets indésirables, il est nécessaire de caractériser la toxicité des insecticides basée sur des méthodes multicritères présentant les avantages et les inconvénients propres à chacun.

[24] Avis de l'Anses relatif à la recherche d'insecticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle, 29 novembre 2011.

Avant de répondre à ces questions, il convenait d'évaluer l'efficacité espérée de chaque substance active sur le terrain. De 2008 à 2011, des travaux de recherche ont été menés tant au niveau opérationnel, que sur le terrain et au laboratoire.

Les actions de recherche sur *Aedes albopictus*

Sur l'île de la Réunion, les traitements de lutte antivectorielle étaient réalisés quasi-exclusivement avec :

- le téméphos (larvicide) qui est une substance organophosphorée qui fait désormais l'objet de sévères restrictions d'emploi[25] et le *Bti* qui est une substance naturelle produite par une bactérie du sol *Bacillus thuringiensis* var *israelensis ;*
- la deltaméthrine (adulticide) qui est un composé de la famille des pyréthrinoïdes. Ce neurotoxique agit sur la membrane cellulaire du neurone en perturbant la cinétique d'inactivation du canal sodium[26].

Pour évaluer les niveaux de résistance du moustique *Aedes albopictus*, des larves de terrain ont été récoltées dans six localités de l'île (Saint-André, Saint-Benoit, Saint-Denis, Saint-Paul, Saint-Pierre et Sainte-Rose) permettant de couvrir une variété représentative des situations, dont la diversité des souches en fonction des situations géographiques.

Des essais ont été réalisés pour chaque souche, dans différents types de gîtes : plots en béton, bambous cassés ou coupés et pots en plastique. Trois larvicides ont été comparés au *Bti* et au téméphos sur la population sauvage : spinosad[27], pyriproxyfène[28] et diflubenzuron[29]. Couramment utilisées en agriculture, ces trois substances actives sont inscrites sur l'annexe 1 de la Directive 91/414/CEE, c'est-à-dire qu'elles peuvent entrer dans la composition de préparations phytopharmaceutiques commercialisées sur le territoire de l'Union européenne, car les risques sont jugés acceptables au regard des bénéfices apportés. De plus, elles ne présenteraient qu'une faible toxicité pour les mammifères, les oiseaux et les poissons mais aussi, les organismes vivant dans le sol et les insectes pollinisateurs.

Des essais ont ensuite été réalisés en cages selon le protocole « OMS » pour déterminer les niveaux d'efficacité des substances actives contre les moustiques femelles *Aedes albopictus.* La méthode consistait à exposer ces cages cylindriques sur le terrain à des distances croissantes de la source d'épandage de la deltaméthrine, en testant deux formulations différentes : l'une datant de février 2006 et l'autre de mai 2010. Soixante minutes après la pulvérisation, les moustiques « knock-down » (effet choc) ont été comptés dans les cagettes puis, la mortalité calculée après 24 heures d'observation.

Les retours d'expérience

Pour les larvicides, la durée d'activité de la substance après application (dosages exprimés en g/ha) peut être fortement diminuée par les phénomènes de dilution, de ruissellement ou de débordement des gîtes larvaires, sous l'influence des précipitations. À dose égale :

- le téméphos reste actif pendant 9 jours dans les plots en béton et les bambous cassés mais, pas dans les pots en plastique ;
- le *Bti* limite l'émergence des moustiques dans une proportion inférieure à 20 % dans les plots en béton et en plastique durant 6 à 11 jours mais, n'a pas d'activité décelable dans les bambous ;
- le spinosad, le pyriproxyfène et le diflubenzuron (pressentis comme potentiellement utilisables) n'ont montré aucune efficacité sur le terrain, confirmant la faible activité observée en laboratoire.

En ce qui concerne la deltaméthrine, la formulation la plus récente ne présente pas, contrairement à ce qu'on aurait pu penser, une efficacité beaucoup plus grande avec des pourcentages de mortalité

[25] Par la décision 2007/226/CE, le téméphos a été maintenu sur le marché français jusqu'au 14 mai 2009 à des fins de lutte antivectorielle. Cette autorisation d'usage était limitée aux quatre départements d'Outre-mer suivants : Guadeloupe, Guyane, Martinique, Réunion. Cette dérogation a ensuite été prolongée jusqu'au 14 mai 2010 (décision 2009/395/CE) puis jusqu'au 14 mai 2014 (décision 2011/48/UE).

[26] L'hyperexcitation provoque des convulsions, des prostrations et des paralysies, voire des incoordinations comportementales.

[27] Intégré depuis 2010 dans le panel des insecticides utilisables contre les moustiques, le spinosad n'a en fait, jamais été utilisé par les opérateurs publics de démoustication ou de lutte antivectorielle ; ce qui fait que ce produit ne pourra plus être utilisé en France à partir de novembre 2013 ; l'industriel qui fabrique ce produit ne redéposant pas de dossier de mise sur le marché.

[28] Phytopharmaceutique, inhibiteur du développement des insectes.

[29] Phytopharmaceutique, inhibiteur du développement des insectes, notamment contre les papillons (Ex. carpocapses, bombyx…) ; il est soluble dans l'eau.

comparables à la formulation la plus ancienne :

- 66 % à 10 mètres, 46 % à 20 mètres et moins de 25 % à 30 et 40 mètres.

Cette perte d'efficacité de la deltaméthrine est très certainement liée aux conditions de pulvérisation (conditions météorologiques) et aux réglages du matériel (débit des buses) qui a été utilisé lors des aspersions spatiales. Par ailleurs, il est à noter que les pyréthrinoïdes se dégradent sous l'effet de la lumière et des UV.

Les perspectives

Les mauvais résultats des larvicides testés durant cette étude posent la question du bien fondé de stratégies de lutte anti-larvaire d'autant plus que les évaluations conduites dans les plots en béton, les bambous cassés et les pots en plastique l'ont été en pulvérisant les gîtes selon les recommandations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Il est évident qu'à la vue de ces résultats, peu ou pas des produits actifs ne sont entrés en contact avec les larves et les nymphes présentes dans les gîtes.

L'équipe :

Institut de recherche pour le développement (IRD)
Frédéric Darriet, Séverine Licciardi, Vincent Corbel, Fabrice Chandre
Service de Lutte Anti-Vectorielle de l'ARS OI, Saint Denis (Délégation d'île de La Réunion)
Jean-Sébastien Dehecq

Durée : 3 ans

Financement : 310 K€ (HT)

Contact : frederic.darriet@ird.fr

Le savez- vous ?

Le terme de maladie émergente et/ou réémergente s'applique aux maladies qui entrent dans l'un des cadres suivants :

- Un syndrome qui associe de façon originale des causes et des symptômes non observés jusqu'alors en médecine (maladie nouvelle comme par exemple, le sida) ;
- Une affection qui n'a encore jamais été identifiée dans une zone géographique donnée (comme le chikungunya en Italie et dans le sud de la France, depuis 2007) ;
- Une maladie qui réapparaît là où elle avait disparu (comme la dengue en Polynésie française, depuis l'automne 2009).

Ces maladies sont liées à des agents pathogènes (bactéries, champignons microscopiques, mycotoxines, parasites, virus…) qui peuvent affecter les animaux et les plantes… et parfois, se transmettre à l'homme.

La résistance du moustique *Aedes aegypti* à la Martinique

La résistance des vecteurs d'arboviroses aux insecticides dans les départements français d'Outre-mer et implications opérationnelles

Frédéric DARRIET, Sébastien MARCOMBE, Vincent CORBEL, Michel TOLOSA et André YÉBAKIMA

Mots-clés : biocides, *Bti*, insecticides, lutte antivectorielle, moustiques, pyriproxyfène, spinosad

Depuis quelques années, la dengue[30] progresse de manière très importante dans le monde. C'est une maladie virale, transmise à l'homme par des moustiques du genre *Aedes*. Fin septembre 2009, elle aurait touché près de 3.000 personnes en Polynésie française. Puis, à l'automne 2010, La Guadeloupe et La Martinique ont connu à leur tour, une épidémie de dengue avec plus de 40.000 personnes infectées, dont 5.500 cas confirmés par l'InVS.

À La Martinique, on recherche des stratégies nouvelles pour combattre plus efficacement le moustique *Aedes aegypti,* vecteur de la dengue et de la fièvre jaune. Pour maîtriser sa résistance aux insecticides, l'Institut de recherche pour le développement (IRD) s'oriente vers le mélange de deux substances à mode d'action différent, de manière à combiner leur efficacité et à diminuer les risques d'apparition d'une résistance à l'un ou l'autre des insecticides. Face à l'ampleur des épidémies récentes, ces mélanges constituent une piste à explorer dans le domaine de la santé publique.

Le contexte

La connaissance des modes d'action des substances actives permet de mieux comprendre l'efficacité d'un produit, mais surtout de mieux gérer les risques de résistance développée par les moustiques du genre *Aedes*. Pour être efficace, un insecticide doit entrer en contact avec l'insecte afin d'être transporté jusqu'à sa cible (Ex. système nerveux central, tube digestif…) pour y exercer son activité toxique.

Une partie de ces résistances tirent leur origine de l'emploi dans le passé, pour la production de légumes et de fruits, de certains pesticides organochlorés (aujourd'hui interdits).

Ces substances persistent longuement dans l'environnement et, aujourd'hui encore, l'eau et les sols sont contaminés. Cette contamination a induit des mécanismes de résistance croisée aux organochlorés, organophosphorés, aux carbamates et aux pyréthrinoïdes, impliquant des mutations successives des moustiques *Aedes aegypti*.



Moustique Aedes aegypti
(Auteur : Muhammad Mahdi Karim)

Il s'agissait d'évaluer ces résistances. Une dizaine de localités ont été retenues sur l'île. Ensuite à partir des données topographiques fournies par le Conseil Général de la Martinique, il a été sélectionné des zones de traitement qui regroupaient de 60 à 150 habitations afin d'évaluer l'impact sur *Aedes aegypti*, des aspersions spatiales faites avec de la deltaméthrine et des pyréthrines.

Sur les dix populations de moustiques *Aedes aegypti ainsi* échantillonnées, toutes ont montré de fortes résistances au téméphos (larvicide organophosphoré) et à la deltaméthrine (adulticide pyréthrinoïde). La plus forte mortalité enregistrée, par exemple, avec la deltaméthrine ne dépasse pas

[30] Prononcez « dingue ».

50 % pour le quartier « Grand Case » (Le Lamantin) et pour le pyrétrum, la mortalité est toujours restée inférieure à 10 %. Comment remplacer ces substances ?

Les actions de recherche sur *Aedes aegypti*

Face à la progression de la dengue et à la possible réapparition du paludisme, la recherche d'insecticides potentiellement utilisables en lutte antivectorielle est cruciale. Sachant qu'un pesticide agit sur une ou plusieurs cibles bien déterminées, une liste initiale des insecticides déjà commercialisés dans le monde a été établie. Parmi ces substances actives considérées *a priori* comme efficaces pour la lutte antivectorielle[31], figurent trois larvicides :

- le spinosad[32] : insecticide d'origine biologique, réputé efficace contre les larves de papillons (Ex. carpocapse des pommes et des poires, fausse arpenteuse du chou…) ;
- le pyriproxyfène : inhibiteur mimétique des hormones juvéniles des insectes dont l'action se traduit par une forte mortalité des moustiques au moment de la nymphose ;
- Le diflubenzuron : est un inhibiteur de croissance des insectes qui perturbe la polymérisation de la cuticule après les mues larvaires.

Ces trois candidats ont été testés comparativement au *Bti*[33] qui constitue l'un des insecticides de référence.

Les retours d'expérience

L'activité de chacun des larvicides a été appréciée en pourcentage sur l'émergence des moustiques[34]. Lorsque ces pourcentages sont supérieurs à 20 % (critère OMS), l'activité biocide du larvicide est considérée comme déclinante et propre à déclencher un nouveau traitement. Les temps d'activité efficace sont de :

- 28 jours (1 mois) pour le *Bti* et le pyriproxyfène ;
- 98 jours (3 mois) pour le diflubenzuron
- 105 jours (3,4 mois) pour le spinosad ;
- 133 jours (4,3 mois) pour le mélange pyriproxyfène + spinosad.

À noter : la complémentarité d'action du mélange pyriproxyfène + spinosad agit à la fois sur les larves et les nymphes de moustiques.

Les perspectives

Cette étude a permis dans un premier temps de faire le constat de la résistance des moustiques *Aedes aegypti* aux organochlorés, aux organophosphorés, aux carbamates et aux pyréthrinoïdes. L'étude comparée des larvicides selon que ces derniers aient été utilisés dans des gîtes artificiels ou naturels donne les rémanences suivantes :

Larvicides	Gîtes artificiels	Gîtes naturels
Bti (5 mg/l)	6 mois	1 mois
Pyriproxyfène (0,05 mg/l)	8 mois	1 mois
Spinosad (0,5 mg/l)	5 mois	3 mois
Diflubenzuron (0,2 mg/l)	-	3 mois
Pyriproxyfène (0,02 mg/l) + spinosad (0,1 mg/l)	8 mois	-
Pyriproxyfène (0,05 mg/l) + spinosad (0,5 mg/l)	-	4,5 mois

[31] Pour être considérées *a priori* comme intéressantes, ces substances actives répertoriées devaient être efficaces au moins sur les diptères, si ce n'est sur les moustiques.

[32] Intégré depuis 2010 dans le panel des insecticides utilisables contre les moustiques, le spinosad n'a en fait, jamais été utilisé par les opérateurs publics de démoustication ou de lutte antivectorielle ; ce qui fait que ce produit ne pourra plus être utilisé en France à partir de novembre 2013 ; l'industriel qui fabrique ce produit ne redéposant pas de dossier de mise sur le marché.

[33] *Bacillus thuringiensis* var *israelensis.*

[34] C'est-à-dire lorsque les larves arrivent à l'âge adulte (stade imaginal).

À La Martinique, cette recherche de nouveaux candidats larvicides s'inscrit dans une démarche intégrée. Sur vingt-deux espèces de moustiques répertoriées, seules six se nourrissent du sang de l'homme, dont tout particulièrement le moustique femelle *Aedes aegypti.* Elles sont dites « anthropophiles ». Parce qu'inféodées à l'homme, ces espèces sont quasiment devenues « domestiques », c'est-à-dire qu'elles vivent près des zones d'habitation. Leurs gîtes larvaires sont donc créés et entretenus artificiellement par l'homme (Ex. dessous de pots, vases, fûts de récupération d'eau, citernes, vieux pneus, gouttières…). C'est pourquoi, la stratégie de lutte antivectorielle s'appuie sur une approche communautaire originale autour d'une opération « Toussaint »[35] et de campagnes de mobilisation mises en place par le Conseil Général de La Martinique et l'Agence Régionale de Santé (ARS) contre le moustique, comme la 5ème journée de mobilisation, le 19 juin 2012 : « Nou tout' konserné ! »

L'équipe :

Institut de recherche pour le développement (IRD)
Frédéric Darriet, Sébastien Marcombe, Michel Tolosa, Stéphane Duchon, Philip Agnew, Fabrice Chandre et Vincent Corbel
Centre de Démoustication, Conseil Général de la Martinique/ARS, Fort de France, Martinique
André Yébakima, Manuel Etienne, Marie Michelle Yp-Cha

Durée : 3 ans

Financement : 310 K€ (HT)

Contact : frederic.darriet@ird.fr

Le savez- vous ?

La dengue (prononcez « dingue »), aussi appelée « grippe tropicale », est une maladie virale transmise à l'homme par des moustiques du genre Aedes : *Aedes aegypti* essentiellement, *Aedes albopictus* et *Aedes polynesiensis.* La dengue est due à un arbovirus ; c'est l'arbovirose la plus répandue dans le monde. Elle se manifeste « classiquement » avec l'apparition brutale d'une forte fièvre (> 38,5° C.), accompagnée de maux de tête et de douleurs articulaires et musculaires. D'autres symptômes peuvent également survenir : éruptions cutanées (des membres inférieurs en particulier), des nausées et des vomissements qui peuvent éventuellement s'intensifier pour des raisons méconnues et mettre en jeu le pronostic vital (au moins 2,5 % des cas, d'après l'OMS). C'est une maladie qui progresse de manière très importante depuis quelques années. Fin septembre 2009, la dengue aurait touché près de 3.000 personnes en Polynésie française. Puis, à l'automne 2010, la Guadeloupe et la Martinique ont connu à leur tour, une épidémie de dengue avec plus de 40.000 personnes infectées, dont 5.500 cas confirmés par l'InVS. Parallèlement, le « premier cas de dengue autochtone » était recensé par le Ministère de la Santé en métropole. La dengue est devenue une préoccupation de santé publique, majeure depuis plus d'une dizaine d'années, dans les départements français d'Amérique, à La Réunion et dans la région Pacifique. Depuis le début de l'année, une nouvelle épidémie sévit à Saint-Martin, causant d'après l'Agence régionale de santé (ARS) de Guadeloupe un premier décès, le 26 juin dernier. D'où l'importance réitérée de la lutte antivectorielle et de sa maîtrise, en l'absence de vaccin ou de tout traitement spécifique.

[35] Le jour de la Toussaint est un moment très fort pour les Martiniquais qui commémorent « leurs » morts en déposant sur les tombes, des vases à fleurs susceptibles de se transformer en gîtes larvaires. L'objectif pour les services de démoustication est de les convaincre de remplacer l'eau par du sable mouillé – ce dernier empêchant le développement des moustiques.

La résistance aux biocides

Un requis réglementaire

Les produits biocides, dont font partie certains produits insecticides et antiparasitaires, contiennent des substances actives qui doivent être évaluées selon la réglementation en vigueur[36].

Il s'agit d'assurer aux citoyens, consommateurs et professionnels, un niveau de protection élevée pour leur santé, ainsi qu'un niveau de protection important envers les animaux et l'environnement. De même, il est nécessaire de s'assurer que les produits biocides mis sur le marché soient suffisamment efficaces aux doses d'emploi préconisées, mentionnées sur les étiquettes ou les fiches techniques.

Pour qu'un produit puisse être mis sur le marché, dès lors que la ou les substances qui le constituent aient été approuvées dans l'espace européen, il est requis, en plus des obligations de sécurité sanitaire et environnementales, de veiller à ce qu'il soit suffisamment efficace, qu'il n'y ait pas d'effet inacceptable sur les organismes cibles, en particulier une résistance ou une résistance croisée inacceptable, ou des souffrances et des douleurs inutiles chez les vertébrés.



www.helpdesk-biocides.fr

Ainsi, dans le cadre des évaluations des dossiers biocides par la direction des produits réglementés, une évaluation systématique des aspects résistance est réalisée sous la forme d'une analyse des données disponibles dans la littérature et/ou d'études spécifiques fournies à l'appui des dossiers soumis à l'Anses. Le cas échéant, des mesures de gestion de la résistance peuvent être proposées dans les avis rendus par l'Anses pour l'autorisation d'une mise sur le marché d'un produit.

L'Anses veille à ce que les résistances aux produits insecticides ou antiparasitaires soient maitrisées lors de l'octroi des autorisations de mises sur le marché de ces produits biocides.

[36] Règlement (UE) 528/2012 en vigueur depuis le 1/09/2013 remplaçant la directive 98/8/CE.

La résistance aux produits phytosanitaires

Le paysage agricole et forestier français est en constante évolution sous les pressions liées à l'augmentation de la fréquence du commerce mondial, le changement climatique global, la modification des itinéraires techniques, liée notamment à la nouvelle politique agricole intégrant la notion d'agro-écologie et les évolutions règlementaires qui visent à favoriser l'utilisation des produits de bio-contrôle et à réduire l'utilisation des autres pesticides (en nombre et en quantité). Certains de ces facteurs sont susceptibles d'augmenter les risques d'introduction de nouveaux agents pathogènes et ravageurs en France et d'autres d'induire potentiellement, l'émergence de nouvelles problématiques phytosanitaires.

La directive européenne 91/414/CE du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des **produits phytosanitaires**, les définit comme : « Les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action,
- exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (il s'agit par exemple des régulateurs de croissance),
- assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que ces substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs,
- détruire les végétaux indésirables,
- détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux. »

Les travaux portant sur la compréhension de la **résistance aux produits phytosanitaires** montrent l'importance des phénomènes d'évolution des génomes des bio-agresseurs, notamment sous la pression de sélection générée par les traitements et la capacité de développement des souches résistantes en absence de pression de sélection. L'identification de marqueurs génétiques particuliers contribue à l'élaboration d'outils de caractérisation moléculaire très utiles à l'analyse épidémiologique des phénomènes en cours, au sein des populations de bio-agresseurs.



Abricot atteint par la Sharka - Variole des Prunus ou Plum Pox virus
(Source : John Hammond, Département américain de l'Agriculture)

L'Unité Résistance aux produits phytosanitaires (RPP) a pour mission l'étude des phénomènes de résistance qui émergent chez les principaux bio-agresseurs des cultures (champignons, bactéries, insectes ou mauvaises herbes) vis-à-vis des produits autorisés pour les combattre. Au sein du laboratoire de l'Anses-Lyon, c'est un acteur majeur du plan de surveillance des résistances puisqu'elle est en charge d'une très grande partie des analyses (détection des souches résistantes et mesure des niveaux de résistances de ces souches à partir d'échantillons prélevés sur le territoire national par le réseau de Surveillance Biologique du Territoire). Ses objectifs pour 2014 vont être déclinés selon quatre axes :

- Poursuivre le renforcement de l'activité de référence en axant l'activité de l'unité sur la recherche de la sensibilité de base de divers bio-agresseurs vis-à-vis de nouvelles familles de substances actives ainsi que sur la formalisation des méthodes ;
- Consolider l'activité de recherche sur deux sujets d'intérêt : *Myzus persicae* (puceron vert du pêcher)[37], *Botrytis cinerea* (champignon phytopathogène) ;
- Poursuivre et intensifier la collaboration avec l'unité Évaluation de l'Efficacité des Intrants du végétal de la Direction des produits réglementés (Anses) ;
- Poursuivre et renforcer la collaboration avec les unités de l'Institut national de la recherche agronomique (INRA) qui travaillent sur les résistances, grâce au réseau R4P (Réseau de réflexion et de recherche sur les résistances aux pesticides).

Le savez- vous ?

Toute demande d'autorisation de mise sur le marché d'un produit phytosanitaire conduit à l'évaluation du risque d'apparition ou de développement de résistance (cf. Règlement 1107/2009 en vigueur). Si ce risque de résistance est avéré, une stratégie de gestion de la résistance est déployée ainsi qu'un suivi de la résistance des populations cibles.

