

Antibiorésistance en élevages porcins à faible niveau d'utilisation d'antibiotiques

Catherine BELLOC (1), Dinh Nam LAM (1), Valérie PERON (1), Roland CARIOLET (2), Arlette LAVAL (1)

(1) Unité de Médecine des Animaux d'Élevage, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, BP 40706, 44307 Nantes cedex 3

(2) AFSSA, Les Croix, BP 53, 22440 Ploufragan

Antibiorésistance en élevages porcins à faible niveau d'utilisation d'antibiotiques

L'antibiorésistance des bactéries pathogènes ou sentinelles est fréquemment envisagée en liaison avec les pratiques d'antibiothérapie. Cette étude contribue à décrire le niveau de résistance aux antibiotiques de souches d'*Escherichia coli* isolées de la flore fécale d'animaux présents dans un élevage de porcs EOPS d'une part et dans un élevage naisseur-engraisseur conventionnel d'autre part. Dans ces deux élevages, l'antibiothérapie est occasionnelle. Des résistances à la tétracycline sont présentes dans les deux élevages et concernent 47,5 % et 70 % des souches testées dans l'élevage expérimental et l'élevage conventionnel, respectivement. Dans ce dernier, des isolats bactériens résistants à l'association triméthoprim-sulfamides (18 %) et/ou à l'amoxicilline (15 %) ont été observés. De plus, certaines souches isolées dans l'élevage de porcs EOPS présentent une sensibilité diminuée vis à vis du florfenicol. Ces résultats mettent en évidence l'existence de la résistance aux antibiotiques hors du contexte de leur utilisation et donc la complexité des circonstances de leur apparition et/ou leur persistance.

Antibiotic resistance in pig herds which use low levels of antibiotics

The resistance of certain pathogenic or sentinel bacteria is frequently predicted with the use of antibiotic treatment. The purpose of this investigation was to determine the level of resistance in faecal samples of *Escherichia coli* from specific pathogen-free (SPF) pigs and animals housed in a commercial farrowing-slaughter farm. In both herds antimicrobial agents were only occasionally used. Among bacterial strains tested 47.5 % and 70 % were found to be resistant to tetracycline in the SPF and commercial herds respectively. In the latter, resistance to the combination of trimethoprim-sulfonamides (18 % of isolates) and/or amoxicilline (15 %) were also observed. Moreover, some *Escherichia coli* strains isolated from faecal flora of SPF pigs exhibited reduced sensitivity to florfenicol. This study indicates that factors other than the use of antimicrobial agents may contribute to the appearance and/or persistence of antibiotic resistance in bacteria.

INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques constitue un sujet de préoccupation majeur tant en médecine humaine que vétérinaire. Elle fait donc l'objet de nombreuses études, notamment sur la base d'isolats bactériens obtenus dans un contexte pathologique. Néanmoins, il semble également important de décrire la résistance aux antibiotiques chez les bactéries de la flore fécale normale des animaux car, outre le pouvoir pathogène potentiel de certaines d'entre elles, ces bactéries peuvent constituer des réserves d'éléments génétiques mobiles (transposons, plasmides) conférant une résistance aux antibiotiques et susceptibles d'être transmis à des bactéries pathogènes, y compris celles appartenant à des espèces différentes (SORUM et SUNDE, 2001).

Parmi les études portant sur l'antibiorésistance, beaucoup s'attachent à établir une corrélation entre l'utilisation d'antibiotiques et l'apparition de résistances. Même si l'antibiothérapie apparaît comme un élément important de sélection de bactéries résistantes, celles-ci ont été mises en évidence dans la flore fécale de porcs issus d'un élevage expérimental et ne subissant pas de traitement antibiotique depuis plus de dix ans (LANGLOIS et al., 1988).

Le but de notre travail est de documenter les phénotypes d'antibiorésistance observés chez une bactérie indicatrice de la flore fécale, *Escherichia coli*, dans des élevages de porcs naisseurs-engraisseurs, n'utilisant pas d'antibiotiques de façon systématique y compris dans le contexte de la production conventionnelle.

1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

1.1. Elevages

Deux élevages ont été sélectionnés pour l'étude en raison de leur faible niveau d'utilisation des antibiotiques :

- La porcherie protégée de l'AFSSA Ploufragan décrite par CARIOLET (1986), dans laquelle les seuls antibiotiques utilisés sont la pénicilline et la streptomycine (de 1979 à 1991), puis l'association triméthoprime-sulfadoxine depuis 1991. Il s'agit d'utilisations ponctuelles (truies à la mise bas en cas de syndrome MMA) qui concernent moins de 20 % des truies en moyenne et au cours de notre étude, aucune des truies prélevées n'a reçu de traitement. Les porcelets ne sont jamais traités avec des antibiotiques.
- Un élevage conventionnel situé en région Pays de Loire dans lequel les porcelets ou les truies sont ponctuellement traités à l'aide d'antibiotiques, le plus souvent par voie injectable (à l'aide d'amoxicilline, de tylosine ou de l'association lincomycine-spectinomycine) et exceptionnellement sous la forme d'un traitement collectif par voie orale (de l'oxytétracycline est alors utilisée).

