



Augmentation de la prévalence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline dans les élevages de porcs en France

Eric JOUY (1), Laëtitia LE DEVENDEC (1), Fabrice TOUZAIN (2), Virginie LE CAER (3), Thomas LEMOINE (4), Corinne MAROIS-CREHAN (1), Claire DE BOISSESON (1), Isabelle KEMPF (1), Yannick BLANCHARD (2), Claire CHAUVIN (3)

(1) Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité MBA, 22440 Ploufragan, France

(2) Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité GVB, 22440 Ploufragan, France

(3) Anses Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, Unité EPISABE, 22440 Ploufragan, France

(4) BDPORC, 35065 Rennes, France

eric.jouy@anses.fr

Increase of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* prevalence in pig herds in France

Staphylococcus aureus is a well-known bacterium, commonly isolated from the skin of human and animals, that may also be responsible for mild-to-severe infections. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) is particularly monitored in healthcare facilities, where they account for 14 % of the *S. aureus* strains in France. Since the mid-2000s, a particular MRSA clone, ST398 (MLST typing), has been strongly related to animals and especially pigs, with reports of transmission and sometimes infections to humans in contact with them. In 2008, in a European Union (EU)-wide baseline survey, 27 % of EU pig herds on average tested positive to MRSA, with a lower prevalence in France (3 %). The objective of the present study was to assess MRSA prevalence in pig herds in France in 2021 using a similar methodology. In each of the 76 participating pig herds, five dust swabs were collected. They were subsequently pooled in enrichment broth and, after incubation, isolated on a chromogenic medium in the laboratory. The typical colonies were confirmed as MRSA by PCR. MRSA was found in 33 pig herds (43.4%), and all 23 of the sequenced strains were ST398, with 5 different *spa*-types: t011 (n = 12), t034 (n = 7), t571 (n = 2), t899 (n = 1) and t3041 (n = 1). This study demonstrates a significant increase in MRSA prevalence in French pig herds from 3 % to more than 40 % from 2008 to 2021.

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus est une bactérie régulièrement retrouvée en portage sain au niveau de la peau et des muqueuses chez l'humain ainsi que chez de nombreux animaux. Il est également responsable d'infections diverses, notamment cutanées, voire plus généralisées comme les endocardites et septicémies (Le Loir et Gautier, 2010).

Chez *S. aureus*, la résistance à la méticilline (SARM) est particulièrement surveillée et est retrouvée chez 14 % des *S. aureus* isolés en établissements de santé en France (Santé Publique France, 2022). Cette résistance est liée à l'acquisition du gène *mecA* ou, plus rarement, *mecC*. Grâce à ce gène, le SARM résiste à la quasi-totalité des bêta-lactamines, réduisant ainsi l'arsenal thérapeutique dont dispose le clinicien.

Chez l'animal, la première description d'un SARM date des années 70, mais c'est à partir des années 2000, en parallèle à l'avènement de la méthode de typage moléculaire MLST (multi-locus sequence typing), que la problématique du SARM a pris de l'importance chez l'animal et plus particulièrement chez le porc. Ainsi, en 2006 aux Pays-Bas, Huijsdens *et al.* rapportent la présence simultanée d'un SARM, appartenant à la même lignée clonale ST398, chez des porcs ainsi que chez le personnel de l'élevage et l'entourage familial de l'éleveur. Cette détection

simultanée du SARM ST398 chez l'Homme et l'animal a, par la suite, été confirmée dans de nombreuses études (Aires-de-Sousa, 2017).

Afin d'estimer l'importance du réservoir de SARM chez le porc, une enquête de prévalence européenne a été réalisée en 2008 (EFSA, 2009). Les prélèvements consistaient en des chiffonnettes de poussières à l'intérieur des bâtiments d'élevage détenant des reproducteurs. L'étude a montré que les élevages de porcs français étaient peu porteurs de SARM : 2,70 % (IC95 % [1,2 – 6,2]) pour 185 élevages de production (détenant des truies) testés en France (UE : 26,9 % ; IC95 % [24,4-29,3]). La surveillance de la résistance du SARM n'a ensuite pas été rendue obligatoire, mais dans les pays ayant renouvelé les études, une forte augmentation du portage a été rapportée au cours de ces dix dernières années (Dierikx *et al.*, 2016 ; FOPH, 2020).

Il était donc nécessaire de réaliser une nouvelle enquête en France afin d'évaluer à nouveau cette prévalence.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Sélection des élevages et types de prélèvements

Afin d'assurer la comparabilité des données avec les résultats obtenus en 2008, les mêmes types de prélèvements et

d'élevages cibles ont été intégrés dans l'étude : poussières d'élevages recueillies au moyen de 5 chiffonnettes dans 5 salles d'élevages de production détenant des truies.

Les élevages inclus ont été identifiés et sélectionnés par tirage au sort au sein de la base de données nationale BD Porc, selon un plan de sondage stratifié sur la région. Afin de pouvoir mettre en évidence une augmentation de la prévalence de 3 % (en 2008) à 15 % (en 2021), un objectif à atteindre de 75 élevages participants a été estimé. Toutefois, en raison du contexte sanitaire (pandémie COVID), la réalisation des prélèvements a dû être déléguée aux professionnels (éleveurs ou encadrement technique et sanitaire) et, compte tenu d'un taux potentiellement faible de participation, ce sont 150 identifiants d'élevages qui ont été requis et transmis à l'Anses, scindés en une liste primaire et une liste secondaire.

Pour les élevages de la liste primaire, l'ensemble de leurs structures de production a été progressivement contacté avant envoi des documents d'enquête aux éleveurs (courrier d'information, chiffonnettes et gants pour réalisation des prélèvements, enveloppe préaffranchie pour le retour). L'encadrement technique et/ou sanitaire a alors assuré le relais de l'information voire la réalisation des prélèvements. L'enquête était strictement anonyme tant pour les éleveurs que pour les structures de production.