[37] Voir article p. 24

La résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher

Étude des allèles de résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher (Myzus persicae) et de leur dispersion spatio-temporelle dans diverses cultures

Lise ROY, Séverine FONTAINE, Maurice HULLÉ, Laetitia CADDOUX, Christine BRAZIER, Éric MORIGNAT, Annie MICOUD, Didier CALAVAS et Jean-Christophe SIMON

Mots-clés : puceron vert, *Myzus persicae,* insecticides, allèles de résistance, flux de gènes, colza, pêcher

Le puceron vert du pêcher *(Myzus persicae)* est un insecte polyphage, c'est-à-dire qu'il est capable de coloniser plus de 400 espèces végétales sauvages ou cultivées dont le pêcher, le colza, la pomme de terre et la betterave. Ce caractère polyphage, doublé d'une grande capacité de migration entre les différentes cultures-hôtes fait qu'une population rendue résistante à un insecticide suite à des traitements répétés sur un type donné de culture est susceptible de coloniser ensuite d'autres types de culture et d'y exporter sa résistance.



Myzus persicae
(Auteur : Scott Bauer)

Myzus persicae occasionne des dégâts directs (Ex. flétrissement des feuilles, souillures…) qui peuvent diminuer les récoltes et les rendre impropres à la commercialisation. Mais, surtout, il peut transmettre de nombreux virus sur diverses cultures agricoles : betterave, colza[38], pêcher[39], pomme de terre[40]… Plus de 120 virus ont été répertoriés.

Les résistances aux insecticides

Les carbamates et les pyréthrinoïdes sont utilisés depuis longtemps sur les cultures colonisées par le puceron vert du pêcher ; les néonicotinoïdes ont été introduits dans les années 1990 sur le pêcher et beaucoup plus récemment sur des cultures comme le colza.

Des phénomènes de résistance aux insecticides ont été clairement identifiés. Ils relèvent de deux mécanismes principaux :

- ***Une résistance métabolique***, qui correspond à une surproduction d'enzymes capables d'intercepter et de dégrader les molécules insecticides dans le corps de l'insecte, avant même qu'elles agissent.
- ***Des résistances de cible,*** qui apparaissent quand une mutation affecte l'une des protéines ciblées par l'insecticide. L'insecticide agit normalement en inhibant, modulant ou exacerbant le fonctionnement d'une protéine dont le rôle est vital pour l'animal.

Laboratoire de Lyon, Anses

[38] Jaunisse occidentale de la betterave (BWYV), mosaïques du navet (TuMV) et du chou-fleur (CaMV).
[39] Virus de la Sharka (Plum Pox Virus (PPV) ou « variole » des *Prunus*) qui affecte le rendement et la qualité de la récolte et qui est classé comme virus réglementé à lutte obligatoire : voir illustration p. 22
[40] Virus de l'enroulement (PLRV) et Virus Y (PVY) sur pomme de terre.

En cas de résistance de cible, la protéine est modifiée de telle sorte que l'insecticide ne peut plus interférer avec. Ce dernier mécanisme peut être très efficace, en diminuant de milliers de fois l'efficacité de l'insecticide. C'est le cas, par exemple, de l'allèle[41] mutant « *Mace* »[42] qui rend le puceron résistant aux carbamates. De même, des mutations (appelées kdr ou super-kdr) modifient des protéines membranaires des neurones impliquées dans la propagation de l'influx nerveux et rendent le puceron résistant aux pyréthrinoïdes.

On a observé que la fréquence de ces allèles de résistance peut rapidement évoluer au sein des populations. Ainsi, l'allèle Mace qui n'était présent que chez 1% des individus de *Myzus persicae* vivant sur colza en 2001 s'est avéré présent dans 80 % en 2009. De plus, la très grande majorité des pucerons résistants aux carbamates se sont également révélés résistants aux pyréthrinoïdes, via une seconde mutation détectée récemment.

Un enjeu important pour contrôler ce ravageur de manière plus efficace et plus respectueuse de l'environnement est de comprendre comment les résistances peuvent se propager. Cette propagation pourrait être facilitée par le caractère polyphage du puceron vert du pêcher associé à sa capacité de migration d'une espèce végétale à une autre, mais aussi par son mode de reproduction. *Myzus persicae* peut se reproduire de façon sexuée (l'individu a des gènes en provenance de ses deux parents et il y a recombinaison) ou asexuée (l'individu hérite seulement des gènes de sa mère – il s'agit de clonage) dans des proportions qui varient selon les populations. Si le premier mode de reproduction introduit de la diversité génétique, le second permet à un même individu d'engendrer rapidement une colonie importante d'individus identiques (ou clones).

Le projet de recherche : *disperMyz*

Dès lors, deux principales questions se posent :

1. Comment les changements drastiques dans la fréquence des allèles résistants constatés entre 2001 et 2009 s'expliquent-ils ?

2. Dans quelle mesure et à quelle échelle géographique peut se faire la dissémination de ces résistances ?

Pour répondre à ces questions, il est important de connaître les facteurs qui influencent l'émergence et la propagation des populations résistantes. Cela implique les questionnements suivants : le puceron vert du pêcher est-il véritablement polyphage ou cette espèce comprend-t-elle des populations plus spécialisées que d'autres sur telle ou telle culture ? Quels rôles respectifs jouent l'agencement des parcelles d'espèces végétales diverses à l'échelle du paysage, l'historique cultural et l'historique des pressions exercées par les divers insecticides et le taux de recombinaison dans la dispersion des cohortes de résistance ?



Parcelle de colza
(Auteur : Daniel Schwen)

Le projet *disperMyz* visera à déterminer le scénario à l'origine de l'émergence et de la propagation massive en une décennie, d'un génotype doublement résistant au sein des parcelles de colza françaises et à caractériser d'une manière générale les processus

[41] Variante d'un gène.
[42] Abréviation qui signifie en anglais : « *Modified acetylcholinesterase* », responsable d'une perte de sensibilité aux carbamates.

de la sélection par les insecticides ainsi que les routes de dispersion des populations résistantes chez cette espèce.

Pour ce faire, des pucerons prélevés dans des parcelles de cultures d'espèces végétales différentes, à plusieurs échelles géographiques (parcelle, groupe de parcelles, région, pays) et à différents moments (prélèvements aériens au cours de saisons et d'années différentes) seront génotypés à l'aide de marqueurs génétiques neutres (microsatellites) et de marqueurs sélectionnés (génotypes de résistance).

L'analyse de la structure génétique de ces populations permettra notamment de mesurer les flux de gènes entre cultures différentes et en fonction de la distance géographique. La confrontation entre données génétiques et informations associées aux prélèvements (type de culture, localisation, traitements pesticides appliqués, cultures adjacentes/antérieures…) permettra d'identifier les principaux facteurs responsables des modèles (patterns) mis à jour.

Cette étude visera (i) à mieux comprendre comment les échanges de pucerons entre cultures et le brassage génétique contribuent à la propagation des cortèges de résistance chez le puceron vert du pêcher, et (ii) à identifier les facteurs influençant le plus la dispersion des résistances. A terme, l'objectif est d'améliorer l'estimation des risques d'émergence de résistances dans les différentes cultures.

Les équipes :

Annie Micoud, Didier Calavas et Paul Martin
Laboratoire Anses de Lyon, Unité Résistance aux Produits Phytosanitaires et Unité Epidémiologie
Jean-Christophe Simon, Maurice Hullé et Denis Tagu
Inra Rennes UMR 1349 IGEPP
Lise Roy et Jean-Pierre Lumaret
Université Paul Valéry Montpellier III - Laboratoire de Zoogéographie - UMR CEFE 5175

Les partenaires associés :

CETIOM (Centre technique interprofessionnel des oléagineux et du chanvre)
Chambre d'Agriculture Drôme
SEFRA (Station expérimentale fruits de Rhône-Alpes)
ANITTA (Association nationale interprofessionnelle et technique du tabac)

Durée : un an (du 1er octobre 2013 au 30 septembre 2014)

Financement : France Agrimer

Contacts : annie.micoud@anses.fr et lise.roy@univ-montp.fr

Le savez-vous ?

Le terme pesticide, dérivé du mot anglais « *pest* » (« ravageurs »), désigne les substances ou les préparations utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables, qu'il s'agisse de plantes, d'animaux, de champignons ou de bactéries.

Les interactions entre les parasites et leurs hôtes

D'après la définition du naturaliste Amédée Louis Michel Lepeletier[43], « le parasite est celui qui vit aux dépens d'autrui en mangeant son bien et non sa nourrice même ». C'est un être vivant, qui se nourrit donc aux dépens d'un autre organisme appelé « *hôte* » (à l'intérieur ou à l'extérieur de ce dernier), sans « *intention* » de le tuer (Ex. le mildiou de la vigne, le ténia de l'homme…).

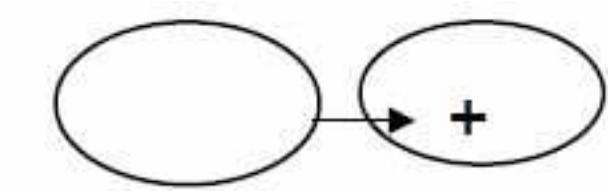
Contrairement au prédateur, le parasite est généralement plus petit que sa « proie ». Dans son propre intérêt, il ne tue pas son hôte ; sinon, il disparaîtrait. Néanmoins, cet équilibre naturel et biologique est fragile ; il arrive que des parasites finissent par devenir nocifs comme les nématodes qui s'enkystent dans le tube digestif des chevaux[44] et des bovins provoquant diarrhée et/ou constipation, une perte de protéines ou une anémie.

Par convention, en médecine humaine et vétérinaire, on appelle « parasite » : un protozoaire (un organisme unicellulaire comme par exemples, les amibes et les coccidies[45]) ou un métazoaire (un organisme pluricellulaire comme par exemples, les vers ronds intestinaux et le sarcopte de la gale). Ce sont des organismes, autres que les bactéries, les champignons et les virus. Les parasites peuvent entraîner des réactions locales ou entraîner des maladies appelées « parasitoses ». Chez l'homme par exemple, la toxoplasmose ou le paludisme sont des parasitoses.

Il existe différentes possibilités d'interactions entre parasite et hôte, dont le commensalisme.

Le commensalisme

Le parasite commensal profite de son hôte (humain et/ou animal) en se nourrissant des matières organiques produites par lui, sans le détruire ni le déranger. Par exemple, la présence de poux passe inaperçue, au début.



[43] Entomologiste Français (1770-1845) Auteur de l'*Histoire naturelle des insectes hyménoptères paru en 1836.*
[44] Voir article p. 28
[45] Voir article p. 31

La résistance aux vermifuges des parasites digestifs des chevaux

La résistance aux anthelminthiques des nématodes parasites du tractus digestif du cheval : exemple de Parascaris equorum

Claire LAUGIER

Mots-clés : cheval, parasites digestifs, nématodes, *Parascaris equorum,* anthelminthiques

Comme les humains, les animaux peuvent héberger des parasites qui affectent leur santé. Chez les équidés, les animaux au pâturage et les jeunes sont les principales cibles des parasites du tractus digestif. Le contrôle efficace de ces parasitoses est une nécessité pour préserver leur santé. Pendant presque un demi-siècle, il a reposé principalement sur l'administration régulière aux chevaux de médicaments vermifuges. Suite à la large utilisation de ces principes actifs, les vingt dernières années ont vu l'émergence puis l'extension de populations de parasites digestifs équins résistantes à diverses classes d'anthelminthiques. En France, la présence de cyathostomes (ou petits strongles) résistants à la famille chimique des benzimidazoles a été démontrée dès 1998 et plus récemment celle d'ascaris résistants à l'ivermectine (famille chimique des lactones macrocycliques). Il est maintenant indispensable d'avoir recours à des méthodes de contrôle durables qui ne soient plus fondées exclusivement sur la répétition des traitements.



Les vers adultes de Parascaris equorum sont de grande taille et se localisent à l'intestin grêle du poulain. (Crédit photo : Anses, Laboratoire de pathologie équine de Dozulé)

L'ascaris du cheval, *Parascaris equorum*

L'ascaridose du cheval est due à *Parascaris equorum*. Cette affection parasitaire est très répandue et atteint principalement les jeunes animaux de moins de 2 ans. *Parascaris equorum* est un nématode (ou vers rond) ; les individus adultes de cette espèce peuvent mesurer jusqu'à 37 cm de long et sont donc, de loin, les vers les plus volumineux observés chez les équidés. Les chevaux s'infestent par ingestion d'aliments contaminés par des œufs renfermant des larves. Après ingestion, les œufs libèrent les larves infestantes dans l'intestin grêle ; elles traversent la paroi intestinale et entament une migration passant par le foie puis elles gagnent les poumons par voie circulatoire (via le cœur droit) :

- Le passage des larves au niveau pulmonaire peut entraîner des signes cliniques respiratoires, principalement de la toux et/ou du jetage nasal. Des complications de bronchite ou de pneumonie sont parfois observées. ;
- Dans l'intestin grêle, les vers adultes présents en grand nombre entrent en compétition avec leur hôte pour l'absorption de nutriments essentiels (vitamines, oligo-éléments, calcium…) et causent chez les jeunes animaux, un retard de croissance, un mauvais état général, des troubles ostéo-articulaires ou tendineux. Ils sont également à l'origine de coliques ou de diarrhée voire d'obstruction intestinale suite à la formation d'amas volumineux. Les vers femelles fécondées pondent jusqu'à 200.000 œufs par jour qui sont éliminés dans les crottins. Ces œufs sont très résistants dans le milieu extérieur où ils peuvent persister pendant plusieurs années.

Les fèces de 455 poulains issus de 15 haras normands ont été analysées (comptage des œufs de parasites digestifs) afin de connaitre la fréquence d'infestation par *Parascaris equorum.* On constate ainsi que, suivant l'élevage, entre 7 et 76% des poulains sont contaminés. Ces chiffres sont du même ordre de grandeur que ceux observés et publiés dans des haras d'autres grandes régions d'élevage (USA, Allemagne, Suède, Pologne).

Des résistances à l'ivermectine

Il existe des vermifuges efficaces contre *Parascaris equorum.* L'un des plus utilisés a pour principe actif l'ivermectine. Dans certains grands élevages de chevaux, les poulains sont vermifugés toutes les 4 à 8 semaines jusqu'à l'âge de 18 mois avec un usage très fréquent voire exclusif d'ivermectine au cours des 6 à 8 premiers mois. L'une des questions qui se posaient était la possible apparition de *Parascaris equorum* résistant à l'ivermectine. Dans trois des 15 haras normands qui ont servi pour analyser la fréquence de ce parasite, on a observé des échecs de traitement à l'ivermectine. Pour ces trois établissements, des tests de résistance ont été menés, afin de confirmer que l'échec du traitement était bien dû à l'apparition de résistances.

La présence de nématodes parasites au stade adulte dans le tractus digestif des chevaux peut être diagnostiquée à l'aide d'examens coproscopiques[46]. La méthode quantitative consiste à diluer une petite quantité de fèces dans un liquide de densité élevée, de filtrer la solution obtenue de manière à éliminer les particules indésirables puis de placer 0,5 ml de la solution filtrée dans une lame en verre spéciale comportant deux grilles de lecture. Ces grilles sont utilisées pour un comptage des œufs au microscope. Les résultats obtenus permettent de confirmer une infestation mais également d'estimer sa gravité selon le nombre d'œufs, plus ou moins grand, mesuré.

La technique de dépistage de la résistance mise en œuvre s'appelle le test de réduction du nombre d'œufs. L'objectif est de comparer pour un lot de chevaux entretenus ensemble dans les mêmes conditions, le nombre d'œufs d'une espèce parasitaire donnée excrétés dans les crottins avant et après le traitement. La réduction du nombre d'œufs observée après traitement (exprimée en pourcentage) permet d'évaluer l'efficacité du principe actif sur les vers adultes à l'origine de ces œufs. Pour *Parascaris equorum*, le traitement sera considéré comme efficace si la réduction du nombre d'œufs est au moins égale à 90%. Ainsi, pour mettre en œuvre ce test de dépistage, il est nécessaire de pratiquer deux examens coproscopiques quantitatifs, l'un juste avant la vermifugation et l'autre 10 à 14 jours après.

Les cas de résistance au traitement ont été confirmés. Dans les trois élevages concernés, on a en effet observé en moyenne une réduction du nombre d'œufs de *Parascaris equorum* de seulement 50%. Pour certains poulains, le traitement était même totalement inefficace. De telles résistances ont déjà été mises en évidence aux Etats Unis et dans d'autres pays européens. Elles concernent l'ivermectine mais aussi d'autres molécules.

Perspectives

L'apparition de résistances aux anthelminthiques semble inéluctable, et comme pour les autres types de résistances, il est nécessaire de modifier les pratiques afin de retarder le développement de résistance vis-à-vis de nouvelles molécules ou de limiter leur extension géographique. De manière générale et sans considérer une espèce parasitaire en particulier, on peut conseiller :

- Une limitation du nombre de traitements et un usage ciblé des anthelminthiques en faisant notamment appel à des examens coproscopiques pour ne traiter que les animaux dont le niveau d'infestation le justifie ;
- La préservation de populations de vers sensibles (vers non exposés aux traitements) dans les élevages ;
- La mise en place de mesures non « chimiques » pour limiter la dissémination des éléments infestants et les risques de ré-infestation, par exemple : nettoyage et désinfection réguliers des écuries et de leurs équipements (mangeoires,

[46] Étude des selles en laboratoire.

- abreuvoirs), ramassage des crottins sur les herbages deux fois par semaine, éviter une densité excessive d'animaux sur les parcelles (surpâturage), favoriser un pâturage mixte raisonné, broyer et herser les parcelles par temps chaud et sec…
- Un usage alterné des familles d'anthelminthiques (mécanismes d'action différents) sous réserve que leur efficacité ait été prouvée dans l'élevage.

La résistance aux anticoccidiens utilisés en volaille

Résistance aux antiparasitaires, notamment aux anticoccidiens utilisés en volaille

Jean-Michel REPÉRANT

Mots-clés : coccidies, coccidioses, dinde, *Eimeria*, poulet, sulfaquinoxaline, tube digestif

Parmi les infections parasitaires (parasitoses) qui constituent un problème récurrent dans beaucoup d'élevage avicoles, figurent les coccidioses. Ces infections se traduisent par l'accumulation dans l'intestin d'organismes unicellulaires du genre *Eimeria*, les coccidies. Il existe sept espèces de coccidies qui peuvent affecter les poulets, dont cinq pouvant engendrer des manifestations cliniques.

Les coccidies pathogènes

Les coccidies sont des parasites obligatoires c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'un hôte pour se développer. Ainsi, elles infectent les cellules de l'appareil digestif du poulet, utilisent les nutriments qu'elles contiennent pour se multiplier et se reproduire, les détruisent et les œufs (appelés oocystes) sont évacuées dans l'environnement via les déjections. Un fois dans l'environnement, deux à trois jours de maturation sont alors nécessaires pour que les oocystes acquièrent le pouvoir de coloniser les cellules de l'hôte. Et le cycle infernal recommence : ingestion par les volailles, multiplication, destruction des cellules, etc. Un cycle qui amplifie rapidement le nombre de coccidies dans l'élevage.

Les coccidies survivent très facilement dans l'environnement quelles que soient les conditions de température et d'humidité et même après des désinfections méticuleuses. Ce sont des pathogènes opportunistes[47], qui ne provoquent de troubles chez l'animal que si la décontamination du poulailler est insuffisante pour limiter leur nombre, si la prophylaxie est défaillante ou si les volailles sont affaiblies.

Plus le nombre de cellules du tube digestif altérées par les coccidies est grand, plus la digestion du poulet est perturbée. Les animaux ont une croissance ralentie, voire perdent du poids et sont victimes de diarrhées : d'où une augmentation importante de l'indice de consommation (IC)[48] de l'élevage et des répercussions économiques énormes. À ces problèmes s'ajoutent une prostration des animaux avec position en boule, des plumes ébouriffées, des ailes tombantes et l'œil fermé. Les éleveurs doivent être attentifs à ces signes pour intervenir avant que 10 % de la bande[49] ne présentent des symptômes.



Symptômes chez le poulet
(Auteur : Jean-Michel Repérant)

Laboratoire de Ploufragan/Plouzané - Anses

[47] Les bactéries dites « pathogènes opportunistes » n'infectent leurs hôtes que si leur état de santé est fragilisé.

[48] IC = Aliment consommé/poids vif. C'est le rapport entre la quantité d'aliment consommée pour obtenir une production animale exprimée en Kg.

[49] Technique d'élevage qui consiste à remplir en une seule fois un bâtiment d'élevage avec des animaux du même âge, du même poids et du même stade physiologique.

Comment lutter contre les coccidioses ?

Chez le poulet, la prévention fait appel à des additifs « coccidiostatiques » ajoutés à leur alimentation ou à l'utilisation de vaccins anticoccidiens. Ils sont incorporés sous forme de prémix contenant les principes actifs de manière à obtenir une concentration finale telle qu'autorisée par le Règlement européen 1831/2003. Mais cette réglementation est de plus en plus stricte et limite l'incorporation de ces additifs mis préventivement dans l'aliment.

Deux solutions s'offrent donc aux éleveurs. Soit ils distribuent des aliments contenant préventivement des anticoccidiens de la naissance à la semaine précédent l'abattage, soit ils utilisent des vaccins formés de souches vivantes atténuées qui stimulent les défenses immunitaires du poulet contre les coccidies. Lors d'apparition de coccidiose dans les élevages, ils peuvent également utiliser des médicaments vétérinaires actifs contre les coccidies (toltrazuril, amprolium, sulfamides) distribués dans l'eau de boisson pour une action plus rapide.

L'émergence de souches résistantes

Depuis l'introduction en 1948 de la sulfaquinoxaline[50] pour la prévention et le traitement de la coccidiose chez les poulets et les dindes, tous les anticoccidiens se sont heurtés à des phénomènes de résistance après quelques mois ou quelques années d'utilisation. Suite aux travaux de H. D. Chapman[51] qui a fait la synthèse sur les résistances et les moyens de les appréhender, nous avons des modèles de reproduction expérimentale de la coccidiose chez plusieurs volailles (poulet, dinde, pintade…) qui nous permettent d'évaluer la résistance d'isolats de coccidies collectés sur le terrain et de travailler en partenariat avec les comités interprofessionnels.

[50] Autorisée comme médicament vétérinaire mais pas comme additif coccidiostatique.

[51] H.D. Chapman, *Perspectives for the control of coccidiosis in poultry by chemotherapy and vaccination*, *International Coccidiosis Conference, Brazil,* 2005.