La totalité des aliments utilisés dans ces deux élevages est dépourvue de facteurs de croissance.

1.2. Obtention d'isolats bactériens

Des prélèvements de matières fécales sont réalisés sur les truies (4 animaux dans l'élevage SPP Ploufragan et 5 dans l'élevage conventionnel) et les porcelets (2 par truie dans l'élevage SPP Ploufragan et 3 par truie dans l'élevage conventionnel). Les prélèvements ont été réalisés sur les mêmes animaux à différentes périodes de l'élevage : avant mise-bas puis 7, 30 et 60 jours après mise-bas pour les truies ; aux âges de 7, 30, 60 et 150 jours pour les porcelets issus de ces truies. Après dilution en sérum physiologique, les matières fécales sontensemencées sur un milieu sélectif pour *Escherichia coli* (géluse EMB + lactose). Pour chaque échantillon de matières fécales, quatre colonies sont aléatoirement sélectionnées pour la détermination de leur phénotype d'antibiorésistance.

1.3. Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques

La technique de l'antibiogramme standard est utilisée pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques suivants : amoxicilline, ceftiofur, cefquinome, néomycine, gentamicine, apramycine, florfenicol, colistine, tétracycline, triméthoprime/sulfamides, acide oxolinique, fluméquine, enrofloxacin, danofloxacin, marbofloxacin.

Cette technique fournit des informations sur les associations de résistances entre antibiotiques pour chaque souche bactérienne étudiée.

2. RÉSULTATS

2.1. Pourcentages de souches résistantes aux antibiotiques

Les pourcentages de résistances aux antibiotiques parmi les souches isolées des deux élevages sont présentés dans le tableau 1. Aucune souche résistante n'a été mise en évidence pour les antibiotiques suivants : la cefquinome et le ceftiofur, l'apramycine et la gentamicine, la colistine et les quinolones. Dans l'élevage de Ploufragan, l'antibiotique vis à vis duquel le niveau de résistance est le plus élevé est la tétracycline (47,5 % des souches sont résistantes et 22,9 % intermédiaires). Par ailleurs, 9,5 % des souches présentent une sensibilité diminuée pour le florfenicol. Enfin, une souche (0,6 % du total) a été qualifiée d'intermédiaire vis à vis de l'amoxicilline.

Dans l'élevage conventionnel étudié, le pourcentage de résistance à la tétracycline atteint 70 % (en plus des 4% de souches intermédiaires). Dans une moindre mesure, l'association triméthoprime-sulfamides et l'amoxicilline sont concernés par l'apparition de résistances (avec respectivement 18 % et 15 % des isolats bactériens). Enfin, 2 % des souches se sont avérées résistantes à la néomycine.

2.2. Phénotypes de résistance

Dans l'élevage de Ploufragan, parmi les souches intermédiaires au florfenicol, 11 sont résistantes, 4 intermédiaires et

Tableau 1 - Pourcentage de souches d'*Escherichia coli* résistantes aux antibiotiques

	Porcherie protégée AFSSA Ploufragan N* = 179	Elevage conventionnel N* = 100
Amoxicilline	(0,6 %)	15 %
Cefquinome		
Ceftiofur		
Apramycine		
Néomycine		2 %
Gentamicine		
Florfenicol	(9,5 %)	
Colistine		
TMP/sulfa		18 % (2 %)
Acide oxolinique		
Fluméquine		
Enrofloxacin		
Danofloxacin		
Marbofloxacin		
Tétracycline	47,5 % (22,9 %)	70 % (4%)

*N : nombre de souches testées

Les nombres en italique et entre parenthèses correspondent aux souches classées intermédiaires lors de l'interprétation de l'antibiogramme.

L'absence de données indique qu'aucune souche résistante ou intermédiaire vis à vis de cet antibiotique n'a été mise en évidence.

Tableau 2 - Phénotypes de résistances observées parmi les souches résistantes aux antibiotiques dans l'élevage conventionnel

Antibiotiques concernés par la résistance	Nombre de souches
Tétracycline	49
Tétracycline, TMP/sulfa	6
Tétracycline, Amoxicilline	2
Tétracycline, Amoxicilline, TMP/sulfa	11
Tétracycline, Amoxicilline, Néomycine	1
Tétracycline, Amoxicilline, TMP/sulfa, Néomycine	1

2 sensibles à la tétracycline. La souche intermédiaire à l'amoxicilline l'est également à la tétracycline.