1.2. Analyses de laboratoire

Compte-tenu de l'intervalle de temps de 12 ans par rapport à la précédente enquête, le protocole standard préconisé par le Laboratoire Européen de Référence de l'antibiorésistance a évolué, ainsi que la disponibilité et la nature des réactifs. Cependant, le principe général est resté le même : un enrichissement sélectif des prélèvements en milieu de culture liquide suivi d'un isolement (10 µl) sur une gélose sélective chromogène (Larsen *et al.*, 2017).

L'identification de *S. aureus* ainsi que la mise en évidence des gènes *mecA/mecC* ont été réalisées par PCR à partir des colonies caractéristiques. Une souche de *S. aureus* par élevage positif a ensuite été séquencée (Illumina), permettant de déterminer, après assemblage shovill 0.9.0, les deux caractéristiques principalement attendues dans l'épidémiologie de *S. aureus* : le ST (sequence-type, issu de l'analyse MLST) à l'aide du logiciel staphopia-sccmec v1.0 (Petit and Read, 2018) et le *spa*-type (issu de l'analyse de la région polymorphique du gène codant la protéine A) à l'aide du logiciel spaTyper v0.3.3.

2. RESULTATS

Après sollicitation des listes primaire et secondaire, deux éleveurs ont notifié leur cessation d'activité et 76 échantillons ont finalement été reçus entre mai 2021 et février 2022, soit un taux de participation des élevages éligibles de 51 %. Parmi ces 76 élevages, 33 (43,4 % ; IC95 % [32,86 – 54,61]) ont permis l'isolement de SARM. La positivité des prélèvements n'était pas statistiquement liée au délai de réception ou à la région, au type ou la taille des élevages. La mise en œuvre d'un redressement de la non-réponse sur le type d'élevage et la région, compte tenu de la participation homogène des élevages, modifie très peu l'estimation de la prévalence : 44,7 % (IC95 % [43,1 – 46,4]). Les 23 souches actuellement séquencées appartiennent toutes au ST398 et possèdent le gène *mecA*. Les *spa*-types se répartissent ainsi : t011 (n = 12) ; t034 (n = 7) ; t571 (n = 2) ; t899 (n = 1) et t3041 (n = 1).

En 2008, cinq élevages de production sur 185 avaient permis l'isolement de SARM (quatre ST398 et un ST5) soit une prévalence estimée de 2,7 % (IC95 % [1,2 – 6,2]). Les *spa*-types représentés étaient t011 (2), t899 (1), t034 (1) et t002 (1).

La prévalence de SARM au sein des élevages de porcs détenant des truies en France a ainsi significativement augmenté entre 2008 et 2021 ($P < 0,0001$), passant de 3 % à plus de 40 %.

CONCLUSION

L'étude a permis d'objectiver l'augmentation de la prévalence de SARM en élevages de porcs en France. Cette augmentation est importante et du même ordre de grandeur que celle rapportée par la Suisse sur la même période (FOPH, 2020). Bien que les protocoles d'analyses au laboratoire ne soient pas strictement identiques entre l'étude de 2008 et celle-ci, les différences méthodologiques ne peuvent expliquer une telle augmentation (Larsen *et al.*, 2017). Cela témoigne de la diffusion progressive du SARM au sein du cheptel porcin français et ce, indépendamment de la forte réduction de l'usage des antibiotiques mise en œuvre au cours de la même période.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier les professionnels, techniciens, éleveurs et vétérinaires qui, en dépit du contexte sanitaire, ont permis cette étude par la réalisation active des prélèvements. Cette étude a été réalisée grâce au soutien financier de la DGAL (plan Ecoantibio 2).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aires-de-Sousa M., 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. Clin. Microbiol. and Infect., 23, 373-380.
- Dierikx C.M, Hengeveld P.D., Veldman K.T., de Haan A., van der Voorde S., Dop P.Y., Bosch T., van Duijkeren E., 2016. Ten years later: still a high prevalence of MRSA in slaughter pigs despite a significant reduction in antimicrobial usage in pigs the Netherlands. J. Antimicrob. Chemother. 71, 2414-2418.
- EFSA, 2009. Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008. Part A: MRSA prevalence estimates; on request from the European Commission. EFSA Journal, 7(11):1376.
- FOPH: Federal Office of Public Health and Federal Food Safety and Veterinary Office, 2020. Swiss Antibiotic Resistance Report. Usage of Antibiotics and Occurrence of Antibiotic Resistance, Bern, 183 p.
- Huijsdens, X.W., van Dijke, B.J., Spalburg, E., van Santen-Verheuevel, M.G., Heck, M.E., Pluister, G.N., Voss, A., Wannet, W.J., de Neeling, A.J., 2006. Community-acquired MRSA and pig-farming. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., 5:26.
- Larsen J., Sunde M., Islam M.Z., Urdahl A.M., Barstad A.S., Larsen A.R., Grontvedt C.A., Angen O., 2017. Evaluation of a widely used culture-based method for detection of livestock-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), Denmark and Norway, 2014 to 2016. Euro. Surveill., 22, 30573.
- Le Loir Y., Gautier M., 2010. *Staphylococcus aureus*. Lavoisier Tec et Doc Eds, Paris, 284 p.
- Petit R.A. 3rd, Read T.D., 2018. *Staphylococcus aureus* viewed from the perspective of 40,000+ genomes. PeerJ, 6: e5261.
- Santé Publique France, 2022. Surveillance de l'antibiorésistance en établissements de santé. Mission Spares, Saint-Maurice, 107 p.