Les résistances aux antibiotiques

Les bactéries (gr. *bâkteria*, bâtonnet) sont des micro-organismes vivants, formés le plus souvent d'une seule cellule. Elles sont présentes dans tous les milieux, sous des formes très variées (sphériques, allongées…) et jouent un rôle essentiel dans le recyclage de la matière organique qui compose tous les êtres vivants. Dans la nature, beaucoup vivent en symbiose avec les organismes qui les abritent. On en dénombre plusieurs milliards, commensales à l'homme[52] ; elles vivent à notre contact (convives) et participent à notre défense immunitaire. D'autres peuvent provoquer des maladies chez les végétaux et les animaux ; elles sont dites « pathogènes ».

Les bactéries et les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances naturelles ou synthétiques qui détruisent les bactéries ou empêchent leur croissance. Leur histoire a réellement commencé en 1928 avec la découverte de la pénicilline, par Sir Alexander Fleming. Il ouvre une voie nouvelle dans le traitement d'infections bactériennes provoquées notamment par le pneumocoque : méningites, otites et pneumonies. L'émergence de la médecine microbienne et l'utilisation de nouvelles thérapies, pendant la Seconde Guerre Mondiale, conduit à l'industrialisation à grande échelle des pénicillines et d'autres antibiotiques tels les céphalosporines de première génération. De leur côté, les Allemands entrevoient des applications pharmaceutiques de tout premier ordre, pour les sulfamides qui valurent au bactériologiste Gerhard Domagk (1895-1964), le prix Nobel de physiologie ou médecine en 1939.

Dès les années 1950, les recherches sur les antibiotiques sont encouragées, rendant possible le traitement de maladies parfois considérées comme incurables. Les antibiotiques apparaissent capables de lutter contre une grande variété de germes chez l'homme et l'animal. Parfois associés à d'autres médicaments et/ou combinés à la vaccination, ils permettent de soigner de grandes maladies infectieuses (dysenterie bactérienne, fièvre typhoïde, lèpre, peste, tuberculose, typhus…) mettant en jeu, la vie des patients. C'est le cas de molécules comme les macrolides (contre les infections pulmonaires atypiques dont la légionellose) ou les fluoroquinolones (contre les infections bactériennes des voies urinaires dont la pyélonéphrite aiguë).

Du côté des pays riches, on a pu croire que la prévalence élevée des maladies infectieuses (charbon, choléra, peste, syphilis, tuberculose…) faisait désormais partie du passé - le développement des antibiotiques ayant permis de sauver de nombreuses personnes. On voit alors apparaitre la promesse d'un monde où les infections bactériennes seraient maîtrisées. Les antibiotiques sont alors massivement utilisés en médecine humaine comme en médecine vétérinaire. Ils le sont parfois à des fins préventives. De plus on découvre qu'ils accélèrent la croissance du bétail et sont alors utilisés comme facteurs de croissance.

Parmi les pays européens, la France était sur la première marche du podium au début des années 2000 pour l'utilisation des antibiotiques chez l'homme. Elle comptait environ 100 millions de prescriptions par an, dont 80 % en ville.

Les grandes familles d'antibiotiques

Les antibiotiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire appartiennent à différentes familles et sous-familles, communes à l'homme et à l'animal, à quelques exceptions près.

[52] 10^{12} bactéries colonisent la peau, 10^{10} bactéries colonisent la bouche et 10^{14} bactéries colonisent l'intestin.
(cf. www.textbookofbacteriology.ne)

- ***Les bêta-lactamines***

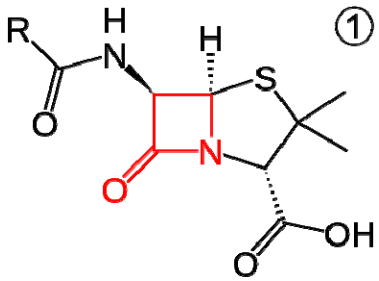
Ce sont les molécules les plus utilisées. Elles comprennent deux sous-familles : les pénicillines et les céphalosporines. Ces molécules possèdent un noyau (cycle bêta-lactame) qui a un effet létal sur les bactéries en perturbant une protéine dont le rôle est de maintenir la cohésion de la paroi cellulaire. Pour se défendre, certaines bactéries fabriquent des bêta-lactamases, enzymes qui détruisent le cycle béta lactame.

- ***Les pénicillines***

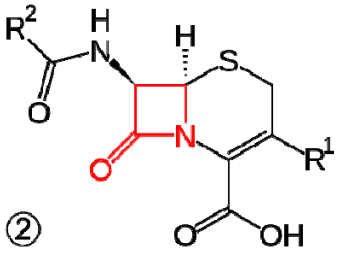
Depuis des siècles, on a attribué aux moisissures le pouvoir de lutter contre les infections. Ainsi les bergers du Causse employaient traditionnellement le roquefort pour soigner les plaies infectées. En 1922, Alexandre Fleming confirme ces savoirs traditionnels en découvrant accidentellement que la pénicilline, une substance naturelle fabriquée par la moisissure *Penicillium notatum*, possède des propriétés antibactériennes. Au début des années 1940, l'utilisation à grande échelle de cette substance se développe. D'autres substances proches sont introduites dans les décennies qui ont suivi les années comme l'amoxicilline.

- ***Les céphalosporines***

Ce sont des substances d'origines naturelles. Une première molécule a été isolée à partir de cultures de *Cephalosporium acremonium* en 1948 par Giuseppe Brotzu. Cette molécule apparue comme efficace contre la bactérie responsable de la fièvre typhoïde. Depuis, d'autres générations de céphalosporines ont été développées (on en est à la quatrième). D'abord administrées en prophylaxie chirurgicale, les céphalosporines sont devenues fréquemment utilisées en ville. Avec l'émergence de résistances, elles posent aujourd'hui un problème en milieu hospitalier et forment une famille « critique » pour la médecine humaine.



Structure des pénicillines.



Structure des céphalosporines

Le cycle bêta-lactame est en rouge

- ***Les aminosides***

Les aminosides sont dérivés des actinomycètes, bactéries qui jouent un rôle important dans la vie du sol, décomposant des matières organiques. Ces molécules perturbent la synthèse des protéines de certaines bactéries, ce qui entraine leur mort. Le premier membre de cette famille, la streptomycine fut découverte en 1943. Ces molécules présentent un intérêt thérapeutique dans les infections sévères comme des tuberculoses résistant aux antibiotiques habituels mais elles doivent être utilisées avec précaution compte tenu de leur toxicité.

- ***Les macrolides***

Le premier membre de cette famille, l'érythromycine fut isolée en 1949 à partir d'une bactérie présente dans des échantillons de sols. Les macrolides agissent en bloquant la synthèse des protéines dans les bactéries. Les macrolides ont un intérêt thérapeutique dans le traitement des angines, des broncho-pneumopathies et de nombreuses infections oto-rhino-laryngologiques : administrées en première intention, surtout chez les enfants.

- ***Les quinolones et fluoroquinolones (FQ)***

Dérivés de la quinoléine, les quinolones sont des antibiotiques obtenus par synthèse chimique. Le premier membre de cette classe, l'acide nalidixique, a été découvert en 1962. Ces molécules s'attaquent à l'ADN des bactéries par plusieurs mécanismes, ce qui entraine la mort cellulaire. Dans les années 1970, l'ajout d'un atome

de fluor a permis d'élargir considérablement leur spectre d'action (jusqu'à 200 fois plus). Certains dérivés sont inscrits sur la liste des « médicaments essentiels » dressée par l'OMS.

- ***Les sulfamides***

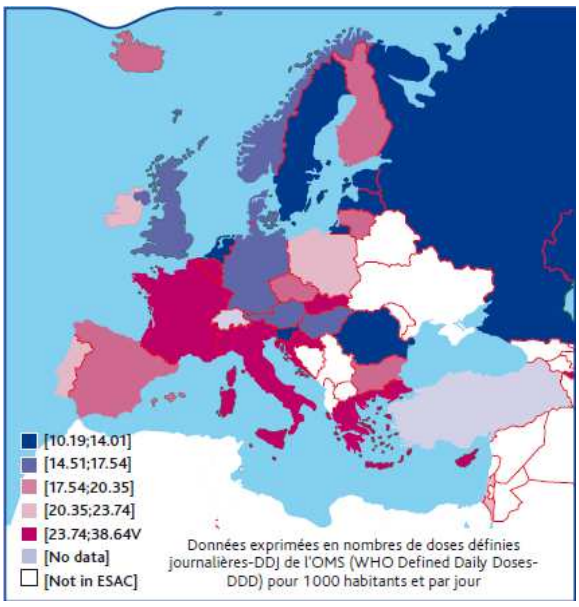
Ces substances soufrées ont été les premiers antibiotiques massivement utilisé avant la pénicilline. Les molécules possèdent une action antibactérienne qui a été découverte dans les années 1930. Elles bloquent la synthèse de l'acide folique (vitamine B9) indispensable aux bactéries pour synthétiser les bases nucléiques (constituants de l'ADN et de l'ARN). Ces molécules sont actives contre diverses bactéries : gonocoque, méningocoque, pneumocoque, staphylocoque, streptocoque ont été abandonnés à cause de leurs effets indésirables mais sont à nouveau employées comme alternative aux quinolones. Elles sont également utilisées en médecine vétérinaire.

- ***Les tétracyclines***

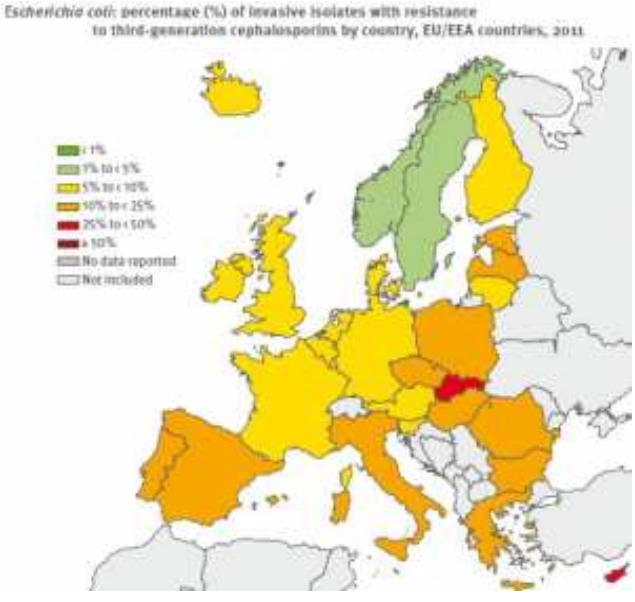
Les tétracyclines sont des substances produites par des bactéries qui ont été découvertes au milieu des années 1940. Constituées de quatre cycles accolés la molécule, bloque la synthèse des protéines dans les bactéries. Elles sont utilisées pour le traitement des infections des voies respiratoires des animaux de basse-cour ainsi que chez l'humain (Ex. infections broncho-pulmonaires…).

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

Depuis plus de vingt ans, la résistance aux antibiotiques a régulièrement augmenté, chez l'homme comme chez l'animal. C'est-à-dire qu'une substance donnée cesse d'avoir de l'effet sur certaines bactéries. En d'autres termes, un médicament n'agit plus. On observe également des bactéries multirésistantes qui résistent à plusieurs familles d'antibiotiques. Ce phénomène réduit les possibilités de traitement en cas d'infection. Il a été observé dès le milieu du vingtième siècle, avec, à chaque fois qu'une nouvelle molécule antibiotique est introduite, l'apparition de bactéries résistantes apparaissent peu après. Mais, conséquence de cette surconsommation dans le monde, un phénomène de résistance des bactéries s'est développé, amplifié puis, accéléré, menaçant à nouveau la santé publique.



Carte de consommations d'antibiotiques chez l'homme en Europe
(Source : ESAC-Net[53], données 2009)



Carte de résistance aux antibiotiques des bactéries Escherichia coli en Europe
(Source : ECDC-Europa, données 2011)

[53] http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/esac-net/pages/index.aspx

Quand une bactérie devient résistante, dans un milieu chargé en antibiotiques, elle acquiert un avantage par rapport aux autres et se multiplie plus rapidement. Elle peut aussi transmettre sa résistance à d'autres bactéries présentes dans le milieu par échange de gènes. L'exposition prolongée ou un usage excessifs des antibiotiques favorise donc la prolifération des espèces résistantes. La surconsommation des antibiotiques a entraîné le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques, conduisant parfois à des impasses thérapeutiques. Même si la France n'est plus le premier consommateur d'antibiotiques en Europe, elle se situe toujours parmi les pays dont le niveau de consommation est très élevé et l'un des premiers en termes de résistances bactériennes.

Mais ils sont aussi massivement en médecine vétérinaire. Dans les deux cas, des espèces résistantes se développent et vont dans l'environnement. Le risque principal lié au développement de l'antibiorésistance est donc celui de la transmission de l'animal à l'homme et de l'homme à l'animal, de mécanismes de résistance à des bactéries, par contact direct, par voie alimentaire ou par l'environnement. Selon les experts de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA), l'industrialisation des élevages (cochons, poulets de chair, veaux…) associée à l'usage préventif ou en complément alimentaire est une des sources probables de l'apparition de la résistance aux antibiotiques, dans les années 1960.

La santé animale et la santé humaine sont indissociables. Si le concept, « un monde, une seule santé », a été repris récemment par l'OIE, il souligne une prise de conscience collective au niveau international pour une harmonisation et une coopération entre les différents dispositifs de gouvernance sanitaire et systèmes de santé publique. Face à des événements récents comme la grippe aviaire due au virus H5N1 caractérisée par une diffusion virulente et géographiquement étendue, on sait que l'extension du domaine de la lutte contre l'antibiorésistance ne doit pas connaître de frontière. Cette crise a montré combien il était nécessaire d'opter pour une approche globale pour mieux prévoir et combattre les zoonoses. D'après l'OIE, « on sait depuis longtemps que 60% des maladies humaines infectieuses connues sont d'origine animale (domestique ou sauvage) ». Les flux sans précédent de marchandises et de personnes constituent pour tous les pathogènes quels qu'ils soient des opportunités d'essaimage mondial généralisé, notamment par le biais de vecteurs comme les insectes.



Concept « One health »
(Source : Commissions européennes)

C'est donc un enjeu majeur de santé publique : d'où la mise en place de réseaux de surveillance en milieu communautaire (médecine de ville) et des études menées principalement à l'hôpital. Comme en médecine humaine, le suivi de l'antibiorésistance s'avère nécessaire en médecine vétérinaire pour mieux promouvoir les bonnes pratiques et sensibiliser tous les acteurs concernés (vétérinaires, pharmaciens, éleveurs…).

La diffusion des staphylocoques en milieu hospitalier

Sélection environnementale des résistances aux antibiotiques : modélisation de la diffusion des SARM, de l'hôpital à la ville et de la ville à l'hôpital

Laura TEMIME

Mots-clés : diffusion, glycopeptides, hôpital, maladie nosocomiale, méthicilline, modélisation, staphylocoque, ville

Le staphylocoque est l'une des principales bactéries pathogènes pour l'homme. Des souches de staphylocoques dorés[54] résistantes à la méthicilline (SARM) ont émergé dès les années 1960 et se sont depuis, largement diffusées à l'hôpital. On parle alors de souches nosocomiales, c'est-à-dire trouvées à l'hôpital[55]. Par ailleurs, depuis une dizaine d'années, de nouvelles souches de staphylocoques dorés résistantes à la méthicilline sont apparues en communauté, à l'origine d'infections graves chez des individus ne présentant pourtant aucun facteur de risque classique[56] : les SARM-AC[57]. Ces bactéries restent sensibles à plusieurs antibiotiques mais, leur potentiel épidémique et de virulence est supérieur à celui des souches nosocomiales.



Forme typique d'un panaris à Staphylococcus aureus. (Auteur : Uwe Jendricke)

Les souches nosocomiales de SARM

En France, les SARM, qui constituent aujourd'hui près de 30 % des staphylocoques hospitaliers, sont devenues multi-résistants, ce qui limite les possibilités thérapeutiques à l'usage des glycopeptides[58]. Pour garder la possibilité de faire appel à de nouvelles thérapeutiques (autres antibiotiques ou vaccin), il est particulièrement important de pouvoir anticiper dans quelle mesure, celles-ci affecteront les populations bactériennes, en créant de nouvelles résistances.

Des données récentes suggèrent que les SARM-AC sont de plus en plus répandus à l'hôpital, lieu où la pression antibiotique importante pourrait conduire à la sélection de nouvelles résistances. Pour étudier la dynamique d'émergence et de diffusion de ces bactéries pathogènes à l'hôpital, une plate-forme de simulation multi-agents d'un service hospitalier a été développée : Nososim. Ce modèle est indispensable pour formaliser les hypothèses et évaluer les stratégies de maîtrise de la résistance. Par exemple un tel outil permet de simuler l'impact des stratégies de prescription antibiotique sur la sélection des SARM-AC à l'hôpital ; il peut aussi éclairer les différences épidémiologiques observées entre pays et étudier l'impact d'évolutions futures dans la sensibilité des SARM-AC aux antibiotiques.

[54] *Staphylococcus aureus*.
[55] L'hôpital est un lieu ou coexistent antibiotiques et bactéries, ce qui favorise l'émergence de souches résistantes.
[56] Enfants et jeunes adultes en bonne santé, par ailleurs.
[57] *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline acquis en communauté (SARM-AC).
[58] Vancomycine et teicoplanine.

Le modèle Nososim

Ce modèle reproduit à chaque instant, les actions des agents humains[59] en présence : soignants et patients. Il simule les contacts entre individus et prend en compte la diversité des tâches allouées aux différents types de soignants, le respect des mesures d'hygiène, la manière dont le patient est pris en charge, etc. Il permet de simuler la circulation d'une ou plusieurs bactéries pathogènes, transmises par contact direct au sein du service. L'exposition multiple aux antibiotiques, dans le contexte hospitalier (et son impact sur les différentes bactéries pathogènes en circulation), est également prise en compte.

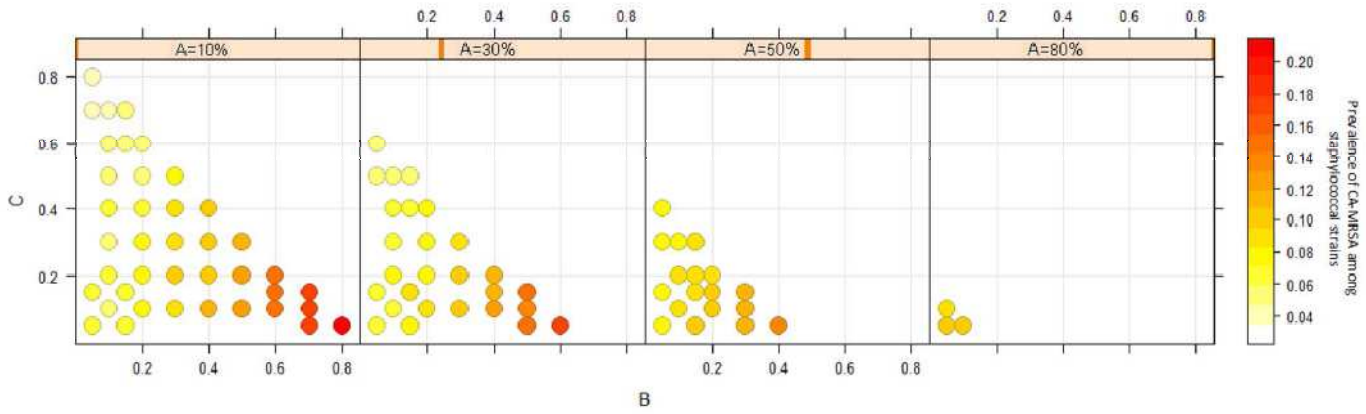
Les résultats de la recherche

Les résultats suggèrent que les soignants « nomades », qui sont en contact (même brièvement) avec beaucoup de patients ont un potentiel super-propagateur. Ceci peut s'appliquer à des kinésithérapeutes, des radiologues, mais aussi des chefs de service, etc. Nososim a été aussi utilisé pour étudier les déterminants de la persistance de souches de SARM en milieu hospitalier, dans un contexte de compétition avec les autres souches de staphylocoques classiquement trouvées à l'hôpital : souches sensibles à la méthicilline (SASM) et SARM. Suivant la nature des prescriptions telle ou telle souche gagnera ou non un avantage compétitif.

Sensibilité des staphylocoques dorés				
	A	**B**	**C**	**D**
	ex. ampicilline	ex. méthicilline	ex. clindamycine	ex. vancomycine
SASM	-	+	+	+
SARM-AC	-	-	+	+
SARM-AH[60]	-	-	-	+

Les résultats mettent en évidence l'importance de la stratégie de prescription antibiotique adoptée sur cette dynamique épidémique ; ils suggèrent que les différences dans ces stratégies peuvent en elles-mêmes suffire à expliquer les différences majeures constatées entre différents pays (tels que la France, la Finlande, la Pologne et les États-Unis) ou différents hôpitaux d'un même pays.

Comme l'indique le schéma ci-dessous, la dissémination des SARM-AC à l'hôpital est favorisée par une forte utilisation des antibiotiques du groupe B et une faible utilisation des antibiotiques des groupes C et D.



[59] Entrées/sorties, déplacements, visites, repos, etc.

[60] *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline acquis en milieu hospitalier (SARM-AH).

Parce qu'il s'agit d'une souche très répandue en communauté, donc potentiellement apportée par toute personne entrant à l'hôpital, le contrôle de la diffusion des CA-MRSA à l'hôpital représente un challenge. Cette étude montre que la stratégie de prescription antibiotique pourrait participer à ce contrôle.

Les partenaires :

CNAM – Chaire Hygiène et Sécurité
Laura Temime
Inserm U707
Pierre-Yves Boelle
CerBEP, Institut Pasteur
Didier Guillemot

Durée : 46 mois

Soutien : 100 K€

Contact : laura.temime@cnam.fr

La persistance environnementale de médicaments

Effluents hospitaliers et persistance environnementale de médicaments et de bactéries pathogènes

Jérôme LABANOWSKI, Élodie LAURENT et Leslie MONDAMERT

Mots-clés : eau, effluents hospitaliers, épuration, médicaments, rejets, traitement

Parmi les sources de rejets urbains, les établissements de soins figurent en situation particulière, notamment en raison de leur vocation sanitaire, de la nature ponctuelle des rejets ou encore de l'usage de médicaments réservés. Des études menées dans plusieurs hôpitaux français depuis les années 2000 ont mis en évidence la présence, dans les rejets hospitaliers, de très nombreux médicaments et produits de diagnostic, mais aussi d'anesthésiants, de désinfectants (eau de javel) et de produits d'entretien (détergents).