Les associations de résistances mises en évidence dans l'élevage conventionnel sont décrites dans le tableau 2 (seules les souches classées résistantes ont été prises en considération). Parmi les 70 souches qui présentent une résistance à au moins un antibiotique (la tétracycline), 49 souches sont résistantes à cette seule tétracycline. Dix-huit souches associent résistance à tétracycline et à l'association triméthoprim-sulfamides, quinze à la tétracycline et à l'amoxicilline. Les deux

souches résistantes à la néomycine le sont également à la tétracycline et l'amoxicilline, ainsi qu'à l'association triméthoprim-sulfamides pour l'une d'elles.

2.3. Evolution des pourcentages de résistances en fonction de l'âge et du stade physiologique

Dans les deux élevages, les pourcentages de résistances sont plus élevés chez les porcelets en maternité et à l'âge de 30 jours par rapport aux prélèvements effectués ultérieurement au cours de la vie des mêmes animaux. Concernant les truies, on observe une augmentation de la proportion de souches résistantes mises en évidence 7 et 30 jours après la mise bas en comparaison avec les pourcentages observés avant mise-bas ou 60 jours après celle-ci.

Dans l'élevage de Ploufragan, les souches intermédiaires au florfenicol ont été isolées des matières fécales de truies 7 et 30 jours après mise-bas et de porcelets âgés de 7 ou 30 jours.

3. DISCUSSION

De nombreux auteurs s'accordent à considérer que l'étude de l'antibiorésistance au niveau des flores bactériennes normales des animaux ou de l'homme représente un volet complémentaire indispensable aux travaux portant sur les bactéries pathogènes. Néanmoins, les études sur ces flores et en particulier sur la flore digestive présentent certaines limites. Une seule espèce bactérienne est le plus souvent envisagée (*Escherichia coli* pour les bactéries à gram négatif et le genre *Enterococcus* pour les gram positif). Leur présence en trop faible proportion dans le contenu digestif et/ou les difficultés rencontrées pour leur mise en culture constituent en effet des entraves à l'exploration de l'antibiorésistance chez de nombreuses autres espèces bactériennes. Il est toutefois admis que *Escherichia coli* est un bon candidat pour l'étude de l'antibiorésistance (SORUN et SUNDE, 2001).

Plusieurs études menées en production porcine ont porté sur la description de la résistance aux antibiotiques en relation avec l'antibiothérapie. Après que les auteurs ont classifié les élevages étudiés en fonction de leurs pratiques thérapeutiques, il en ressort que plus le niveau d'utilisation des antibiotiques est élevé, plus le pourcentage de bactéries résistantes dans la flore fécale des porcs est important (SUNDE et al., 2001). L'objectif de notre étude s'inscrit en parallèle de l'étude de l'effet de l'antibiothérapie puisqu'elle vise à contribuer à connaître le niveau de base de l'antibiorésistance en élevage porcin dans le contexte français. Dans ce cadre, l'élevage de Ploufragan constitue un matériel d'étude intéressant puisque, depuis sa mise en place en 1979, les seules administrations d'antibiotiques ont concerné une partie des truies, par voie injectable, en utilisant quatre molécules antibiotiques (pénicilline et streptomycine puis triméthoprim et sulfadiméazine). Nous avons complété nos observations avec un élevage conventionnel faiblement utilisateur d'antibiotiques dans lequel aucune administration d'antibiotiques n'est réalisée de façon systématique.

Il apparaît qu'à l'exception des tétracyclines, les pourcentages de résistances vis à vis des différentes familles d'anti-

biotiques utilisables en production porcine et actifs sur *Escherichia coli* sont faibles. La valeur de 2 % pour la résistance à la néomycine observée dans l'élevage conventionnel est en accord avec une étude nord américaine portant sur un élevage n'utilisant pas d'antibiotique depuis plus de dix années (LANGLOIS et al., 1988). Il en est de même pour le niveau de résistance aux sulfamides qui variait de 8,6 à 44,5 % selon l'âge des animaux dans cette publication. L'amoxicilline n'était pas testée par LANGLOIS et collaborateurs qui ont par ailleurs montré un pourcentage de résistance à la tétracycline moyen de 42 % dans leur élevage expérimental, soit voisin de celui observé ici dans l'élevage de Ploufragan. Nos résultats rejoignent ceux de LANGLOIS et collaborateurs concernant la longue persistance de gènes de résistance aux tétracyclines en l'absence d'administration d'antibiotiques appartenant ou non à la même famille. D'autres facteurs que les antibiotiques eux-mêmes sont susceptibles de jouer un rôle dans l'apparition et/ou la persistance de résistances, notamment certains métaux lourds (mercure, cadmium) vis à vis desquels les mécanismes de résistances présentent des points communs avec ceux des antibiotiques (LYON et al., 1987). Il est également possible que ces gènes de résistance soient présents dans l'environnement, soit à l'état naturel, soit plus ou moins favorisés par l'utilisation de certaines substances (traitements phytosanitaires par exemple).