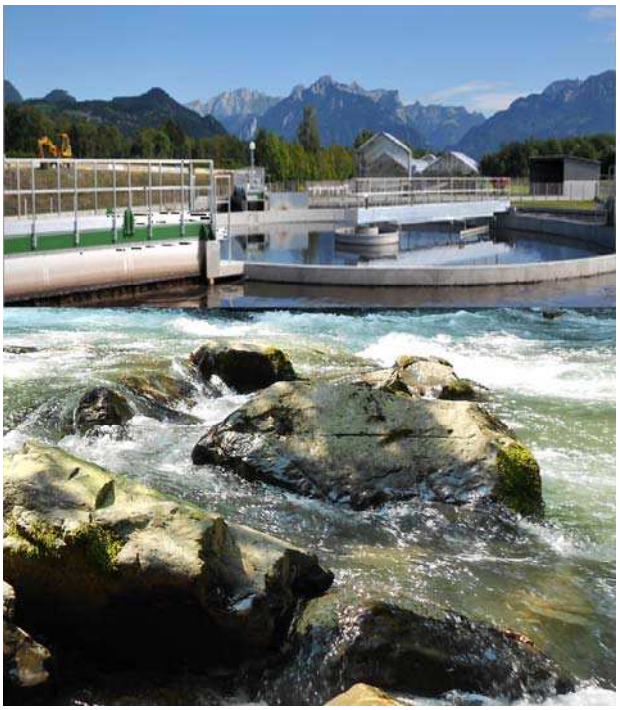
Les effluents hospitaliers

Ces effluents chargés en polluants chimiques mais aussi en organismes pathogènes sont collectés par les réseaux urbains et envoyés vers les stations d'épuration (STEP), sans traitement préalable ou différencié, et sans prise en compte des niveaux de contamination, de leurs impacts négatifs pour les traitements par voie biologique, des niveaux de traitement ou de rejet à appliquer pour les eaux, ni, plus globalement, des risques sanitaires et écotoxicologiques potentiels.

Étant donné que les STEP n'éliminent que partiellement les molécules à usage de médicaments ainsi que les micro-organismes, la non-prise en compte de la spécificité des effluents hospitaliers constitue un danger de contamination des ressources aquatiques ayant une incidence sur la santé humaine.

De plus, l'évacuation conjointe d'antibiotiques et de bactéries pathogènes créé une liaison dangereuse pouvant augmenter la compétitivité de ces micro-organismes au sein d'habitats naturels.

Afin d'y remédier, une réflexion sur la réglementation des rejets de médicaments a été entreprise. Un Plan national sur les résidus de médicaments (PNRM) dans les eaux a été publié le 30 mai 2011, suite à une étude réalisée par l'Anses qui montrait, en janvier 2011, qu'un quart des échantillons d'eau testés contenaient des traces de médicaments : principalement caféine, antiépileptiques et anxiolytiques[61].



La station d'épuration SIPIBEL et la rivière Arve (Photomontage : CNRS/GRAIE)

UMR 7285 – CNRS, Institut de Chimie des milieux et des matériaux de Poitiers, Université de Poitiers

[61] Anses-Laboratoire d'hydrologie de Nancy, *Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine*, rapport, janvier 2011.

Un site expérimental : SIPIBEL

Une des pistes de réponse à ces réglementations[62] pourrait être une meilleure gestion des effluents hospitaliers qui consisterait à éviter de les mélanger aux effluents urbains conventionnels. Cette différenciation devrait ainsi permettre d'agir aux points d'émission des effluents hospitaliers avec un traitement spécifique et de limiter les rejets vers le milieu naturel, en aval des STEP.

C'est cette hypothèse qui est testée dans un lieu expérimental, unique en France : le site SIPIBEL qui vient d'être mis en place dans la basse vallée de l'Arve (Haute-Savoie). Suite à l'extension de ce site et à la construction du nouveau Centre hospitalier Alpes-Léman, la configuration actuelle de la station d'épuration permet de collecter et de traiter les eaux usées avec une ligne dédiée aux eaux usées urbaines et une ligne de traitement dédiée à l'effluent hospitalier, avec la possibilité de mixage.

Cela n'est pas si simple, car la présence de molécules biologiquement actives (notamment, les médicaments et les désinfectants) peut générer des dysfonctionnements au cours des étapes d'épuration des eaux usées. Les antibiotiques semblent aussi pouvoir inhiber les bactéries nitrifiantes utilisées dans ces procédés. Sur le site SIPIBEL, une chaîne de traitement est dédiée aux effluents hospitaliers, ce qui donne la possibilité d'optimiser le traitement par boues activées pour éliminer plus spécifiquement les résidus médicamenteux.

Le projet de recherche : PERSIST-ENV

Le projet PERSIST-ENV vise donc à comparer la dangerosité des rejets de STEP suivant des configurations différentes :

- Traitement biologique par boues activées en filière urbaine conventionnelle (c'est-à-dire en mélangeant des eaux usées urbaines et l'effluent hospitalier ;
- Traitement en filière individuelle (traitement séparé de l'effluent hospitalier).

De manière à apporter des éléments de connaissances relatifs à l'impact des rejets hospitaliers, le présent projet a choisi d'utiliser des biofilms en tant que capteurs-indicateurs. Un biofilm est une communauté de micro-organismes (algues, bactéries, champignons, etc.) tapissant une surface et qui joue un rôle essentiel dans les écosystèmes aquatiques. Bien que nous ne disposions encore que de peu d'informations sur la présence de médicaments dans les biofilms naturels, les premiers résultats obtenus sur des échantillons prélevés sur la rivière adjacente au site SIPIBEL révèlent la présence d'antibiotiques et d'anti-inflammatoires à la sortie de la STEP même avant le raccordement de l'hôpital. De plus, ces biofilms, susceptibles de stocker des antibiotiques, pourraient également être une source d'innovations et/ou de mutations génétiques pour ces micro-organismes avec l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques.

Les partenaires :

Jérôme Labanowski
UMR 7285 – CNRS, Institut de Chimie des milieux et des matériaux de Poitiers, Université de Poitiers
Agnès Bouchez
UME 0042 Inra, Équipe RITOXE, CARRTEL, Thonon-les-Bains
Benoît Cournoyer
UMR 5557 CNRS, Écologie microbienne, Université de Lyon, Villeurbanne
Élodie Brelot
GRAIE, CEI-Insavalor, Villeurbanne

Durée : 42 mois

Financement : 199.781 €

Contact : jerome.labanowski@univ-poitiers.fr

[62] Directive Cadre sur l'Eau (2000/60/CE) adoptée le 23 octobre 2000 complétée en février 2012 par l'ajout de 15 substances pharmaceutiques dans la liste en révision des « substances dangereuses prioritaires ».

Évolution de l'antibiorésistance dans le sol

Impact d'un amendement au champ par des molécules antibiotiques sur la diversité des mécanismes de résistance, le nombre de copies de ces gènes, leurs potentialités de dissémination et la structure des communautés microbiennes du sol

Pascal SIMONET

Mots-clés : bactéries, bêta-lactamines, compétitivité, coût adaptatif, dissémination, « fitness », gènes, glycopeptides, métaux lourds, milieu, persistance, sélection, sol, tétracyclines

À ce jour, des quantités considérables d'antibiotiques provenant du recyclage des eaux usées et des déjections des animaux de ferme sont rejetées dans l'environnement. Le problème est d'autant plus sérieux que ces antibiotiques à usage vétérinaire représentent une part significative de l'arsenal thérapeutique utilisé en médecine humaine. Le risque tient au fait que ces rejets favorisent dans l'environnement la sélection de bactéries résistantes et que les gènes conférant cette résistance pourraient être transférés à des bactéries pathogènes de l'homme. De ce fait, l'arsenal des médicaments actifs contre les germes pathogènes tend à diminuer dramatiquement faisant ainsi resurgir les craintes d'épidémies dévastatrices comme l'humanité en a subi dans un passé pas si lointain.



Les eaux usées (Source : PDPhoto)

Origine des gènes de résistance à des antibiotiques

La première question d'importance concerne l'origine des mécanismes et des gènes de résistance. On a dans un premier temps pensé que ces mécanismes étaient directement liés à l'essor des antibiotiques. Sir Alexander Fleming, le découvreur de la pénicilline, avait averti que les bactéries pouvaient développer une résistance aux antibiotiques : *« Au lieu d'éliminer l'infection, le risque serait que les microbes apprennent à résister à la pénicilline et que ces mêmes microbes soient ensuite transmis d'un individu à l'autre et provoquent une infection que la pénicilline ne pourra guérir ».* Mais avec les progrès de la génomique, la réalité est apparue plus complexe. À titre d'exemple, des études sur de l'ADN microbien ancien, extrait de sédiment d'un permafrost[63] vieux de 30.000 ans révèle toute une collection de gènes codant la résistance aux bêta-lactamines, tétracyclines, glycopeptides et jusqu'à quatorze antibiotiques commercialisés aujourd'hui.

Pour expliquer ce résultat, il faut considérer que la plupart de ces médicaments sont des substances d'origine naturelle produites par certains microorganismes de l'environnement comme armes chimiques contre les autres germes qui en retour ont développé les mécanismes de résistance comme « boucliers » pour s'en préserver – l'ensemble faisant partie des différentes stratégies de compétition et d'adaptation.

Équipe génomique microbienne environnementale, *École centrale de Lyon*

[63] Ou permagel : partie profonde d'un sol dans un pays froid, gelée en permanence.

Certains mécanismes de résistance se caractérisent ainsi par une très longue histoire évolutive dont témoignent leur polymorphisme et la diversité de leurs fonctions. L'hypothèse de fonctions alternatives codées par ces gènes, notamment la résistance aux métaux lourds et à d'autres agents toxiques est ainsi renforcée par le fait que le niveau d'occurrence de ces gènes est souvent corrélé à la concentration du milieu en métaux (Ex. chrome, cuivre, fer, nickel, plomb…) notamment dans les sols.

Transfert des gènes de résistance entre bactéries environnementales et cliniques

Une question fondamentale est la contribution de ces germes environnementaux à l'accroissement de la résistance chez les espèces pathogènes de l'homme. Un fort consensus existe aujourd'hui pour estimer que les gènes de résistance trouvent leur origine dans les bactéries environnementales non-pathogènes qui les transfèrent ensuite aux pathogènes. Plusieurs mécanismes permettent à des fragments d'ADN, à des gènes fonctionnels et même à des opérons complets d'être transférés « horizontalement » entre bactéries de même génération mais pas forcément proches phylétiquement. C'est donc du fait de ces transferts extrêmement efficaces de matériel génétique entre germes de tous milieux (environnement naturel et humain) que les bactéries pathogènes s'équipent progressivement des gènes qui leur confèrent une capacité de résistance élevée à une gamme de plus en plus étendue d'antibiotiques. L'utilisation d'antibiotiques pour soigner hommes et animaux qui s'accompagne d'un relargage d'une partie de ces molécules dans l'environnement contribue à la sélection des bactéries résistantes et à une évolution de plus en plus marquée vers un niveau élevé de l'antibiorésistance même si le niveau de diversité des gènes de résistance demeure encore beaucoup plus faible chez les pathogènes humains que chez les micro-organismes environnementaux. Ce résultat peut s'expliquer par des limitations au transfert de certains de ces gènes vers des bactéries pathogènes ou à leur faible adaptation dans leur nouvel hôte. Ces mécanismes peuvent représenter un fardeau génétique en absence de l'antibiotique diminuant la valeur adaptative (fitness) donc le potentiel compétitif de la bactérie. Mais les résultats sont contradictoires selon les organismes et les gènes allant d'une baisse à un accroissement de la valeur adaptative, des mutations dans d'autres parties du génome compensant le « coût » énergétique que représente la présence de ces gènes de résistance.

Impact des contaminations environnementales par les antibiotiques

Du fait principalement de l'utilisation des antibiotiques en thérapeutique humaine et animale l'homme intervient donc désormais dans l'histoire évolutive des gènes de résistance à ces molécules. De nombreux travaux de recherche ont été consacrés à la question. Ils montrent un accroissement du nombre de copies des gènes de résistance dans les bactéries des environnements soumis à l'influence des antibiotiques comme peuvent l'être les déjections, les fumiers, les sols au sein des élevages de volailles, de porcs, de bovins et dans les eaux usées issues de ces élevages ou des fermes aquicoles. Ce problème ne concerne pas le seul secteur animal puisque des modifications du nombre de copies des gènes de résistance à des antibiotiques ont également été détectées dans les plantes et les sols après traitement du feu bactérien par la streptomycine. D'autre part, des échantillons prélevés sur le terrain indiquent un niveau élevé de persistance sur le long terme des bactéries résistantes et des gènes qui leur confèrent ce haut niveau de résistance.

Le projet de recherche : Impactance

Les travaux en microbiologie des dernières années ont montré que bactéries des milieux « environnementaux » (sols, eaux, sédiments, végétaux) et « humains » pouvaient fortement interagir. Si pendant des millions d'années l'évolution bactérienne a permis le façonnement chez les « environnementaux » d'une très grande diversité de molécules antibiotiques et conséquemment de mécanismes de résistance, il a fallu attendre l'exploitation par l'homme de ces médicaments pour bouleverser significativement le niveau de résistance

et la diversité des mécanismes impliqués chez les bactéries pathogènes. Le projet « Impactance » vise à comprendre l'implication qu'a pu avoir l'ajout pendant plus de dix années d'antibiotiques à des concentrations correspondant à celles des sols amendés par des fumiers contaminés, sur la structure taxonomique et fonctionnelle des communautés microbiennes des sols, la sélection de bactéries résistantes, le potentiel de dissémination de leurs gènes.

Ce projet se positionne en vue de l'édification d'une politique concertée d'utilisation des antibiotiques par tous les acteurs professionnels, dans des secteurs aussi différents que la médecine humaine et vétérinaire ou l'horticulture en vue de minimiser la prolifération des bactéries résistantes et de leurs gènes, tout en respectant les contraintes thérapeutiques et économiques. Ce projet sera abordé sur des parcelles de sol de la plate-forme expérimentale d'Agriculture-Canada à London (Ontario) sur lesquelles des cocktails d'antibiotiques ont été annuellement appliqués depuis plus de dix ans et des échantillons de sols régulièrement prélevés pour être aujourd'hui analysés tant chimiquement que microbiologiquement. C'est par une approche métagénomique (indépendante de la culture *in vitro* des bactéries mais s'appuyant sur le séquençage à haut débit de l'ADN bactérien extrait du sol) que seront étudiées l'évolution dans le temps de la structure des communautés bactériennes et la diversité des gènes de résistance et des éléments génétiques mobiles.

Le projet de recherche « *Impactance* » s'appuie sur les acquis du programme de recherche international « *Terragenome* » dont l'objectif vise à décrypter en totalité le métagénome d'un sol de référence situé au Royaume Uni. Techniques d'extraction de l'ADN, de séquençage, de bioinformatique développées dans le cadre de « *Terragenome* » seront mises à profit pour tenter de répondre aux questions ci-dessous concernant, en fonction des concentrations en antibiotiques ajoutées puis mesurées dans les sols tout au long de la cinétique d'incubation:

- L'évolution de la structure des communautés bactériennes.
- La diversité des mécanismes de résistance codés dans l'information génétique des bactéries présentes dans le sol ;
- Les modifications auxquelles ils sont soumis suivant les conditions du milieu. Cet inventaire inclut les gènes impliqués dans la dégradation des molécules antibiotiques qui peuvent être considérés comme participant à un mécanisme alternatif de résistance.

Les partenaires :

Pascal Simonet
Équipe génomique microbienne environnementale, Laboratoire Ampère, UMR ECL-CNRS 5005, École centrale de Lyon
Edward Topp
Agriculture and Agri-Food Canada, London, Canada

Durée : 39 mois

Soutien : 197.706 €

Contact : pascal.simonet@ec-lyon.fr

La résistance aux antibiotiques des bactéries E. coli en milieu naturel

Écologie de la résistance aux antibiotiques d'Escherichia coli et de Staphylococcus aureus dans les flores commensales de l'homme et des animaux en milieu naturel

Antoine ANDREMONT pour l'ensemble des acteurs du projet ERAES

Mots-clés : amérindiens, céphalosporines, contamination, eau, *Escherichia coli,* Guyane, infections, méthylmercure, orpaillage, Oyapock, pénicillinase

Jusqu'à la fin des années 1990, les bactéries résistantes aux antibiotiques étaient essentiellement isolées chez les patients hospitalisés. Ce n'est plus le cas aujourd'hui, la résistance aux antibiotiques étant également observée en dehors de l'hôpital. Il est important de bien comprendre les mécanismes d'émergence et de dissémination de la résistance dans les populations de bactéries. Or, de telles études sont difficiles à réaliser dans un milieu trop complexe, avec des populations mouvantes, en présence de multiples sources d'antibiotiques.

Le terrain d'étude

Il s'agit du village de Trois-Sauts, situé très en amont sur le fleuve Oyapock en Guyane. Ce site est isolé, au milieu de la forêt amazonienne, à l'extrême sud du territoire guyanais, sans aucun autre village, alentour. Il est peuplé d'environ 450 amérindiens Wayampis, très homogènes génétiquement. Cette population vit encore de façon traditionnelle et en presque autarcie alimentaire. La population est très stable (peu de déplacements entre villages).

Outre les amérindiens, une petite dizaine d'expatriés vivent à Trois-Sauts. Depuis une quinzaine d'années, ils assurent l'éducation primaire de tous les enfants, et un service infirmier continu, au sein d'un dispensaire bien équipé. L'ensemble des soins et traitements sont dispensés de façon totalement gratuite ; ils sont inscrits sur des carnets de santé individuels, carnets qui sont conservés au sein du dispensaire.



Habitation Wayampi traditionnelle à Trois-Sauts
Plusieurs espèces de rongeurs et d'opossums viennent se nourrir sous et dans les maisons.
(Auteur : François Catzeflis)

Les projets de recherche : ERAES et ERAES 2

Le village de Trois-Sauts, aux échanges limités avec l'extérieur, avec ***une source unique et traçable*** de pression de sélection antibiotique, apparait comme un terrain d'étude prometteur. Ces caractéristiques ont fait qu'il a été possible de suivre de manière très précise un groupe de patients amérindiens sur plusieurs années : 2000, 2006, 2008 et 2010 dans le cadre du projet ERAES. À quatre reprises, des prélèvements (nez, selles) ont été effectués chez les villageois volontaires. Il s'agissait de décrire les caractéristiques notamment génétiques, de résistance et de virulence des souches d'*Escherichia*

coli[64] et *Staphylococcus aureus*[65] présentes dans les échantillons et leur évolution au cours du temps. Par ailleurs, il s'agissait d'étudier la dissémination dans l'environnement des gènes de résistance. Des selles de rongeurs domestiques et sauvages ont été récupérées après piégeage à des distances variant de 0 à 3000 m du village. De même, des prélèvements de sol et de la rivière qui baigne le village ont été réalisés.



Le fleuve Oyapock est une composante essentielle de la vie au village de Trois-Sauts
(Auteur : Antoine Andremont)

Le projet **ERAES 2** visait à étendre les observations sur une période plus longue (2010 et 2011), au moment où le village subissait des modifications sociologiques rapides comme l'ouverture du Parc Amazonien National de Guyane (dont Trois-Sauts est limitrophe) et la scolarisation accrue des amérindiens, faits susceptibles de perturber les écosystèmes microbiens tant humains qu'animaux et environnementaux.

- ***Évolution de la résistance***

Un premier sujet d'étude fut la résistance des bactéries *Escherichia coli* aux céphalosporines de 3ème génération, car il s'agit là d'un problème ayant une grande importance thérapeutique. Un premier prélèvement des selles des amérindiens Wayampis avait été réalisé durant la campagne 2006 et les capacités de résistance des bactéries présentes dans ces selles ont été étudiées. On a observé la présence d'un gène de résistance (produisant une bêta-lactamase à spectre élargi) chez 7,9 % des bactéries étudiées, ce qui est beaucoup plus élevé que ce qui avait été observé lors de mesures préliminaires en 2000. Face à l'augmentation de ces bactéries résistantes, les protocoles de mise sous traitement antibiotique ont été revus, afin de diminuer le nombre de prescriptions. Lors de la nouvelle campagne de prélèvements de 2010, on a observé que la proportion de bactéries résistantes s'était affaissée à 5,2 %. Il s'agit donc d'un résultat encourageant pour conforter l'effet d'une diminution de la consommation d'antibiotiques.

- ***Effet de résistance croisée***

Dans les eaux, il existe une corrélation positive entre la consommation d'antibiotiques et l'apparition de bactéries résistantes à ces mêmes antibiotiques. Une fois dans l'environnement, des évènements de transferts de gènes de résistance aux antibiotiques, y compris entre espèces bactériennes éloignées, sont possibles. Dans ces conditions, l'environnement pourrait constituer un réservoir provisoire en gènes résistants.

D'autres activités humaines pourraient favoriser ces gènes. L'orpaillage[67] fréquent en Guyane a conduit à une pollution majeure des milieux et de la chaîne alimentaire par le méthylmercure, exposant les populations amérindiennes (fortes consommatrices de poissons).

[64] Bactérie très courante, responsable d'infections urinaires.
[65] Bactérie très courante, responsable d'infections cutanées.
[67] Recherche d'or dans les cours d'eau. On utilise le mercure pour amalgamer les particules d'or. Cette pratique est interdite depuis janvier 2006 mais il reste des exploitations clandestines.

Or, lorsque la résistance aux antibiotiques et au mercure sont portés par un même élément génétique, la contamination au mercure de l'environnement peut favoriser un phénomène de co-résistance « antibiotiques + mercure » : d'où l'analyse de la résistance des souches aux antibiotiques et aux métaux lourds à partir d'échantillons d'eau de l'Oyapock. Au cours de la campagne d'octobre 2007, par exemple, 162 souches d'*E. coli* ont été stockées : L'une d'entre elle est résistante au mercure et présente une multi-résistance à cinq antibiotiques[66]. D'où la nécessité d'évaluer le déterminisme de la contamination en *E. coli* des eaux de l'Oyapock.

Les équipes :

Antoine Andremont
EA 3964
Erick Denamur
Inserm U722
Félix Djossou
EA 3593 – Épidémiologie des parasitoses tropicales
François Vandenesch
Inserm EO 230 – Université C. Bernard, Lyon
François Catzeflis et François Rousset
Unité UMR-CNRS 5554, Université de Montpellier
Didier Guillemot et Marie-Elisabeth Bougnoux
Institut Pasteur
F. Petit
UMR-CNRS 6243 M2C
Pascal Simonet
Laboratoire Ampère-CNRS
A. Van Belkum
Erasmus MC
E. Feil
University of Bath

Durée : 6 ans

Soutien : 201.397 €

Contact : antoine.andremont@bch.aphp.fr

Les rongeurs et opossums dans les hameaux des Trois-Sauts

Au cours de nos missions, nous avons échantillonné les petits mammifères non-volant vivant dans et sous les maisons traditionnelles des Wayampis dans les différents hameaux qui composent Trois-Sauts, et de façon surprenante il a été mis en évidence la présence abondante de plusieurs espèces de rats, souris, et opossums vivant au détriment des Amérindiens. En fait, avec un effort moindre d'échantillonnage (nombre de pièges et durée des prélèvements), nous avons capturé beaucoup plus de petits mammifères dans les villages amérindiens que dans les forêts secondaire et primaire bordant Trois-Sauts. Le mode de vie traditionnel des Wayampis, où les opérations de cuisine se déroulent sous la maison sur pilotis, amène de nombreux restes alimentaires dont profitent les petits mammifères sauvages.

[66] Transfert de gènes de résistances avec les populations d'*Aeromonas* ou de *Pseudomonas*.

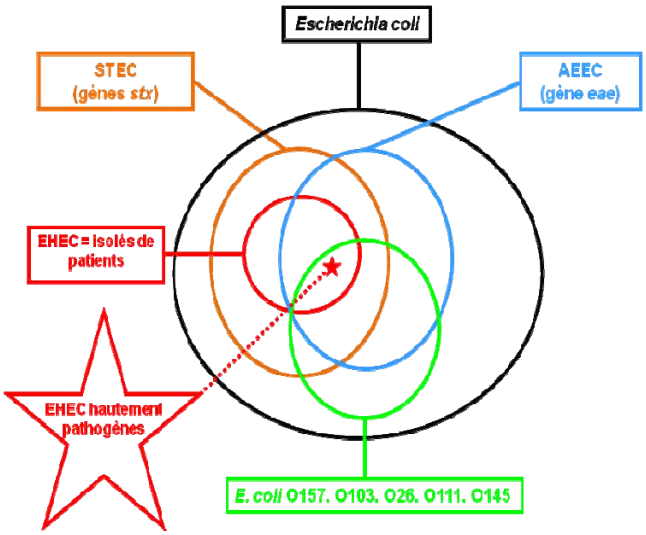
Le typage des souches E. coli

L'identification et l'étude des profils de virulence des souches d'E. coli

Eugénie BARIL et Sonia TENAILLEAU

Mots-clés : alimentation, bovins, contamination, diarrhée, *Escherichia coli,* shigatoxines, virulence

Le réservoir principal des *Escherichia coli* à shigatoxines (STEC) est le tube digestif des animaux à sang chaud (principalement des bovins). L'homme se contamine par la consommation d'aliments souillés, d'eau non traitée et/ou par une transmission interhumaine. Les symptômes sont variables allant de la diarrhée jusqu'à une atteinte rénale sévère pouvant être fatale (syndrome hémolytique et urémique), notamment chez les jeunes enfants. Les principaux aliments à risque sont les produits d'origine animale (contamination directe) et végétale (contamination indirecte en contact avec des animaux). La grande diversité des ingrédients utilisés dans l'alimentation, et leurs origines largement internationales intensifie les possibilités d'échanges génétiques entre les micro-organismes.



Classification schématique des E.coli d'après l'Anses, 2010

Ce travail vise à mieux surveiller et prévenir les épidémies liées à l'émergence des *Escherichia coli* entéro hémorragiques (EHEC), sous population de STEC particulièrement dangereux, en prenant en compte la grande diversité de certains aliments composés à la fois de produits végétaux et animaux. L'objectif de ce travail est d'établir un bilan national des caractéristiques génétiques (notamment la présence de gènes qui rendent ces bactéries virulentes, c'est-à-dire agressives pour l'homme) et du profil d'antibiorésistance des souches STEC qu'elles soient d'origine humaine, animale ou alimentaire. Ce bilan permettra d'obtenir des données nécessaires à l'évaluation des risques pour la santé publique, liés à la présence de souches EHEC dans les aliments, l'eau et l'environnement en France.

La première phase du projet concerne l'identification et l'étude des profils de virulence des souches d'*E. coli*. Les souches d'intérêt sélectionnées, ayant circulé en France entre 2011 et 2012, représentent les sérotypes (catégories d'E. Coli identifiées à partir de tests immunologiques) et les combinaisons de gènes de virulence les plus fréquents[68] . Au total, 158 souches humaines (isolées de patients atteints de syndrome hémolytique et urémique ou de diarrhées glairo-sanglantes, 140 souches non humaines (isolées d'animaux, de produits laitiers ou carnées) et 15 souches de référence sont étudiées.

[68] Notamment les 5 sérotypes majeurs O157:H7, O26:H11, O103:H2, O145:H28, O111:H8.

Les profils de virulence sont établis par PCR[69] en temps réel et en haut débit permettant de tester 48 marqueurs génétiques par plaque. Les différents marqueurs génétiques sont des fragments d'ADN dont la présence rend la bactérie dangereuse : marqueurs génétiques relatifs aux shigatoxines (protéine toxique pour l'homme), aux antigènes somatiques et flagellaires, à l'intimine protéine qui permet à la bactérie d'adhérer à l'intestin… Les résultats montrent une grande homogénéité des profils de virulence pour les souches de même sérotype, qu'elles soient humaines ou non.

D'autres méthodes de caractérisation génétique[70] indiquent qu'une grande diversité génétique des souches circule en France. Toutefois les données doivent encore être analysées en fonction des sérotypes, des origines et des profils de virulence des souches. La diversité et la proximité génétique des STEC entre eux sont également en cours d'évaluation.

La seconde phase du projet concerne la réalisation de profil d'antibiorésistance des souches d'*E. coli* pathogènes d'origine humaine ou non. Les profils d'antibiorésistance sont déterminés par la méthode de diffusion d'un antibiotique sur gélose. Cette étude est réalisée dans un but de connaissance des caractéristiques des bactéries présentes en France et pourra éventuellement avoir des retombées sur les traitements à appliquer aux patients par la détermination de concentration minimale inhibitrice[71] . Ces résultats seront ensuite analysés en fonction des différentes origines des souches.

La troisième phase du projet concerne l'exploitation des données obtenues et la comparaison des profils des souches circulant en France. Cette analyse comparée permettra d'établir l'existence de relations clonales et de suivre la dissémination des gènes de virulence et d'antibiorésistance.

En vue d'assurer la surveillance des EHEC dans la durée et de permettre de construire des bases de données fiables, il serait souhaitable de reconduire ces travaux régulièrement. Ce projet se terminera d'ici la fin 2014.

[69] Acronyme anglais de « *Polymerase Chain Reaction* » : voir glossaire p. 73
[70] Méthodes PFGE, MLVA et MLST.
[71] Voir un exemple de plaque, p. 53.

Les pratiques à risques en médecine vétérinaire

Caroline BOUDERGUE, Charlotte DUNOYER et Sophie GRANIER

Mots-clés : BMR, *Campylobacter*, céphalosporines, contamination, diffusion, élevage, entérocoques, pratiques à risque, *Salmonella,* usages, vancomycine

Le développement de l'antibiorésistance constitue un enjeu de santé publique au niveau mondial qui justifie une prise de conscience accrue et nécessite une action urgente. Compte tenu du nombre d'acteurs concernés et de la diversité des questions soulevées, une approche globale prenant en compte à la fois le domaine vétérinaire et la médecine humaine est devenue indispensable. En effet, parmi les risques liés à l'antibiorésistance, celui de la transmission entre l'animal et l'homme[72] de bactéries résistantes aux antibiotiques, par contact direct, par voie alimentaire ou via l'environnement a été mis en évidence dans de nombreuses publications scientifiques.

Les risques liés à l'antibiorésistance

L'antibiorésistance est le phénomène naturel de défense des bactéries en réponse à l'action exercée par l'antibiotique. Après avoir été en contact avec un antibiotique, certaines bactéries auparavant sensibles à cet antibiotique ne sont plus détruites ou leur multiplication n'est plus arrêtée. C'est la bactérie qui devient résistante et non pas l'homme ou l'animal. L'animal, comme l'homme, peut héberger des bactéries résistantes. Ainsi, le développement de la résistance aux antibiotiques réduit les possibilités de traitement en cas d'infection chez l'Homme comme chez l'animal : certaines familles d'antibiotiques ne sont plus efficaces contre certaines espèces bactériennes. Les bactéries sont dites « multi-résistantes » (BMR) quand elles ont acquis la résistance à au moins trois classes d'antibiotiques ; on les qualifie de « hautement résistantes » (BHR) quand elles résistent à la quasi-totalité des antibiotiques.

Devant le ralentissement des développements de nouveaux antibiotiques observé au cours des 20 dernières années, force est de constater que la perspective de prochaines mises sur le marché de nouvelles molécules est très réduite. Préserver l'efficacité des antibiotiques existants est donc devenu maintenant une priorité de santé humaine comme vétérinaire.

Au cours de ces dernières années, l'Anses s'est montrée particulièrement vigilante sur l'apparition et le développement des bactéries résistantes aux antibiotiques chez les animaux.

Depuis le rapport de l'Afssa[73], *Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine*, publié en 2006, des dispositifs de surveillance des mécanismes de l'antibiorésistance ont été promus et renforcés, comme les réseaux *Résapath* et *Salmonella*[74], pour consolider les données sur l'apparition de bactéries résistantes et les mettre en perspective avec les usages des antibiotiques dans les différentes filières d'élevage (animaux de rente) et chez des animaux de compagnie (canins et félins) sur un plan qualitatif et quantitatif. Ainsi, il a pu être observé que certaines souches résistantes[75] avaient été impliquées dans des phénomènes épidémiques, notamment, d'origine alimentaire.

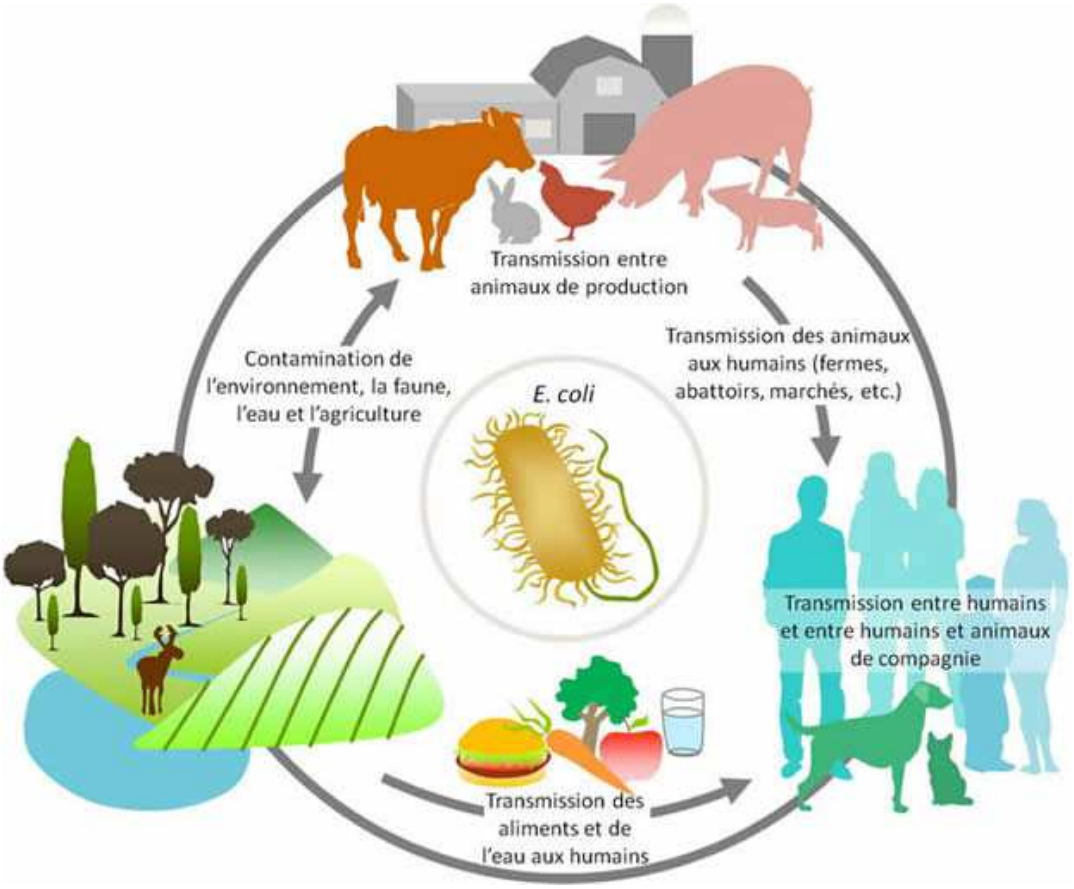
Ainsi, les données du *Réseau Salmonella* ont permis, en 2010, de mettre en lien une épidémie humaine à *Salmonella Typhimurium* multi-résistante comportant une trentaine de cas sur le territoire français avec la

[72] On parle de transmission « zoonotique »
[73] Devenue Anses depuis le 1er juillet 2010.
[74] Voir pp. 60-62.
[75] *Campylobacter* et *Salmonella* non typhiques.

consommation d'un lot contaminé de fromage de vache au lait cru. On a donc pu mettre en évidence la transmission d'une bactérie pathogène multi-résistante de l'animal à l'homme via l'alimentation. A l'inverse, une étude publiée en 2012 a permis de mettre en évidence, grâce à la collection du *Résapath*, la transmission de l'homme vers des animaux domestiques, chiens et chats, de staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (SARM) d'origine hospitalière. A travers ces deux exemples, on comprend qu'il n'y a pas de frontière entre les agents infectieux du monde animal et ceux des populations humaines, chacun constituant probablement le réservoir de l'autre.

« One Health »

Cette prise de conscience est relativement récente : on ne pourra pas parvenir à préserver l'activité des antibiotiques sans faire interagir entre eux les acteurs de la santé humaine et ceux de la santé animale. C'est la naissance du concept de « One Health », pour une unique politique de santé, au travers de mesures disparates, au départ peu coordonnées et qui tendent aujourd'hui à se structurer. Ainsi, à partir de 2006, l'Europe a banni l'utilisation des antibiotiques comme facteur de croissance chez les animaux de rente.



Les E. coli et le concept « Une seule santé »
(Source : Laboratoire de référence de l'OIE pour *E. coli, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal)*

Devant la hausse inquiétante de la résistance aux céphalosporines de 3ème génération (C3G)[76] observée dans la filière porcine entre 2006 et 2009, celle-ci s'est imposée en France depuis la fin de l'année 2010, un moratoire sur l'utilisation de cette famille d'antibiotiques. Enfin, la « Food and Drug Administration » (FDA) a publié en 2012, aux États-Unis, un règlement limitant l'utilisation des céphalosporines chez les animaux. Elle s'inquiète « *de ce que certains usages dérogatoires des céphalosporines chez les bovins, les porcs, les poulets et les dindes soient susceptibles de contribuer à des souches résistantes aux céphalosporines de certaines bactéries*

[76] Une classe d'antibiotiques utilisés pour traiter de nombreuses infections humaines.

pathogènes »[77].

Mais existe-t-il des usages d'antibiotiques dans le monde animal qui provoquent plus de résistances que d'autres ? Pour définir les pratiques à risques, il apparaît donc indispensable de se donner les moyens d'anticiper ce que la modification de l'usage des antibiotiques dans le monde animal peut avoir comme influence sur les risques d'émergence d'antibiorésistances.

Les pratiques à risque

En mars 2011, l'Anses a souhaité mobiliser ses collectifs d'experts pour être en capacité de fonder scientifiquement des recommandations sur :

- La maîtrise des infections bactériennes animales ;
- Les modalités d'usage raisonné des antibiotiques ;
- La recherche de solutions alternatives.

Pour mieux connaître les pratiques en médecine vétérinaire, une première étape consistait à faire recenser par les experts les usages des antibiotiques dans les différentes filières d'élevage et chez les animaux de compagnie[78]. Pour ce faire, le Groupe de Travail a pu utiliser les outils déjà développés par les laboratoires de l'Anses et compléter ses connaissances lors d'auditions de professionnels. À partir des principales résistances rencontrées en 2011 dans le domaine de la santé animale (familles d'antibiotiques, espèces bactériennes, filières/espèces animales), ont été identifiées celles qui représentaient aussi une menace majeure en santé humaine.

Dans un deuxième temps, l'évaluation du risque d'émergence et de diffusion d'antibiorésistances a été réalisée dans les différentes filières animales par le Groupe de Travail, qui a élaboré une méthode d'évaluation des pratiques à risque pour ensuite confronter les résultats obtenus à la réalité des pratiques en médecine vétérinaire pour chaque espèce . Cette étape est importante car elle a permis d'identifier les pratiques à risque susceptibles d'aboutir à la sélection de bactéries multi-résistantes et de classer les effets des modes d'utilisation : à titre préventif ou thérapeutique dans les filières d'élevage et chez les animaux de compagnie.

Enfin, des propositions seront formulées, dans un troisième temps, afin de recommander des schémas thérapeutiques permettant de réduire ou supprimer les pratiques à risque en médecine vétérinaire, lorsque cela s'avère possible ou de proposer des solutions alternatives aux traitements antibiotiques. À titre d'exemple, dans la filière porcine, l'intérêt d'un recours à l'oxyde de zinc pour diminuer les diarrhées des porcelets fait l'objet d'une évaluation bénéfice/risque[79].

Les experts se sont également attachés à identifier les contextes à risque dans les différentes filières animales, dans la mesure où certains facteurs survenant en élevage facilitent la multiplication et la diffusion de bactéries pathogènes, induisant ainsi plus souvent des maladies, qui requièrent un traitement antibiotique.

Préserver l'efficacité des antibiotiques existants, c'est en effet s'attacher à en utiliser moins (pour cela, il faut aussi essayer de diminuer les facteurs de risque de maladie) et à les utiliser mieux (en diminuant les pratiques à risque).

L'achèvement de ces travaux est prévu pour la fin de l'année 2013.

---

[77] Registre Fédéral Américain : https://www.federalregister.gov/articles/2012/01/06/2012-35/new-animal-drugs-cephalosporin-drugs-extralabel-animal-drug-use-order-of-prohibition

[78] Les espèces animales ciblées sont les animaux producteurs de denrées alimentaires (Ex. bovins, lapins, porcins, salmonidés, volailles…) et les animaux de compagnie (Ex. canins, équins, félins…).

[79] Mesure N° 19 du Plan Écoantibio : voir p. 67.

La résistance aux antibiotiques en milieu vétérinaire, quelles définitions ?

Pascal SANDERS

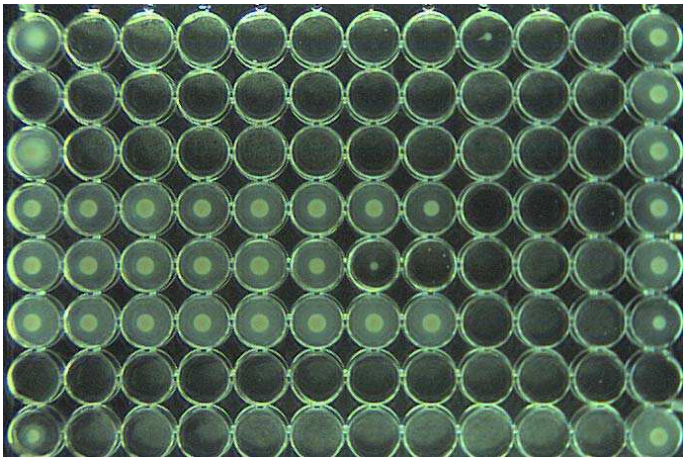
Mots-clés : antibiogramme, bactérie, définition, épidémiologie, multi-résistance, pharmacocinétique, sensibilité, souche, *Staphylococcus aureus,* SARM, surveillance, valeur seuil

En médecine vétérinaire comme en médecine humaine, la sensibilité à un antibiotique varie d'une espèce bactérienne à l'autre. Comment distinguer les souches sensibles des souches résistantes ? Comment les diagnostiquer pour limiter les échecs thérapeutiques ? Comment les surveiller pour alerter et encourager un usage durable des antibiotiques ?

Le concept de concentrations minimales inhibitrices (CMI)

Dès la découverte des antibiotiques, les premières résistances cliniques ont été observées chez des malades, le plus souvent à l'hôpital. Dès les années 1960, dans les cas d'infections sévères, le médecin pouvait s'appuyer sur un antibiogramme. Il s'agit d'un examen de laboratoire qui permet d'apprécier la sensibilité d'une souche bactérienne prélevée sur un organe malade vis-à-vis de tel ou tel antibiotique. Mais comment interpréter les résultats d'antibiogrammes ?

Ceux-ci sont exprimés en concentrations minimales inhibitrices (CMI), c'est-à-dire la concentration qui bloque la croissance bactérienne. Pour une souche bactérienne isolée et identifiée en tant qu'espèce bactérienne, il y en a autant qu'il y a d'antibiotiques testés. Les CMI sont obtenues en étudiant la croissance sur 18 à 24 h d'une souche bactérienne dans un milieu liquide ou solide contenant une concentration d'antibiotique définie. Une méthode indirecte, couramment utilisée en diagnostic vétérinaire est basée sur la détermination de diamètre d'inhibition en plaçant une pastille d'antibiotique dans une boite de Pétri. L'antibiotique diffuse autour de la pastille en un halo de concentration décroissante, qui se traduit par un cercle sans bactérie, d'autant plus grand que la CMI est faible. Des tableaux de correspondance entre CMI et diamètre sont définis dans le cadre de la standardisation des méthodes.



Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) : exemple de plaque
(Source : Anses, Laboratoire de Fougères)

L'augmentation, dans certains états européens, de la prévalence de la résistance acquise, le développement de l'incidence de bactéries pathogènes présentant une multi-résistance et la réduction du développement de nouveaux antibiotiques ont conduit le monde médical à mobiliser les instances européennes et mondiales pour préconiser l'utilisation de méthodes standardisées pour évaluer les CMI, de manière à éviter qu'une souche classée sensible dans un pays

européen soit déclarée intermédiaire, voire résistante dans un autre. Au plan européen, un travail de collection et d'analyse des CMI pour des milliers de souches par espèce bactérienne a été effectué pour définir leurs courbes de distribution statistique à des fins de surveillance épidémiologique.