Par ailleurs, les associations de résistances observées dans notre étude évoquent des mécanismes impliquant des éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons) porteurs d'un ou plusieurs gènes de résistance selon le cas et présents dans les bactéries de la flore digestive.

Les analyses réalisées à différents âges pour les porcelets et stades physiologiques pour les truies nous ont fourni des éléments d'observation sur la variation des pourcentages de résistances en fonction de ces paramètres. Nous observons que, pour toutes les familles d'antibiotiques testées, le taux de résistance décroît avec l'âge chez les porcelets ainsi que cela avait été rapporté antérieurement (MATTEW et al., 1998). Concernant les truies, il apparaît que peu après la mise bas (7 jours et 30 jours dans notre étude), le pourcentage de souches résistantes est plus élevée qu'avant la mise bas ou que lorsqu'on s'en éloigne dans le temps (60 jours après). Ces résultats soulignent l'intérêt de documenter la résistance aux antibiotiques en l'absence d'utilisation de ceux-ci. En effet, le péripartum est une période où les truies sont plus fréquemment traitées à l'aide d'antibio-

tiques, que ce soit pour syndrome MMA ou dans le cadre de la prévention ou du traitement des troubles urinaires. L'observation d'une augmentation du niveau de résistance aux antibiotiques est alors mise en relation avec les traitements effectués. Or il est possible que d'autres facteurs tels que le stress aient une influence sur le pourcentage de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques dans la flore fécale ainsi que l'ont montré certains travaux chez les porcs charcutiers (MOLITORIS et al., 1987 ; MORO et al., 1998 ; 2000).

Dans l'élevage de Ploufragan, nous avons mis en évidence la présence de souches d'*Escherichia coli* dont la sensibilité vis à vis du florfenicol était diminuée et qui sont qualifiées d'intermédiaires lors de l'interprétation de l'antibiogramme. L'autorisation de mise sur le marché de cet antibiotique est récente en production porcine et il n'a jamais été utilisé dans l'élevage considéré. Des mécanismes d'efflux ont été décrits comme étant le support de la résistance au florfenicol chez différentes espèces bactériennes dont *Escherichia coli* (pour revue SCHWARTZ et CHASLUS-DANCLA, 2001). Néanmoins le fait que cette diminution de sensibilité soit ici observée en dehors de tout traitement antibiotique conduit à émettre l'hypothèse de l'existence de mécanismes non décrits à ce jour. Nous envisageons d'effectuer des analyses complémentaires sur ces souches bactériennes concernant d'une part leur sensibilité vis à vis du chloramphénicol, antibiotique qui présente des mécanismes de résistance communs avec les florfenicol, d'autre part le mécanisme de résistance impliqué dans cette diminution de sensibilité.

CONCLUSION

Ce travail met en évidence le fait que, dans le contexte d'une utilisation modérée des antibiotiques, le niveau de résistance dans un élevage naisseur-engraisseur conventionnel est proche de celui observé dans un élevage peuplé d'animaux SPF. De plus, l'observation de résistances en dehors de l'administration d'antibiotiques met en relief la nécessité d'études approfondies sur les différents facteurs de risque d'apparition et de persistance des résistances aux antibiotiques.

REMERCIEMENTS

Nous adressons nos remerciements à E. BLANDIN, T. GUYOT, F. LERAY, ainsi que P. ECOBICHON et P. JULOU pour leur collaboration technique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CARIOLET R., 1986. Journées Rech. Porcine en France, 18, 321-330.
- LANGLOIS B.E., DAWSON K.A., LEAK I., AARON D.K., 1988. Appl. Environ. Microbiol., 54, 1341-1344.
- LYON B.R., SKURRAY R., 1987. Microbiol. Rev., 51, 88-134.
- MATTEW A.G., Upchurch W.G., CHATTIN S.E., 1998. J. Anim. Sci., 76, 429-434.
- MOLITORIS E.D., Fagerberg L., Quarles C.L., Krichevsky M.I., 1987. Appl. Environ. Microbiol., 53, 1307-1310.
- MORO M.H., BERAN G.W., HOFFMAN L.J., GRIFFITH R.W., 1998. Lett. Appl. Microbiol., 27, 251-254.
- MORO M.H., BERAN G.W., GRIFFITH R.W., HOFFMAN L.J., 2000. J. Appl. Microbiol., 88, 836-844.
- SCHWARZ H., CHASLUS-DANCLA E., 2001, Vet. Res., 32, 201-225.
- SORUM H., SUNDE M., 2001. Vet. Res., 32, 227-241.
- SUNDE M., FOSSUM K., SOLBERG A., SORUM H., 1998. Micr. Drug Resist., 4, 289-299.