En parallèle, une seconde étape de standardisation européenne a été l'harmonisation de la définition de la résistance à un antibiotique donné pour un traitement chez l'homme. Pour un antibiotique donné, il y a trois catégories de souches bactériennes :

- Les ***souches sensibles (S)*** pour lesquelles la CMI est inférieure à la concentration en antibiotique atteinte au site d'infection d'un patient traité avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) ; La probabilité de succès thérapeutique est forte.
- Les ***souches intermédiaires (I)*** pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible ;
- Les ***souches résistantes (R)*** pour lesquelles la CMI est trop forte par rapport aux concentrations atteignables avec les doses d'antibiotiques qui peuvent être administrées au patient. Il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique.

Ces définitions sont basées les résultats cliniques disponibles et sur des approches sophistiquées dites pharmacocinétiques[80]/pharmacodynamiques[81] pour évaluer l'effet d'un antibiotique, qui prennent en compte l'évolution de la concentration d'antibiotique dans le corps du patient (elle évolue au cours du traitement en fonction des processus d'absorption, de distribution et d'élimination des molécules après chaque administration), et le comportement des agents pathogènes qui varie en fonction de la concentration. Ces données sont interprétées par un comité européen d'experts médicaux (www.eucast.org).

Le concept d'antibiogramme a d'abord été développé en médecine humaine. Il s'est étendu à la médecine vétérinaire avec, en 2004, au niveau Français, la prise en compte de molécules qui n'étaient utilisées que chez l'animal. Il s'agissait également d'adapter les techniques utilisées en médecine humaine pour pouvoir interpréter au mieux la valeur pronostique[82] d'un antibiogramme vétérinaire, dans un contexte de diversité d'espèces animales et de médicaments vétérinaires. Dans le cadre vétérinaire, il s'agit également de soigner l'animal efficacement sans nuire à la sécurité sanitaire de l'homme (en diffusant des gènes d'antibiorésistance sans bénéfice).

La définition de concentrations critiques (S, I, R) pose, comme en médecine humaine, un certain nombre de questions méthodologiques. Cela suppose par exemple, de passer en revue, pour chaque espèce animale (Ex. bovin, poisson, volaille…), les principales indications thérapeutiques des antibiotiques selon les voies d'administration (Ex. intramusculaires, orales…) et les posologies.

De la surveillance épidémiologique à un outil de gestion intégrée

Les antibiotiques peuvent aussi agir à faibles doses comme facteur de croissance, améliorant ainsi la productivité d'un élevage. Cette pratique a progressivement été interdite en Europe avec un coup d'arrêt définitif en 2006. Aujourd'hui, les antibiotiques sont strictement utilisés comme médicaments et soumis à prescription vétérinaire pour les animaux producteurs de denrées alimentaires et les animaux de compagnie. Afin de suivre les effets de cette politique et de surveiller au mieux l'évolution des résistances aux antibiotiques, de nombreuses actions ont été menées dans le domaine vétérinaire.

Au cours de cette dernière décennie, des progrès ont été réalisés :

- Dans la collecte d'informations sur l'utilisation des antibiotiques en médecine vétérinaire. La question qui se pose actuellement est la définition d'indicateurs d'exposition établis et harmonisés internationalement qui pourraient être

[80] L'étude du devenir de l'antibiotique dans le corps.

[81] L'étude de l'action de l'antibiotique.

[82] C'est-à-dire la capacité à prédire l'efficacité d'un traitement.

utilisés dans le monde animal comme la dose définie journalière pour l'homme83 ;

- Sur la surveillance de la résistance des bactéries pathogènes par les animaux par la montée en puissance du réseau national « Résapath » ;
- Sur la surveillance de la résistance aux antibiotiques des bactéries animales, transmissibles par l'alimentation (Ex. Salmonella sp. et Campylobacter sp.)

et de bactéries dites « indicatrices » (Ex. Escherichia coli et Enterococcus sp.)84, toutes pouvant être présentes au sein du microbiote intestinal des animaux. Cette surveillance a été harmonisée grâce au cadre réglementaire européen et à l'organisation d'un réseau de laboratoires de référence.

Plus que jamais ces actions combinant la surveillance des usages et l'apparition de résistances sont nécessaires.





Antibiogrammes par diffusion (Source : Eric Jouy, Anses - Laboratoire de Ploufragan)

E. coli ne présentant pas de résistance aux 16 antibiotiques testés

E. coli résistant à 13 antibiotiques sur les 16 testés

Le savez- vous ?

Des études de prévalence peuvent être également mises en place pour étudier plus particulièrement une espèce bactérienne et un profil de résistance particulier. C'est le cas par exemple des études menées sur la présence de SARM dans la poussière des élevages de porcs en Europe. Le SARM qui peut aussi infecter l'homme est considéré comme facteur de risque, ce qui conduit à considérer comme populations à risque les personnes travaillant auprès des animaux (vétérinaires, éleveurs et leurs familles). Ces études montrent de fortes variations entre les États membres, certains étant exempts de SARM. Ces différences ne seraient pas le reflet des usages antibiotiques mais des pratiques d'élevage, notamment des échanges d'animaux entre les élevages.

[83] Il s'agit d'une valeur repère de la quantité de médicament administré chaque jour à un homme de 70 kg.

[84] Ex. réseau *Salmonella* et réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales (Résapath), pp. 60-62.

Le coût biologique de la résistance chez les bactéries Campylobacter

Le coût biologique de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries Campylobacter coli et Campylobacter jejuni

Isabelle KEMPF et Salman ZEITOUNI

Mots-clés : *Campylobacter coli, Campylobacter jejuni,* compensation, coût biologique, fluoroquinolones, macrolides

Les bactéries ***Campylobacter*** sont particulièrement surveillées. Elles colonisent le tube digestif de nombreux oiseaux et mammifères et sont à l'origine de zoonoses (Ex. campylobactérioses, diarrhées, entérites…). Elles peuvent se transmettre à l'homme principalement par voie alimentaire, après consommation d'aliments contaminés, insuffisamment voire pas cuits, en particulier dans les produits de grande consommation tels la viande de poulets. Elles peuvent aussi être transférées d'aliments contaminés (Ex. peaux de poulets) vers d'autres aliments consommés crus (Ex. salade, tomates) ou des surfaces comme les planches à découper, les couteaux et les assiettes. Elles sont aujourd'hui les principales causes bactériennes de gastro-entérites humaines dans le monde.

La résistance acquise aux fluoroquinolones ou aux macrolides

Deux espèces sont fréquemment à l'origine de gastro-entérites chez l'homme, *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli.* Les symptômes apparaissent quelques jours après l'infection. Parmi les plus courants figurent la diarrhée (accompagnée souvent de sang), des douleurs abdominales, les nausées et/ou les vomissements. Les conséquences peuvent être graves chez les jeunes enfants, les personnes âgées ou encore les personnes immunodéprimées et nécessitent alors le recours aux antibiotiques (fluoroquinolones ou macrolides).

Malheureusement, des souches de *Campylobacter* résistantes aux fluoroquinolones ou aux macrolides sont présentes dans les élevages et dans les produits de consommation et peuvent conduire, dans de rares cas, à des impasses thérapeutiques chez l'homme. Ces souches résistantes ont été sélectionnées en élevage du fait de l'utilisation de ces antibiotiques, et des modifications du patrimoine génétique permettent à *Campylobacter* de résister, de survivre, voire de se multiplier en la présence de l'antibiotique. Que se passe-t-il ensuite ?

Si la présence de macrolides ou de fluoroquinolones sélectionne des bactéries mutantes résistantes, le maintien de ces mutants voire leur capacité à se répandre dépend des capacités d'adaptation à différentes conditions environnementales et plus généralement de leur « compétitivité » ou « fitness » face à d'autres bactéries en compétition pour les mêmes ressources. Cela n'est pas évident : s'adapter pour résister à un antibiotique peut aussi avoir des inconvénients. Dans le cas des macrolides, il y a modification du ribosome (la cible des macrolides) qui fabrique les protéines indispensables à la bactérie et celui-ci peut devenir moins efficace. Pour les fluoroquinolones, la cible de l'antibiotique est la gyrase, une enzyme impliquée dans la réplication de la bactérie. On parle ainsi de « coût biologique » car la (les) mutation(s) responsables(s) de la résistance aux antibiotiques peuvent constituer un handicap pour la bactérie en absence de l'antibiotique. Mais parfois, la bactérie peut restaurer sa compétitivité grâce à de nouvelles mutations, tout en conservant son caractère de résistance.

Alors, si la bactérie n'est pas handicapée par sa résistance, elle peut survivre, même si l'antibiotique n'est plus là pour aider à sa sélection. Ainsi, d'après

Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Anses

la FDA[85], trois ans après l'interdiction d'utilisation des fluoroquinolones en aviculture aux États-Unis, la proportion de souches de *C. jejuni* résistantes à la ciprofloxacine[86] dans les produits de découpe de poulets restait toujours stable : aux alentours de 15 %.



Élevage intensif de poulets en Floride
(Auteur : Larry Rana, USDA)

Le coût biologique

Cette notion de coût biologique doit être prise en compte pour éclairer l'évolution des souches résistantes de *Campylobacter*. Le risque est la persistance de souches résistantes de *Campylobacter*, même après l'abandon de certains antibiotiques (Ex. fluoroquinolones, macrolides…).

Une première approche consiste à cultiver et comparer en laboratoire les souches résistantes de *Campylobacter*, c'est-à-dire *in vitro*. Mais nous sommes loin du milieu naturel dans lequel ces bactéries se développent. Peu d'études ont été effectuées *in vivo* ni au niveau de l'alimentation, ni sur l'exposition du tube digestif du poulet (réservoir naturel de la bactérie) pour comprendre le coût biologique de cette résistance aux antibiotiques.

L'originalité de ce projet est justement d'observer le devenir de bactéries résistantes dans leur « milieu naturel ». Plusieurs expériences indépendantes ont été conduites sur des poulets, visant à comparer le devenir de souches de *Campylobacter* mutantes résistantes aux fluoroquinolones ou aux macrolides lorsqu'elles sont mises « en compétition » avec les mêmes souches sensibles de *Campylobacter*. Des souches résistantes sont préparées *in vitro* (on cultive pour cela des *Campylobacter* en présence de l'antibiotique) puis vérifiées (on observe si les mutations génétiques qui confèrent la résistance sont présentes). On teste ensuite leur adaptation en conditions réelles :

- Ainsi par exemple, pour *C. jejuni* et pour *C. coli,* dans les conditions expérimentales utilisées, la résistance aux fluoroquinolones est stable et entraine une moindre compétitivité lors de la colonisation du poulet. Toutefois, d'autres équipes ont montré que certaines souches de *C. jejuni* résistantes étaient aussi compétitives, voire plus compétitives que les souches sauvages sensibles (Luo et al, 2005).
- Pour *Campylobacter coli*, si le mutant résistant aux macrolides est inoculé avant la souche sensible, il persiste aussi bien que la souche sensible. Les niveaux d'implantation chez le poulet et de diffusion entre animaux sont tout à fait comparables entre les deux souches.
- Pour *Campylobacter jejuni*, le mutant résistant aux macrolides voit ses capacités de colonisation et de diffusion fortement diminuées. La mutation diminue sa compétitivité. Mais une deuxième mutation peut apparaitre qui lui rend des capacités de colonisation du poulet similaires à celle de la souche sauvage sensible.

Ces résultats soulignent les fortes facultés d'adaptation et de persistance des souches résistantes de *Campylobacter* et doivent inciter à un usage prudent des antibiotiques.

Équipe :

Anses, laboratoire Ploufragan-Plouzané
Isabelle Kempf et Salman Zeitouni

Durée : 3 ans

Financement : MRT (allocation de thèse pour Salman Zeitouni) et Anses

Contact : isabelle.kempf@anses.fr

[85] Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux : www.fda.gov
[86] Antibiotique à large spectre qui appartient à la famille des quinolones de 2ème génération ou fluoroquinolones.

Les activités de l'Anses

À la demande du Ministère chargé de l'agriculture, l'Anses se préoccupe depuis 1999 de définir et surveiller des indicateurs pertinents en matière de consommation d'antibiotiques dans les filières de productions animales et pour les animaux de compagnie, ainsi que de mesurer l'évolution de la résistance aux antimicrobiens des bactéries présentes chez les animaux. L'Agence publie ainsi, chaque année, un rapport sur le « ***Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France*** », un rapport de son « ***Réseau de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales*** » (Résapath) ainsi que des données de surveillance des bactéries zoonotiques obtenues dans le cadre de ses missions de référence.

La mise en perspective de ces rapports, complétée par des données issues d'enquêtes spécifiques dans certaines filières animales (volailles en 2008, porcs en 2009, bovins et lapins en 2010) permet de dresser un tableau des efforts consentis par les filières en terme de baisse de consommation d'antibiotiques et de mieux évaluer leur impact sur l'émergence de bactéries résistantes. Au cours de ces dernières années, l'Anses s'est montrée particulièrement vigilante sur l'émergence des résistances aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de 3ème et 4ème générations, antibiotiques considérés comme « critiques » pour le traitement de certaines infections graves de l'homme.

Au titre de ses **missions d'évaluation** des risques liés à l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques, l'Anses a mobilisé un groupe d'experts afin de formuler, sur une base scientifique indépendante, des recommandations pour éviter les pratiques à risques et prévenir le développement de l'antibiorésistance, dans le domaine de la santé animale (animaux de rente et animaux de compagnie).

Au titre de ses **missions de recherche**, l'Anses poursuit des travaux sur les mécanismes moléculaires de l'antibiorésistance, sur le « coût » de cette résistance pour les bactéries, sur les flux de gènes et de bactéries, ainsi que sur l'influence des pratiques de traitement[87] sur l'émergence des résistances.

Ainsi, les équipes d'épidémiologie s'attachent à définir les facteurs de risques d'apparition des maladies, qu'ils soient liés à la conduite d'élevage, à la configuration des bâtiments, à la conduite des traitements prophylactiques, aux facteurs d'environnement, aux facteurs humains… Les bactériologistes, quant à eux, développent des techniques de détection et de caractérisation des agents pathogènes, notamment au regard de leur résistance et gènes de résistances aux antibiotiques plus rapides et plus sûres, afin de disposer des informations nécessaires à la surveillance des méthodes et l'évaluation de la santé globale des troupeaux ou de la sécurité sanitaire des aliments qui concourent à l'amélioration de la prévention et des mesures de gestion.

[87] Ex. Traitements préventifs systématiques comme l'injection de C3G dans l'œuf embryonné ou sur le poussin de un jour.

Les réseaux de surveillance de l'antibiorésistance des bactéries à l'Anses

Les travaux de l'Anses en matière de surveillance de la résistance bactérienne reposent sur les activités de plusieurs systèmes complémentaires et des études de terrain. A côté des plans de surveillance de la résistance ciblés et pilotés par le Ministère en charge de l'agriculture, deux réseaux/dispositifs sont spécifiquement impliqués :

- Le **Résapath** collecte les données sur la résistance aux antibiotiques chez des bactéries isolées d'animaux malades dans le cadre du diagnostic vétérinaire ;
- Le réseau « **Salmonella** » recueille des souches de salmonelles d'origine non humaine (isolées de l'alimentation, de l'environnement ou de production animale) pour la détermination du sérotype et l'étude de leur sensibilité aux antibiotiques.

Résapath

Le Résapath est un réseau qui surveille l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France. Il est co-animé par deux laboratoires de l'Anses[88] et il coordonne une soixantaine de laboratoires départementaux publics ou privés ; il s'inscrit également dans une organisation plus large de la surveillance de l'antibiorésistance en Europe.

On peut faire remonter cette activité à 1982. Le réseau collectait alors les données d'antibiogrammes des bactéries pathogènes bovines[89], présentant des profils de résistance intéressants ou atypiques, afin d'étudier les mécanismes en jeu. Puis, la surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes s'est étendue aux porcs et aux volailles, avant de se développer, en 2007, chez les ovins, caprins, lapins, équidés, chiens, chats, etc. Toutes les bactéries pathogènes des animaux sont surveillées par le Résapath, au premier rang desquelles les bactéries *Escherichia coli* et *Salmonella*, mais également les staphylocoques et les streptocoques.



Antibiogramme d'une souche d'Escherichia coli

[88] Lyon et de Ploufragan-Plouzané

[89] Le réseau s'appelait alors « Resabo » (« bo » pour bovins).

En 2011, plus de 26.000 antibiogrammes ont été collectés, fournis par les laboratoires du réseau qui mettent ainsi leurs données en commun. Cette centralisation permet de recouper les informations et d'analyser plus en détail certaines souches dont le profil d'antibiorésistance présente un intérêt particulier, par exemple en cas d'émergence. Un fait marquant fut, par exemple, la détection en 2004, de souches d'*E. coli* résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) trouvées chez des bovins, des porcs et des volailles. De même, le Résapath a été acteur de l'identification de la première souche de pasteurelles d'origine bovine résistante au florfénicol[90] en France et de la connaissance du mécanisme d'antibiorésistance associé.

La surveillance des profils de résistance est très étroitement associée à une surveillance moléculaire en laboratoire, qui permet d'évaluer plus finement la portée des enjeux de santé publique lorsque des mécanismes de résistance ou des clones bactériens identiques sont retrouvés chez l'homme et l'animal. Cette caractérisation à partir des gènes fournit également des clés de compréhension sur l'épidémiologie de la résistance animale elle-même, par exemple sur des hypothèses de diffusion de la résistance entre filières animales par la mise en évidence de supports moléculaires identiques.

Cette démarche s'inscrit d'une manière générale dans les orientations prises par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), la Food and Agriculture Organization (FAO)[91] et l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) qui recommandent aux pays d'adopter des mesures en faveur de la sauvegarde des antibiotiques. Parmi celles-ci la nécessaire surveillance des populations de souches résistantes.

Il ne faut pas oublier que les souches voyagent et que l'antibiorésistance ne peut se traiter qu'au niveau mondial.

Salmonella

Les salmonelles sont l'une des principales causes d'intoxications alimentaires, les aliments à risque étant très diversifiés, le plus souvent ceux issus des filières animales. En France, pour l'année 2010, cette bactérie était (ou suspectée d'être) à l'origine de 141 foyers d'intoxication alimentaires collectives (soit 20% des foyers à agent confirmé ou suspecté), correspondant à 1357 cas d'infection humaine d'origine alimentaire.

Ces bactéries font l'objet d'une surveillance spécifique. Le réseau « *Salmonella* », coordonné par le laboratoire de sécurité des aliments de Maisons-Alfort (Anses), est un réseau national d'épidémiosurveillance ciblée, qui permet le suivi des salmonelles d'origine non humaine sur l'ensemble de la chaîne alimentaire. Ce réseau comprend aujourd'hui 150 laboratoires partenaires d'analyses alimentaires et vétérinaires, publics ou privés qui retransmettent régulièrement des souches et des informations épidémiologiques associées. À réception, un typage (sérotypage[92] et/ou typage moléculaire[93]) est réalisé ainsi qu'une étude de la sensibilité aux antibiotiques. L'ensemble des résultats de caractérisation (typage) associé aux informations épidémiologiques sont rassemblées dans une base de données. En 2012, plus de 20 000 données relatives aux isolats de Salmonella ont ainsi été collectées par le réseau.

Ces données sont divisées en trois secteurs de la chaîne agro-alimentaire :

- Le secteur "Santé et production animales" qui comprend les souches isolées de prélèvements effectués sur l'animal ou à partir de son environnement immédiat ;
- Le secteur "Hygiène des aliments" qui comprend les souches isolées de l'alimentation humaine ou animale et celles provenant de l'environnement des ateliers de transformation et des abattoirs ;

[90] Administration contre-indiquée chez les taureaux de reproduction.
[91] Organisation des Nations-Unies.
[92] Différenciation des bactéries sur la base de propriétés antigéniques
[93] Différenciation sur la base de propriétés génétiques

- Le secteur "Ecosystème naturel" qui regroupe toutes les souches issues du milieu naturel.

À partir de cette base de données, l'un de ses principaux objectifs du réseau Salmonella dégager des évolutions spatio-temporelles des isolats en fonction de leur sérotype, des secteurs d'isolement, des espèces animales et des catégories d'aliments. Il permet en particulier d'intervenir lors des investigations de cas groupés de salmonelloses en orientant vers des sources animales ou d'aliments pouvant être suspectés.

En parallèle de cette surveillance, les souches sont étudiées vis-à-vis de leur sensibilité à un panel d'antibiotiques et selon des critères adaptés à la détection de résistance pouvant avoir un impact en santé publique : résistance aux céphalosporines de 3ème génération (C3G), détection de BLSE (beta-lactamases à spectre élargi), diminution de sensibilité aux fluoroquinolones. En effet, si les Salmonelles sont naturellement sensibles à l'ensemble des antibiotiques testés, la surveillance ainsi réalisée a permis d'identifier ces dernières années une augmentation progressive de la résistance et la présence de souches multirésistantes. Néanmoins, de grandes disparités sont retrouvées selon les sérotypes et les espèces animales étudiées. Cette surveillance est par ailleurs complétée par les données des plans de surveillance organisés par le Ministère en charge de l'agriculture (DGAl) dans le cadre de la règlementation européenne et doit aussi se rapprocher des données obtenues pour les souches de Salmonella isolées chez l'Homme (données du CNR Salmonella, Institut Pasteur). Dans ce cadre, nous avons pu identifier ces dernières années la présence de gènes de résistances aux antibiotiques de souches isolées chez l'animal ou dans les aliments, identiques à celles d'origine humaine. Il s'agit en particulier de la présence de gènes codant pour les BLSE, de céphalosporinases, de souches de serovar Kentucky résistantes à la ciprofloxacine. Ce dispositif de surveillance de la résistance en temps réel permet d'alerter très rapidement les acteurs de terrains et les institutionnels lors de détection d'une résistante émergente au sein d'une souche isolée chez l'animal, dans un aliment ou dans l'environnement, présentant un danger pour la santé publique.

Cette démarche qui permet d'identifier l'émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques dans les différentes filières animales vient compléter la surveillance des salmonelles d'origine humaine (menée par l'Institut pasteur et l'Institut de veille sanitaire) et participe au dispositif de sécurité sanitaire des aliments.

Agence Nationale du Médicament Vétérinaire

Antibiorésistance : quelle stratégie pour l'ANMV à trois ans ?

Gérard MOULIN et Jean-Pierre ORAND

Mots-clés : antibiorésistance, Écoantibio, médicament vétérinaire

L'Anses *via* son Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV)[94] a pour mission d'évaluer, selon les réglementations nationale et européenne en vigueur, les risques liés aux médicaments vétérinaires. Elle est notamment responsable de :

- La délivrance des autorisations administratives relatives au médicament vétérinaire ;
- La surveillance des effets indésirables des médicaments vétérinaires (dont les vaccins) utilisés pour la prophylaxie, le diagnostic ou le traitement des maladies animales, après leur autorisation de mise sur le marché ;
- La délivrance des autorisations administratives et le contrôle des établissements pharmaceutiques ainsi que surveillance du marché des médicaments vétérinaires.

Pour mener à bien ses activités l'ANMV s'appuie fréquemment sur des activités de recherche des laboratoires de l'Anses. Elle travaille avec d'autres directions de l'Anses telle que la Direction de l'Évaluation des Risques lorsque cette dernière est amenée à évaluer des risques impliquant le médicament vétérinaire[95].

Le suivi de la consommation des antibiotiques

Le sujet de la résistance aux antibiotiques alimente les discussions et les débats tant au niveau de la santé humaine qu'au niveau de la santé animale. Utilisés pour traiter un grand nombre de maladies bactériennes, les antibiotiques ont permis de réduire le nombre de décès dus à ces maladies (zoonoses[96]) dans les élevages. Ces succès ont toutefois menés à une augmentation importante de l'utilisation de ces médicaments. Ils sont devenus trop ou mal employés et des cas de résistances se multiplient. De plus, les gènes d'antibiorésistance sélectionnés par cet usage sont également susceptibles d'être transmis à des agents pathogènes pour l'homme. Il importe donc de maitriser leur usage.

Depuis 1999, l'Agence nationale du médicament vétérinaire (Anses-ANMV) a initié un suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques. Ce suivi est réalisé en collaboration avec le Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactif. Il est fondé sur les déclarations de vente des titulaires d'autorisations de mises sur le marché. En 2011, le volume total des ventes d'antibiotiques en France a été le plus faible depuis la mise en place du suivi, soit 913,6 tonnes. Ce minimum fait suite à la diminution continue des tonnages vendus ces dernières années, par exemple - 9,9 % entre 2010 et 2011.

Mais ces chiffres doivent être considérés avec prudence. En effet, plus qu'une restriction des usages, on observe l'évolution des techniques : les antibiotiques récents sont généralement plus actifs et nécessitent l'administration d'une quantité plus faible d'antibiotiques »[97].

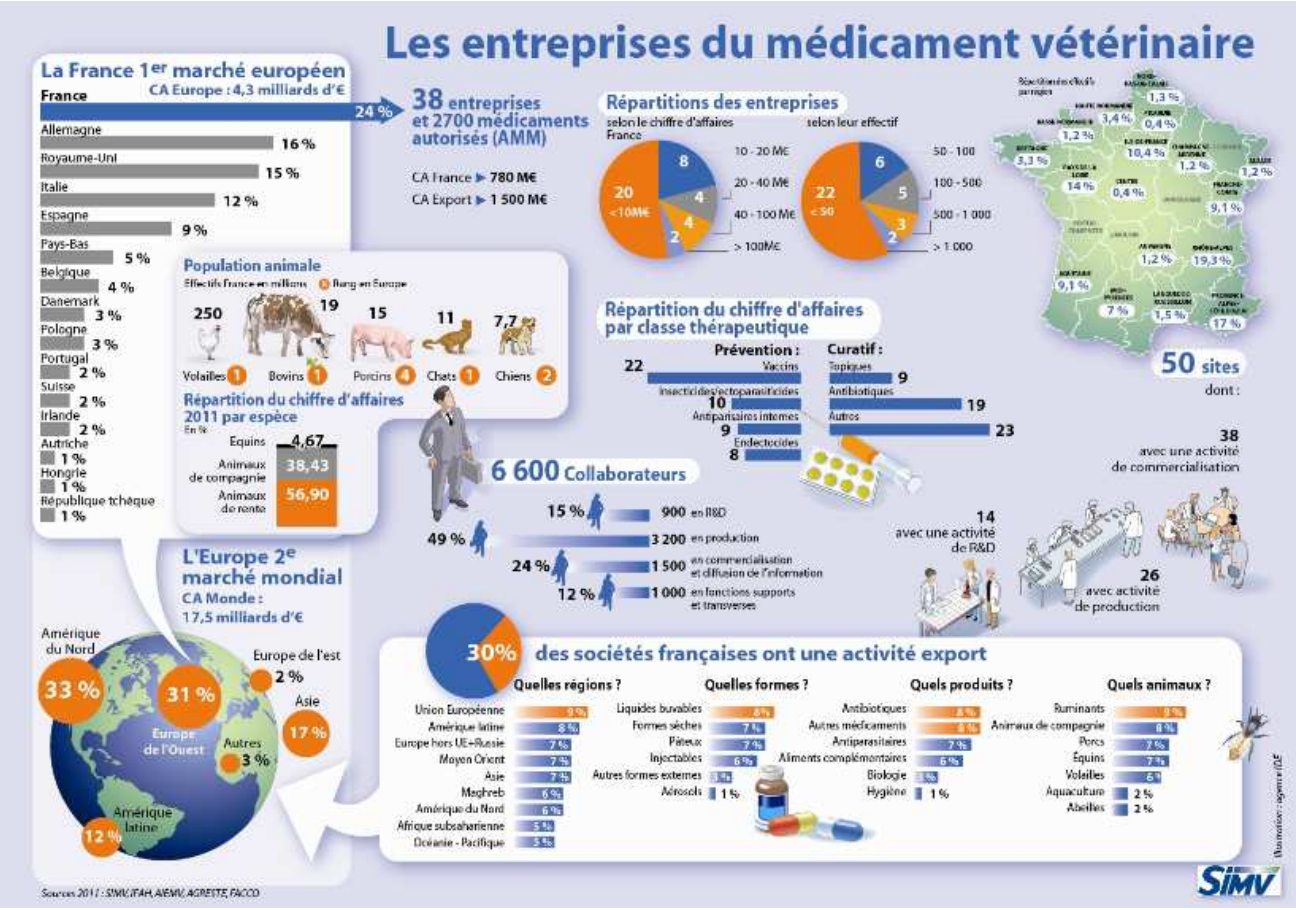
[94] Site internet : www.anses.fr/fr/thematique/médicament-vétérinaire

[95] Auto-saisine No 2011-02-092 sur les *Risques d'émergence d'antibiorésistances liés aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale*.

[96] Infections transmissibles à l'homme (Ex. campylobactériose, salmonellose…).

[97] Anses-ANMV, *Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2011*, p. 2.

D'autre part, cette évolution globale doit être nuancée en fonction des espèces animales et des familles de molécules. Ainsi, l'exposition aux céphalosporines de 3ème et 4ème générations a augmenté pour certaine espèces comme les bovins (+ 8,5 %) et les chats et chiens (+ 33,9 %). C'est pourquoi, dans un futur proche pour mieux documenter le suivi des usages, **des enquêtes seront menées par filière** en croisant les données de vente avec les posologies et les durées « théoriques » de traitement qui peuvent être éloignées de la réalité du terrain.



Le marché de la santé animale (2011)
(Source : Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactif)

Le plan Écoantibio 2017

Dans le cadre du plan Écoantibio[98] (2012-2017), l'ANMV pilote un certain nombre d'actions en relation avec le ministère en charge de l'agriculture et les représentants professionnels (Ex. vétérinaires, éleveurs, industriels…) qui ont pour objectifs de :

- Construire des outils d'auto-évaluation pour les éleveurs et les vétérinaires pour permettre d'identifier les marges de progrès possibles (Mesure N° 5) ;
- Améliorer les informations contenues dans les résumés des caractéristiques du produit (RCP) et insérer un message d'éducation sanitaire dans les notices de type « l'usage inapproprié d'antibiotiques provoque l'apparition de résistances » (Mesure N° 24) ;
- Renforcer le contrôle de la publicité sur les antibiotiques et promouvoir la vaccination (Mesure N° 31) ;
- Poursuivre le suivi des ventes d'antibiotiques et de l'exposition ou encore créer un observatoire de l'utilisation au sein de l'Anses-ANMV et analyser les données relatives aux aliments médicamenteux (Mesure N° 34).

[98] Voir page 67.

Un contexte réglementaire évolutif

Une bonne partie du suivi des médicaments vétérinaires se fait de façon harmonisée à l'échelle européenne, d'une part via les agences nationales travaillant en réseau avec l'agence européenne des médicaments (EMA)[99] située à Londres, d'autre part par la règlementation principalement européenne. Cette réglementation est en cours d'évolution et les nouveaux textes prendront mieux en compte le problème de l'antibiorésistance. L'ANMV joue un rôle actif dans ces domaines :

- Elle assure la représentation de la France au sein des groupes de travail et comités concernant le médicament vétérinaire à l'Agence européenne du médicament
- Elle participe de manière active aux discussions en cours au niveau européen en focalisant son action sur les groupes de travail jugés les plus importants[100] et sur la révision de la réglementation pharmaceutique vétérinaire.

Enfin au niveau international, l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) se préoccupe également de ce problème de santé publique. L'ANMV a un mandat de « centre collaborateur » de l'OIE pour le médicament vétérinaire. La question de l'antibiorésistance ne connaît pas de frontières.

[99] Site internet : www.ema.europa.eu

[100] L'AMEG (*AntiMicrobial Expert Group*) mis en place par la commission européenne et le JIACRA (*Joint InterAgency Consumption and Resistance Analysis EU expert working group*) pour analyser les résultats des systèmes de surveillance européens en matière de consommation et de résistance aux antibiotiques.

Les Plans nationaux

Un plan national sur les résidus de médicaments dans l'eau ou PNRM (2010-2015)

La France est le premier consommateur de médicaments humains et vétérinaires au niveau européen.

Les médicaments sont des molécules conçues pour être biologiquement très actives. Elles appartiennent à des familles de structures chimiques très diverses. Lors de la prise d'un médicament par une personne ou lors de son administration à un animal, une partie de la substance active n'est pas dégradée dans l'organisme ou bien elle est transformée en d'autres molécules également actives. On parle de « résidus de médicaments » qui sont excrétés dans les selles et les urines, rejoignant ainsi les réseaux des eaux usées ou l'environnement.

D'après une étude réalisée par l'Anses, en janvier 2011, un quart des échantillons d'eau testés contiennent des traces de médicaments[101]. Que ce soit via les réseaux d'eaux usées ou indirectement à travers les sols des décharges, en raison du ruissellement, ces résidus médicamenteux se diffusent dans les rivières comme dans les nappes souterraines. Bien que les quantités mesurées dans les milieux aquatiques soient faibles, dans la gamme de un à mille nanogrammes par litre[102], les conséquences environnementales et sanitaires sont encore mal connues.

En mai 2011, l'Etat Français a lancé le plan national sur les résidus de médicaments dans les eaux. Il comprend des actions qui se répartissent en trois grands axes qui consistent à :

- « Acquérir des connaissances scientifiques et techniques relatives à la présence, au devenir et aux effets de ces médicaments sur l'environnement et sur la santé humaine.
- Contrôler et réduire les émissions de résidus de médicaments dans l'environnement.
- Lancer des appels à projets de recherche et des expertises scientifiques collectives sur des sujets ciblés prioritaires »

Parmi les sujets de recherches mentionnés pour le troisième axe « étudier la relation entre les rejets d'antibiotiques et le développement d'antibiorésistance et son impact sur l'écologie microbienne et la bioremédiation. »

Un plan national d'alerte sur les antibiotiques (2011-2016)

Ce plan d'alerte fait suite à deux plans nationaux[103] qui visaient à préserver le bon usage et l'efficacité des antibiotiques. S'ils ont permis au cours de la période 2000-2010 de faire baisser la consommation d'antibiotiques, une tendance à la reprise a été constatée par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) qui publie régulièrement, sous l'égide du Ministère de la santé, le niveau de consommation des antibiotiques. Ces médicaments étant plus largement prescrits en ville qu'en milieu hospitalier, différentes actions ont été menées à l'attention des professionnels de santé (prescripteurs), des patients et du grand public invitant à un usage prudent, raisonné et responsable.

[101] Anses – Laboratoire d'hydrologie de Nancy, *Campagne nationale d'occurrence des résidus de médicaments dans les eaux destinées à la consommation humaine*, rapport, janvier 2011.
[102] Un nanogramme par litre correspond à un milliardième de gramme dilué dans un kilogramme d'eau.
[103] Plans 2001-2005 et 2007-2010 pour préserver l'efficacité des antibiotiques.

Des recommandations pour les professionnels de santé

Le mésusage des antibiotiques peut conduire à la colonisation ou l'infection de patients par des bactéries résistantes telles que les *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), c'est-à-dire d'enzymes capables de :

- Décomposer les pénicillines, les céphalosporines de 1ère, 2ème, 3ème et 4ème générations ;
- Provoquer des infections communautaires, notamment urinaires.

Ces enzymes « émergentes » représentent une menace pour la sécurité des patients car elles peuvent par exemples, retarder la mise en œuvre d'un traitement antibiotique approprié ou entraîner des complications, conduisant parfois au décès. Et si la résistance aux antibiotiques continue d'augmenter, il n'y aura bientôt plus d'antibiotiques efficaces pour traiter les infections bactériennes. D'où la mise en œuvre d'une stratégie pluridisciplinaire qui permette d'améliorer les pratiques de prescription des antibiotiques et de diminuer la résistance bactérienne :

- Recommandations à l'attention des prescripteurs de ville et de l'ensemble des acteurs de soins ;
- Information et formation continues des professionnels ;
- Dispensation contrôlée des antibiotiques en établissements de santé et médico-sociaux ;
- Suivi des données de résistance et des données de consommation des antibiotiques.

Plan Écoantibio (2012-2017)

En médecine vétérinaire comme en médecine humaine, la prescription d'antibiotiques n'est pas automatique.

Les antibiotiques sont en effet des médicaments particuliers, à la fois limités en nombre et indispensables à la santé de l'homme et des animaux. Leur utilisation mal contrôlée mène vite à la perte de leur efficacité. Pour cette raison, leur utilisation doit désormais être pensée différemment et il convient d'y avoir recours, de façon plus prudente et plus ciblée que par le passé.

Depuis 2001, le ministère de la santé a lancé trois plans successifs visant à préserver l'efficacité des antibiotiques à usage humain, le dernier en date étant le plan national d'alerte sur les antibiotiques (2011-2016)[104].

La lutte contre l'antibiorésistance implique aussi de restreindre d'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire. Plusieurs actions avaient déjà été mises en place en ce sens par les pouvoirs publics :

- Dès 1999, suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques par l'Agence nationale du médicament vétérinaire (ANMV) ;
- Depuis janvier 2006, interdiction d'utiliser des antibiotiques comme facteurs de croissance pour limiter les risques de dissémination de l'antibiorésistance[105] ;
- Il existe également un plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire, plus brièvement le plan Écoantibio, qui a été initié en 2011 par le Ministère en charge de l'agriculture. Avec ce plan, la France fait partie des premiers pays européens à se mobiliser concrètement en faveur de la réduction des risques de développement de bactéries résistantes aux antibiotiques[106]. Ce plan a été en effet lancé en même temps qu'un plan européen dont il décline les objectifs au niveau national.

Ce plan prévoit un usage prudent et raisonné des antibiotiques avec un double but. Tout d'abord, diminuer la

[104] http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan_antibiotiques_2011-2016_DEFINITIF.pdf

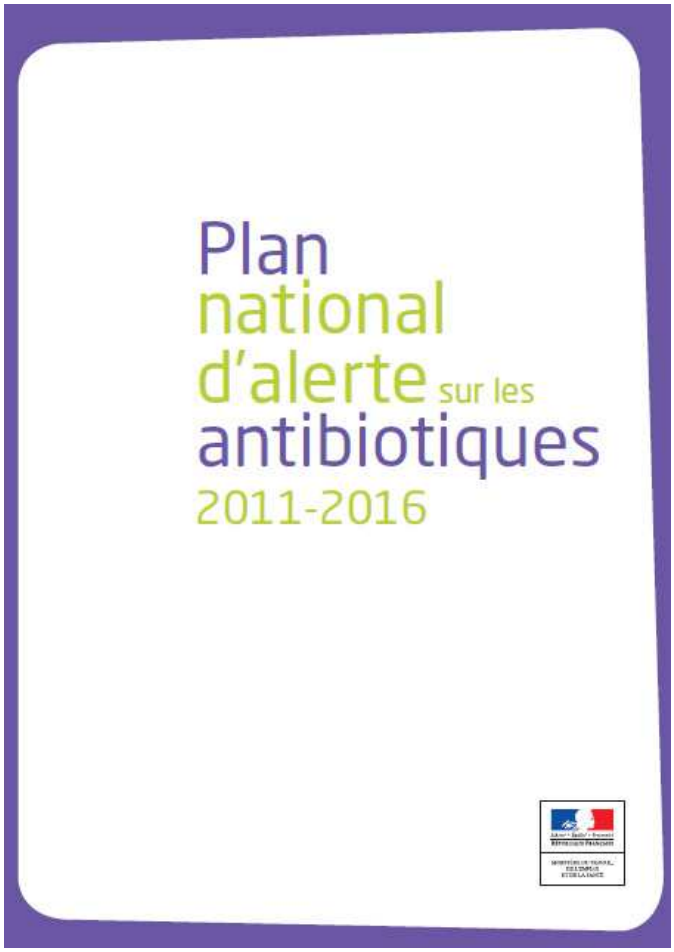
[105] C'est la déclinaison d'une décision prise au niveau européen.

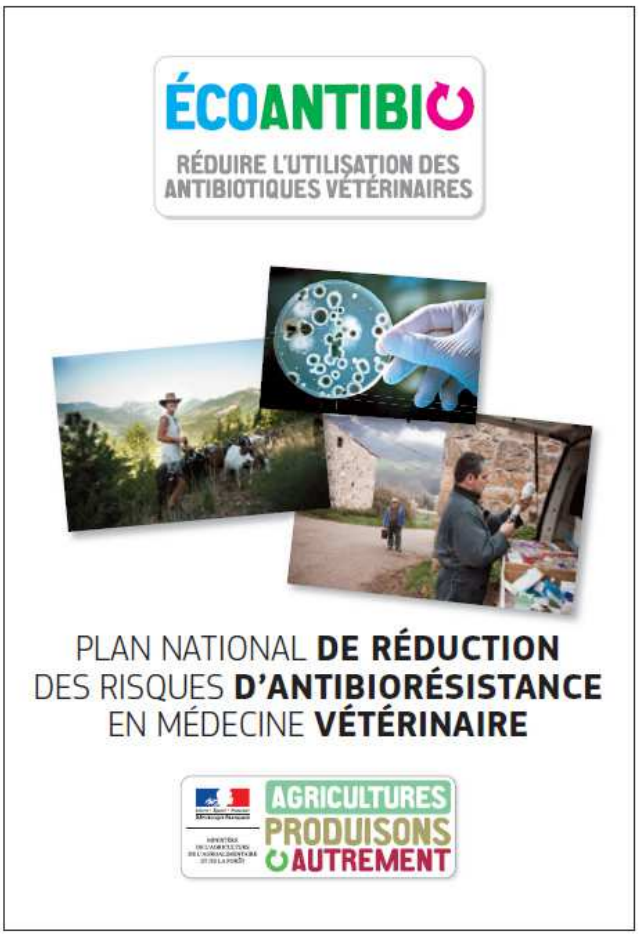
[106] Résolutions du Parlement européen des 12 mai et 27 octobre 2011.

contribution des antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire à la résistance bactérienne, sans altérer la santé des animaux. D'autre part, préserver durablement l'efficacité des traitements, d'autant plus que la perspective de développement de nouveaux antibiotiques est réduite.

En terme quantitatif, l'un des objectifs poursuivis est la réduction de 25 % en cinq ans de l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire. Ce plan se décline donc en cinq axes :

1. Promouvoir les bonnes pratiques et sensibiliser les acteurs aux risques liés à l'antibiorésistance et à la nécessité de préserver l'arsenal thérapeutique ;
2. Développer les alternatives limitant le recours aux antibiotiques ;
3. Renforcer l'encadrement et réduire les pratiques à risque ;
4. Conforter le dispositif de suivi de la consommation des antibiotiques et de l'antibiorésistance ;
5. Promouvoir les approches européennes et les initiatives internationales.





Index des substances actives et des préparations citées

Acide carbamique, 7
Acide nalidixique, 33
Amoxicilline, 33
Ampicilline, 38
Amprolium, 32
Arsenic, 5
Bti, 11, 13, 15, 16, 19
Carbaryl, 7
Carbone, 7
Chaux soufrée, 5
Chlore, 7
Ciprofloxacine, 58, 61
Clindamycine, 38
Clothianidine, 7
DDT, 5, 7
Deltaméthrine, 7, 11, 13, 16, 17, 18
Dieldrine, 7
Diflubenzuron, 16, 19
Erythromycine, 33
Fénitrothion, 13
Florfénicol, 60
Fluor, 33
Imidaclopride, 7
Ivermectine, 28, 29
Méthicilline, 37, 38, 50
Oxyde de zinc, 52
Pénicilline, 33, 42, 66
Perméthrine, 9
Phosphore, 7
Propoxur, 7
Pyrèthre, 5, 7
Pyriproxyfène, 16, 19
Quinoléine, 33
Roténone, 5
Soufre, 5, 33
Spinosad, 16, 19
Streptomycine, 33, 43
Sulfaquinoxaline, 32
Téméphos, 13, 16, 18
Thiaméthoxame, 7
Toltrazuril, 32
Vancomycine, 38

Glossaire

A	
Abiotique	Qui concerne la matière inerte, en opposition à la matière vivante (biotique).
Acétylcholine	Substance qui intervient dans le fonctionnement du système nerveux. Elle transmet un signal d'un neurone à l'autre. Une fois le signal transmis, elle est détruite par une enzyme (l'acétylcholinestérase) en quelques millisecondes.
Adjuvant	Substances ou préparations destinées à être mélangées par l'utilisateur avec un produit phytopharmaceutique et qui renforcent son efficacité ou d'autres propriétés pesticides.
ALEA	Niveau d'exposition de l'animal aux antibiotiques (En anglais : « *Animal Level of Exposure to Antimicrobials* »)
Allèle	Variante d'un gène, issue d'une mutation, qui favorise souvent l'apparition de nouveaux caractères héréditaires.
AMM	Autorisation de mises sur le marché (accordée par l'Etat ou une agence selon la nature du produit concerné).
Antibiogramme	Examen de laboratoire permettant d'apprécier la sensibilité d'une bactérie vis-à-vis de divers antibiotiques.
Antibiorésistance	L'antibiorésistance est le phénomène naturel de défense des bactéries en réponse à l'action exercée par l'antibiotique. Certaines bactéries auparavant sensibles à l'antibiotique ne sont plus détruites ou leur multiplication n'est plus arrêtée.
Antibiotiques	Les antibiotiques sont des substances naturelles ou de synthèse capables de détruire ou d'arrêter la multiplication des bactéries. Lorsqu'ils sont contenus dans des médicaments, ils permettent de traiter des maladies humaines et animales d'origine bactérienne. Ils n'ont en revanche aucune action contre les virus.
Apoptose	Processus d'autodestruction d'une cellule en réponse à un signal.
Apport journalier maximum théorique (AJMT)	Quantité maximale théorique d'une substance active donnée qu'un individu est susceptible d'ingérer quotidiennement tout au long de sa vie (en µg de substance active/ kg de poids corporel / jour). L'AJMT est une approche maximaliste de l'exposition car elle prend en compte une contamination systématique de l'ensemble des aliments au seuil réglementaire (LMR).
Arbovirus	Virus transmis par les arthropodes (Ex : moustiques, tiques...)
ArfD, Dose de référence aigue (DRfA)	Désigne la quantité maximum de substance active (exprimée en mg de substance active par kg de poids corporel) qui peut être ingérée par le consommateur pendant une journée ou moins, dans la nourriture ou l'eau de boisson, sans effet dangereux pour sa santé (pour « *acute reference dose*»). Elle est calculée à partir d'une dose sans effet observé (DSE) et d'un facteur de sécurité. La DSE choisie pour le calcul est issue de l'étude la plus appropriée sur une espèce animale sensible et représentative. Le facteur de sécurité tient compte de la variabilité intra et inter-espèce et de la nature des effets de la substance.
Arthropode	Animal invertébré dont le corps est segmenté et recouvert d'un squelette externe (cuticule) résistant et imperméable (Ex. araignée, crabe, moustique, punaise, scorpion, tique…)
ATC	Classification Anatomique, Thérapeutique et Chimique. C'est un Système utilisé pour classer les médicaments.
B	
Bactérie	Les bactéries sont des organismes vivants à une cellule dont la taille est de l'ordre du millionième de mètre. Elles sont omniprésentes y compris à l'intérieur du corps. Certaines d'entre elles peuvent causer des maladies.
Biopesticide	Contraction de pesticide biologique. Utilisation d'organismes vivants pour la lutte biologique. Un exemple classique est *Bacillus thuringiensis* une bactérie qui produit une molécule insecticide.
BLSE (Bêta-Lactamases à Spectre Étendu)	Ce sont des enzymes qui inactivent les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines à laquelle appartiennent la pénicilline et les céphalosporines.

BMR	Bactérie dite multi-résistante qui résiste à plusieurs sortes d'antibiotiques.
Bonnes pratiques agricoles (BPA)	Ensemble de règles à respecter dans l'implantation et la conduite des cultures de manière à optimiser la production agricole, tout en réduisant au maximum les risques liés à ces pratiques, tant vis-à-vis de l'homme que vis-à-vis de l'environnement.
Bonnes pratiques de laboratoire (BPL)	Les principes de bonnes pratiques de laboratoire (BPL) constituent un mode d'organisation couvrant l'ensemble des aspects organisationnels et opérationnels liés à la réalisation des essais de sécurité non cliniques sur les produits chimiques. Ils ont pour but de garantir la qualité, la reproductibilité et l'intégrité des données générées à des fins réglementaires, afin que celles-ci puissent être reconnues au niveau international sans qu'il soit nécessaire de reproduire les études. (ANSM)
Bonne pratique phytosanitaire	Pratique impliquant que les traitements au moyen de produits phytopharmaceutiques appliqués à des végétaux ou produits végétaux donnés, conformément aux conditions de leurs utilisations autorisées, soient sélectionnés, dosés et dispensés dans le temps de manière à assurer une efficacité optimale avec la quantité minimale nécessaire, compte tenu des conditions locales et des possibilités de contrôle cultural et biologique.
C	
C3G - C4G	Antibiotique de la classe des céphalosporines (voir p. 34). Les céphalosporines sont classées par générations qui diffèrent notamment par les bactéries sur lesquelles elles agissent. C3G signifie Céphalosporines 3ème génération et C4 G Céphalosporines 4ème génération.
Catalyse	Accélération d'une réaction chimique par une substance (catalyseur) qui intervient dans la réaction et qui est régénérée à la fin de celle-ci.
Caudectomie	Pratique consistant à raccourcir ou couper la queue de certains animaux notamment les chiens, les chevaux les porcs et les moutons.
CMI	Concentrations minimales inhibitrices. Pour un antibiotique donné, c'est la plus petite concentration qui inhibe la croissance d'une colonie de bactéries.
CNR	Centre National de Référence : laboratoires experts en microbiologie. Ce sont des observatoires des maladies transmissibles, qui, en centralisant les informations à l'échelle nationale, participent à la lutte contre ces maladies. Ils sont désignés Centres Nationaux de Référence par arrêté du ministère en charge de la santé pour une période de 5 ans.
Coformulant	Substances ou préparations qui sont utilisées ou destinées à être utilisées dans un produit phytopharmaceutique ou un adjuvant, mais qui ne sont ni des substances actives.
Communauté	Ensemble des personnes et êtres vivants (animaux, végétaux et micro-organismes) présents dans un même milieu (hors hôpital)
Concentration sans Effet Prévisible	(PNEC, « Predicted Non Effect Concentration » en anglais) est une grandeur utilisée pour évaluer les risques pour les organismes aquatiques. Elle désigne une concentration pour laquelle il n'est pas attendu d'effet sur l'ensemble des organismes aquatiques. Elle est déterminée en prenant en compte l'ensemble des informations disponibles ; elle couvre les effets potentiels de la substance active et des métabolites pertinents. Elle est exprimée en µg par litre. La PNEC de la substance active ne préjuge pas de la détermination d'une PNEC spécifique d'une préparation les coformulants pouvant modifier sa valeur.
Concentrations prédites dans l'Environnement	(PEC, « Predicted Environmental Concentration » en anglais) : pour les produits phytosanitaires, on évalue des PEC pour l'air, les eaux de surfaces, les eaux souterraines et les sols. Le devenir et la concentration d'une substance libérée dans l'environnement est conditionnée par de nombreux paramètres relatifs aux caractéristiques du produit (solubilité, coefficient d'adsorption/désorption,…), aux conditions dans lesquelles il est appliqué, au sol (structure, texture,…), au climat (pluviométrie, température,…), à la nature des nappes souterraines (profondeur, volume, taux de renouvellement,…), etc. Ces concentrations sont obtenues par l'utilisation de modèles.
Contamination des aliments	Teneur en résidus de pesticides pouvant se trouver sur et dans un produit destiné à l'alimentation humaine ou animale (exprimée généralement en mg de substance active par kg de denrée). Au niveau communautaire, les données de contamination des aliments (générées par chaque Etat membre dans le cadre de plans de surveillance et de contrôle réglementaires) sont communiquées à la Commission européenne et à l'Autorité

	Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) chargée d'établir un rapport annuel sur les résidus de pesticides depuis le 1er septembre 2008.
Cuticule	Du latin *cuticula* « petite peau », c'est la couche rigide et imperméable qui recouvre et protège les organes des insectes.
D	
DDD ou DDJ	Cette grandeur a été introduite par l'Organisation Mondiale de la Santé pour la santé humaine. Pour un médicament donné, c'est la dose journalière correspondant au traitement standard d'un adulte (« Defined Daily Dose » ou Dose définie journalière)
Dose de référence aiguë (DrfA ou ArfD)	Voir ArfD.
Dose Journalière Admissible	(DJA ; exprimée généralement en mg de substance active par kg de poids corporel et par jour) **:** quantité de substance qui peut être quotidiennement ingérée par le consommateur tout au long de sa vie sans effets néfastes pour sa santé. Elle est calculée, sur la base d'études toxicologiques.
Dose sans effet nocif observé (NOAEL)	Dose la plus élevée ne produisant aucun effet nocif observable au cours d'une étude de toxicité. L'acronyme généralement utilisé (NOAEL) est tiré de l'anglais «*No Observed Adverse Effect Level*».
Dose sans effet observé (DSE ou NOEL)	Pour une espèce donnée, la DSE (Dose Sans Effet observé) pour un lot d'animaux de laboratoire soumis à l'essai pendant une période déterminée (de 1 mois à 2 ans), est la quantité maximale de substance dont l'absorption quotidienne n'entraîne aucun effet sur les animaux testés. Le terme anglais équivalent á la DSE est NOEL : « *No Observed Effect Level* ». La DSE est exprimée soit en milligrammes de substance active par kilogrammes de poids corporel de l'animal testé et par jour soit en milligrammes de substance par kilogramme de nourriture (ppm) lorsqu'il s'agit s'agit d'une concentration alimentaire.
E	
Écotoxicité	Propension d'une substance à provoquer des effets néfastes sur les organismes vivants et les écosystèmes.
Évaluation des risques a posteriori	Évaluation des risques réalisée après l'homologation d'un produit, à partir de données de consommation et de contamination des aliments, et en tenant compte éventuellement des usages phytosanitaires autorisés et des pratiques phytosanitaires des agriculteurs.
Évaluation des risques a priori	Évaluation des risques avant homologation des dossiers scientifiques et techniques normalisés de demande d'autorisation de produits phytosanitaires (substances actives ou préparations) soumis par les firmes à l'Agence française de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses).
Exposition chronique	Exposition à de faibles doses répétées d'une substance active sur une longue période (plusieurs années voire vie entière) par opposition à une exposition aiguë.
F	
Formulant	Substance ou préparation dépourvue d'activité biologique propre, incluse dans une préparation phytopharmaceutique ou biocide lors de la formulation afin de lui conférer les propriétés nécessaires à sa mise en œuvre.
Formulation	Combinaison d'une (de) substance(s) active(s) et de formulants destinée à faciliter l'application d'un pesticide et la rendre efficace dans le but recherché.
I	
Incidence (Taux d'incidence)	L'incidence mesure le risque de survenue d'une maladie ou de tout autre événement dans une population donnée. Il est calculé en divisant le nombre de nouveaux cas dans une population spécifique, durant une période de temps connue, par la population au début de la période. Il s'exprime en nombre de cas pour 100 000 personnes en précisant la période d'observation.
Infections nosocomiales	Les infections nosocomiales sont toutes les infections contractées dans un établissement de santé.
IST	Infection sexuellement transmissible
K	

"Knock-down" (KD)	Certains insecticides « assomment » littéralement un insecte. On parle d'effet "Knock-down".
L	
Lessivage	Phénomène d'entraînement, par l'eau (exemple eau de pluie), à travers les sols, de substances fixées sur des particules fines. Il participe notamment à la pollution des nappes phréatiques.
Limite Maximale de Résidus (LMR)	Grandeur exprimée généralement en mg de substance active par kg de denrée alimentaire. C'est la teneur maximale autorisée en résidus de pesticides pouvant se trouver dans un produit destiné à l'alimentation humaine ou animale. Les LMR sont fixées au niveau communautaire par la Commission européenne et au niveau international par le *Codex Alimentarius*.
Lixiviation	Percolation lente de l'eau à travers le sol, accompagnée de la dissolution des matières solides qui y sont contenues. Le liquide résultant est le lixiviat. L'eau peut ainsi se charger en substances toxiques lors de la traversée des sols ayant servi de décharges, ou des sols contenant des pesticides ou nitrates par exemple.
LNR	Pour chaque pathogène ou contaminant réglementé à surveiller, des laboratoires agréés pour la réalisation des analyses, ainsi qu'un laboratoire dit « de référence », sont désignés par les autorités sanitaires. Le laboratoire de référence est le garant de la fiabilité des analyses effectuées par l'ensemble des laboratoires agréés. Son mandat peut être national (LNR pour la médecine vétérinaire et CNR pour la médecine humaine) voire européen.
M	
Mace **Métabolisme**	En anglais : "*Modified acetylcholinesterase*". Ensemble de transformations et processus biochimiques subis par une ou des substances dans une cellule ou un organisme.
N	
NAC	Nouveaux animaux de compagnie.
Niveau d'application acceptable pour l'opérateur (NEAO ou AOEL)	Il désigne la quantité maximum de substance active à laquelle l'opérateur peut être exposé quotidiennement, sans effet dangereux pour sa santé. Plus connu sous l'acronyme AOEL (« *Acceptable Operator Exposure Level* »). Il est exprimé en milligrammes de substance active par kilogrammes de poids corporel et par jour. Il est calculé á partir d'une dose sans effet observé (DSE) et d'un facteur de sécurité (FS). La DSE choisie pour le calcul est issue de l'étude la plus appropriée sur une espèce animale sensible et représentative. Le facteur de sécurité tient compte de la variabilité intra et inter-espèce et de la nature des effets de la substance.
NOAEL	Voir « Dose sans effet nocif observé »
O	
OMS	Organisation mondiale de la Santé
Organismes nuisibles	Un organisme nuisible est défini comme toute espèce, souche ou biotype de végétal, d'animal ou d'agent pathogène nuisible pour les végétaux ou produits végétaux.
P	
Pathogène	Du grec *pathos qui* signifie "maladie, infection" et *genês* qui veut dire "engendrer", donc, qui peut engendrer une maladie
PCR	PCR est l'acronyme anglais de "*Polymerase Chain Reaction*", c'est-à-dire réaction de polymérisation en chaîne. C'est une technique réalisée *in vitro* qui permet de dupliquer les brins d'ADN. A partir d'un simple fragment d'ADN on peut obtenir un grand nombre de copies identiques.
Pesticides	Les pesticides (étymologiquement « tueurs de fléaux ») sont des produits obtenus le plus souvent par synthèse chimique, dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre les organismes nuisibles. D'un point de vue réglementaire, on distingue les pesticides utilisés principalement pour la protection des végétaux que l'on appelle produits phyto-pharmaceutiques ou plus communément produits phytosanitaires, les produits biocides, et les antiparasitaires à usage humain et vétérinaire.

Pharmacovigilance	L'objectif de la pharmacovigilance est de pouvoir détecter le plus rapidement possible tout signal émergent, qu'il s'agisse d'un effet indésirable inattendu, ou bien attendu mais dont la fréquence ou la gravité est inattendue et de prendre ensuite les mesures adéquates de gestion du risque, pouvant aller de l'ajout d'une précaution d'emploi au retrait de l'autorisation de mise sur le marché (AMM).
Photolyse	Clivage d'une ou de plusieurs liaisons chimiques du à l'absorption de lumière.
Phytoprotecteur	Substances ou préparations ajoutées à un produit phytopharmaceutique pour annihiler ou réduire les effets phytotoxiques du produit phytopharmaceutique sur certaines plantes.
Polluants Organiques Persistants (POPs)	Substances chimiques qui possèdent certaines propriétés toxiques et qui, contrairement à d'autres polluants, résistent à la dégradation, ce qui les rend particulièrement nuisibles pour l'homme et l'environnement. Les POP se bioaccumulent dans les organismes vivants, sont propagés par l'air, par l'eau et par les espèces migrantes et s'accumulent dans les écosystèmes terrestres et aquatiques (Décision 2006/507/CE du Conseil du 14 octobre 2004 relative à la conclusion, au nom de la Communauté européenne, de la convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants).
Prévalence	Nombre de cas d'une maladie, ou de tout autre problème de santé, dans une population définie à un moment donné. Elle se mesure en nombres de cas par 100 000 personnes en précisant l'éventuelle tranche sur laquelle est faite l'observation.
Produit phytosanitaire ou phytopharmaceutique	(également appelé spécialité phytosanitaire ou phytopharmaceutique) **:** préparation contenant une ou plusieurs substances actives. Les produits phytosanitaires sont destinés à protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action, exercer une action sur les processus vitaux des végétaux (à l'exception des substances nutritives), assurer la conservation des produits végétaux, détruire les végétaux indésirables ou détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.
Produits antiparasitaires	Ils comprennent les rodenticides utilisés pour lutter contre les souris, les rats ou autres rongeurs, les avicides pour lutter contre les oiseaux, les molluscicides utilisés pour lutter contre les mollusques, les piscicides utilisés pour lutter contre les poissons ; les insecticides, acaricides et produits utilisés pour lutter contre les autres arthropodes, les répulsifs et appâts.
Prophylaxie	Ensemble de moyens médicaux mis en œuvre pour empêcher l'apparition, l'aggravation ou la propagation d'une maladie.
Protozoaire	Etre vivant unicellulaire.
Pulvérisation intra-domiciliaire	Pulvérisation des murs intérieurs d'habitations avec un insecticide.
R	
RCP	Tous les produits pharmaceutiques ayant obtenus une autorisation de mise sur le marché ont un RCP (résumé des caractéristiques du produit). C'est un ensemble d'informations plus particulièrement destiné au professionnel de santé et constituant une des annexes de la décision d'AMM. (ANSM)
Résidus de pesticides	Une ou plusieurs substances présentes dans ou sur des végétaux ou produits d'origine végétale, des produits comestibles d'origine animale, ou ailleurs dans l'environnement, et constituant le reliquat de l'emploi d'un produit phytopharmaceutique, y compris leurs métabolites et produits issus de la dégradation ou de la réaction.
Ruissellement	Phénomène physique d'écoulement non organisé de l'eau sur un bassin-versant suite à des chutes de pluies. La force du ruissellement dépend d'une combinaison de paramètre multiples : l'intensité des précipitations, la valeur de la pente, la densité de la couverture végétale, les activités humaines...
S	
SARM	Staphylocoque doré résistant à la méthicilline voire à d'autres antibiotiques. Ils sont courants en milieux hospitaliers et également dans des réservoirs animaux (comme le cochon) Ils peuvent être à l'origine d'infections mortelles.
SGH	Système général harmonisé. C'est un système d'étiquetage des matières dangereuses. Il

	est destiné à unifier les systèmes nationaux en vigueur.
SIMV	Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire et Réactif.
Spécialité commerciale (ou préparation)	Mélanges, ou solutions composées de deux ou plusieurs substances, dont au moins une substance active, destinés à être utilisés comme produits phytopharmaceutiques.
Sporozoïte	Ce terme concerne les parasites unicellulaires. C'est la forme sous laquelle un tel parasite infecte un nouvel hôte.
STEP	Station d'épuration des eaux usée. C'est une installation qui retraite les eaux usées avant que celles-ci ne soient rejetées dans l'environnement.
Substances actives	Substances ou micro-organismes, y compris les virus, exerçant une action générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux, parties de végétaux ou produits végétaux.
Synergiste	Substances ou préparations qui peuvent renforcer l'activité de la ou des substances actives présentes dans un produit phytopharmaceutique. Les effets de l'association de la substance active et du synergiste sont supérieurs à la somme des effets individuels de chacun des composants.
Systémique	Qualifie une substance capable après pénétration dans la plante de migrer à l'intérieur de celle-ci. On peut par exemple les utiliser en enrobage de semences.
T	
TIAC	Toxi-infection alimentaire collective**.** Elle est définie par l'apparition d'au moins deux cas groupés similaires d'une symptomatologie, en général gastro-intestinale, dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire
Toxicité	Capacité d'une substance à provoquer des effets néfastes. En fonction de l'intensité et de la rapidité des effets, on distingue la toxicité aiguë, la toxicité subaiguë et la toxicité chronique.
U	
Usage	Emploi auquel est destiné une préparation phytopharmaceutique ou biocide. Pour les préparations phytopharmaceutiques il est généralement constitué d'un couple « plante/organisme nuisible » (Exemple : vigne/mildiou).
V	
Vecteur	Intermédiaire animal lors de la transmission d'une infection. Cela peut être des moustiques, des mouches, des mollusques, des rongeurs, etc. Par exemple, le paludisme est transmis par la piqure d'un moustique infecté. Pour combattre les maladies transmises par des vecteurs, on tente d'éradiquer le vecteur. On parle de lutte anti-vectorielle.
Virus	Le virus est une entité biologique « simple » composée d'une molécule porteuse d'information génétique (ADN ou ARN) et d'une paroi. Pour se multiplier, il utilise la machinerie génétique de cellules d'un hôte végétal, animal ou humain. Les virus sont à l'origine de nombreuses maladies humaines (rage, variole, grippe, sida, herpes...).
Z	
Zoonose	Toute maladie infectieuse pouvant se transmettre à partir de l'animal (sauvage ou domestique) à l'homme quel que soit l'agent qui la déclenche (bactéries, parasites, prions, etc.).

Mentions légales

Ce dossier a été réalisé par l'Agence nationale de sécurité sanitaire Alimentation Environnement Travail (Anses) à l'occasion de la Journée européenne sur l'antibiorésistance et dans le cadre de l'animation et de la valorisation du Programme National de Recherche en Environnement-Santé-Travail (PNR EST).

Nous remercions l'ensemble des contributeurs, et plus particulièrement Isabelle Attig, Yoann Bailleul, Anne Brisabois, Fabrice Coutureau, John Morris Fairbrother, Charles Manceau, Laëtitia Dubois, Sophie Granier, André Jestin, Jacinthe Lachance, Louise Lafrenière, Marie-Pierre Laize, Laurent Laloux, Delphine Lascar, Gérard Lasfargues, Louis Laurent, Céline Leterq, Jean-Yves Madec, Alima Marie, Jean-Nicolas Ormsby, Aurélie Pajon-Lainé, Pascale Parisot, Pascale Robineau, Gilles Salvat, Marc Savey, Carole Thomann, Anne Tilloy, Anita Vigouroux-Villard.

Directeur de la publication :

Marc MORTUREUX (Directeur Général, Anses)

Conception et réalisation :

Nathalie RUAUX (Direction Recherche et Veille, Anses)

Remerciements pour les crédits photographiques :

Sauf mention contraire, les illustrations proviennent de la banque d'images Getty. Les photographies fournies par les chercheurs sont libres de droit et/ou disponibles selon les termes de la *Creative Commons Paternité version générique 2.5* ou versions ultérieures (inspirés des termes de la GNU Free Documentation Licence) : http://creativecommons.org/licenses/

La plaquette d'information « *Comment pourrait survenir une épidémie de chikungunya ou de dengue dans le sud de la France et comment la prévenir ?* » (p.14) est reproduite avec l'aimable autorisation de l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (Inpes).

Le schéma « *Les E.coli et le concept Une seule santé* » (p. 52) est reproduit avec l'aimable autorisation du Laboratoire de référence de l'OIE pour E.coli, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal (Canada).

ISBN 978-2-11-138448-4 – ISSN 2264-7597 – Dépôt légal : Octobre 2013 – © Anses Éditions : Octobre 2013 – Date de publication : Novembre 2013 – Couverture : Parimage

Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr