

Hélène Aubry-Damon, Antoine Andremont, Michel Liénard, Didier Delzescaux et al

Résistance aux antibiotiques des bactéries commensales isolées chez les éleveurs de porcs

France 2001



Inserm

Institut national
de la santé et de la recherche médicale



FNCBV



santé
famille
retraite
services



INSTITUT DE
VEILLE SANITAIRE

Liste des auteurs

H. Aubry-Damon¹, K. Grenet², P. Ndiaye Sall³, D. Che¹, E. Cordeiro¹, E. Rigaud³, M. Valenciano¹, M. Liénard³, D. Delzescaux⁴, J-C. Desenclos¹ et A. Andremont²

¹ Département des maladies infectieuses, InVS, Saint-Maurice

² Inserm EPI9933, CHU Bichat Claude Bernard, Paris

³ Mutualité sociale agricole, Bagnolet

⁴ Fédération nationale de la coopération bétail viande, Paris

Rédaction du rapport

H. Aubry-Damon et D. Che (Dept. maladies infectieuses, InVS)

Relecteur extérieur

M. Goldberg (Inserm U88)

Remerciements

Médecins de la MSA et investigateurs :

J. Bordet, R. Camus, R. Carozzani, M.F. Darchy, N. Fily, P. Gales, J. Gaudon, M. Harrewyn, C. Le Henaff, Y. Koskas, E. Lecocq, A. Lozach, J.L. Mary, P. Morisseau, N. N’Guyen, D. Peron, J.C. Presle, J. Ribbe, M. Roy, J. Roze et G. Savatier.

Epidémiologistes de l’InVS : H. De Valk, V. Vaillant, D. Daube, V. Lemanissier et Y. Le Strat

Microbiologistes de l’AP-HP : M-L. Bougnoux (CH A. Paré) et L. Armand-Lefèvre (CHU Bichat)

Cette étude a été financée par le ministère de l’Aménagement du territoire et de l’Environnement (contrat AC0003E du programme de recherche « Environnement et Santé » en 1999) et la Mutualité sociale agricole



Abréviations

- Afssa** Agence française de sécurité sanitaire des aliments
- CA-SFM** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
- Cnil** Commission nationale de l'informatique et des libertés
- FEDESA** Fédération européenne de la santé animale
- FNCBV** Fédération nationale de la coopération bétail viande
- InVS** Institut de veille sanitaire
- MSA** Mutualité sociale agricole
- OIE** Office international des épizooties

Sommaire

Contexte – Introduction	9
Objectifs	13
Méthode	15
Schéma d'étude	15
Population d'étude	15
Choix des élevages	15
Définition de l'exposition	15
Critères d'appariement	16
Critères d'exclusion	16
Sélection des sujets	16
Recrutement des sujets exposés	16
Recrutement des sujets non exposés	17
Période d'étude	17
Taille d'échantillon	17
Réalisation des prélèvements et recueil des échantillons et acheminement au laboratoire	17
Questionnaire et recueil des données	18
Aspects éthiques	18
Analyses microbiologiques	18
Analyse statistique	20
Résultats	21
Description de l'échantillon	21
Description de l'activité de la population exposée	21
Résultats microbiologiques	23
Prélèvements de nez	23
Prélèvements de gorge	24
Prélèvements de selles	24
Résistance associée aux antibiotiques	26
Portage de bactéries résistantes aux antibiotiques et caractéristiques des élevages et des porchers	27
Discussion	29
Références	33
Annexes	37

Liste des tableaux et figures

Tableau 1.	Répartition des individus par département du lieu de travail et par groupe	21
Tableau 2.	Description de l'exposition des sujets exposés	22
Tableau 3.	Fréquence d'utilisation des masques et des gants par les 113 porchers selon les activités	22
Tableau 4.	Poste de travail des sujets exposés	22
Tableau 5.	Rapport de prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches de <i>S. aureus</i> isolées	23
Tableau 6.	Distribution des différents profils de résistance de <i>S. aureus</i> aux macrolides	23
Tableau 7.	Prévalence de la résistance aux antibiotiques des streptocoques commensaux de la gorge	24
Tableau 8.	Prévalence du portage oro-pharyngé de germes pathogènes	24
Tableau 9.	Comparaison des flores sous dominantes et dominantes	25
Tableau 10.	Comparaison de l'isolement de bactéries potentiellement pathogènes de la flore digestive ...	27
Tableau 11.	Distribution des cas de portage nasal de <i>S. aureus</i> selon leur sensibilité aux antibiotiques MLS	28
Figure 1.	Pourcentage cumulatif des porteurs d'entérobactéries résistantes à au moins un antibiotique ...	26
Figure 2.	Distribution des souches d' <i>E. coli</i> digestives en fonction du nombre de résistances aux antibiotiques	27

Liste des annexes

Annexe 1.	Données disponibles sur la prévalence du portage bactérien chez l'adulte sain	37
Annexe 2.	Calcul de la puissance de l'étude	39
Annexe 3.	Lettre de consentement CCPPRB	41
Annexe 4.	Liste des laboratoires	43
Annexe 5.	Questionnaire pour les sujets exposés	45
Annexe 5 bis.	Questionnaire pour les sujets non exposés	47
Annexe 6.	Questionnaire sur l'acquisition des souches de <i>S. aureus</i> résistantes à la méticilline	49
Annexe 7.	Résistance aux antibiotiques des entérobactéries lactose positif dans les prélèvements de selles	53
Annexe 8.	Identification des entérobactéries isolées de la flore dominante digestive	55
Annexe 9.	Prévalence de la résistance des bactéries commensales selon le type d'activité dans l'élevage	57
Annexe 10.	Présentation au Congrès du 42 nd ICAAC, San Diego (USA) 2002	59



Résumé

La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue une menace pour (i) la médecine moderne parce qu'elle progresse plus rapidement que le développement de nouveaux antibiotiques et (ii) la santé publique parce que l'exposition aux antibiotiques d'une population humaine ou animale peut avoir des conséquences sur une autre population non encore exposée. Le développement actuellement explosif de la résistance bactérienne est la conséquence, notamment en France, de l'utilisation massive des antibiotiques chez l'homme comme chez l'animal ou en agriculture. L'alimentation d'origine animale représente une source démontrée d'acquisition par l'homme de bactéries résistantes. Les autres conséquences pour l'homme du développement de la résistance aux antibiotiques dans les élevages sont difficiles à évaluer.

Le présent rapport décrit les résultats d'un travail développé à la demande du Réseau de zoonosurveillance en agriculture de la Mutualité sociale agricole. Il vise à déterminer si le fait de travailler au contact de porcs d'élevage représente pour les sujets exposés un risque de colonisation spécifique par des bactéries résistantes, commensales ou pathogènes et, le cas échéant, à quantifier ce risque. Pour la réalisation de ce travail, la MSA s'est associée à l'EPI9933 de l'Inserm, au département des maladies infectieuses de l'Institut de veille sanitaire, et au milieu professionnel représenté par la Fédération nationale de la coopération bétail viande.

L'enquête a été réalisée dans les principaux départements producteurs de viande porcine de France. Elle a montré chez les éleveurs de porcs une augmentation significative de la prévalence de certaines bactéries commensales résistantes au sein des trois écosystèmes étudiés (nez, pharynx, colon) avec des risques relatifs élevés par rapport à la population témoin allant d'un rapport de prévalence de 1,4 IC95 % [1,1-1,8] pour les entérobactéries de la flore digestive résistantes à la streptomycine, à 9,8 IC95 % [2,6-37,3] pour le portage nasal de *Staphylococcus aureus* résistant aux macrolides. En revanche cette enquête n'a pas mis en évidence d'augmentation significative de la prévalence du portage de bactéries pathogènes. Au total, cette étude confirme que le travail en élevage de porcs est un facteur de risque important de portage de bactéries commensales résistantes. Il reste à évaluer l'impact éventuel de ce portage sur la santé des éleveurs et, le cas échéant, à déterminer les pratiques qui, au sein du travail en élevage, représentent les actes les plus impliqués dans la contamination afin de pouvoir proposer des mesures de prévention.

Contexte – Introduction

Depuis quelques années, la dissémination de la résistance aux antibiotiques en France, que ce soit en médecine de ville ou à l'hôpital, est devenue une préoccupation majeure. Cette préoccupation est liée au fait que les infections bactériennes sont d'autant plus difficiles et coûteuses à traiter qu'elles sont dues à des bactéries plus résistantes aux antibiotiques. On assiste, en Europe et aux USA, à une diffusion rapide et clonale des staphylocoques résistants à la méticilline (SARM) dans les hôpitaux (1). Parallèlement, les proportions de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G et de colibacilles résistants aux bêta-lactamines ont considérablement augmenté dans les infections communautaires (2;3). De plus, on voit apparaître l'émergence de nouveaux phénotypes de résistance (entérocoques résistants aux glycopeptides, *Campylobacter* résistant aux quinolones...) (4-6) et très récemment de *S. aureus* hautement résistant à la vancomycine (7) qui peuvent faire redouter une augmentation de la fréquence des échecs thérapeutiques, comme c'est le cas pour les infections oto-rhino-laryngologiques (ORL) de l'enfant dues aux pneumocoques (2).

Le développement de la résistance chez les bactéries est la conséquence de l'utilisation des antibiotiques chez l'homme, chez l'animal et en agriculture (8;9). Ce phénomène concerne aujourd'hui toutes les classes d'antibiotiques disponibles pour le traitement des infections humaines ou animales. Les écosystèmes bactériens associés à l'homme et à l'animal sont des lieux privilégiés pour la sélection de bactéries résistantes et la dissémination entre les bactéries de gènes codant pour la résistance, même entre espèces phylogénétiquement éloignées. De plus, les bactéries pathogènes spécifiques ou opportunistes présentes dans les différents écosystèmes microbiens associés à l'homme, en particulier la flore intestinale (10) ou oro-pharyngée, peuvent être responsables d'infections chez leur hôte.

Les élevages d'animaux sont particulièrement propices pour l'émergence de bactéries résistantes à certains antibiotiques (11-13). D'une part, l'utilisation des antibiotiques à des fins prophylactiques et thérapeutiques ou comme promoteurs de croissance y est fréquente, d'autre part, la promiscuité entre les animaux favorise les échanges de bactéries et la diffusion des gènes codant pour la résistance aux antibiotiques (14). En outre, l'élimination avec les matières fécales de quantité importante de bactéries résistantes peut également favoriser cette dissémination dans l'environnement (14).

Depuis les années 50, l'usage vétérinaire des antibiotiques s'est répandu parallèlement à l'antibiothérapie humaine. L'utilisation vétérinaire des antibiotiques dans les élevages est de trois ordres :

1. pour le traitement des infections déclarées chez l'animal ;
2. pour contrôler une infection débutante sur un effectif important, en intervenant non seulement sur les animaux malades mais aussi sur les animaux en incubation afin de limiter l'extension de la maladie ;
3. à dose infrathérapeutique pour stimuler la croissance et améliorer les performances zootechniques.

Les paramètres pharmacocinétiques de certains antibiotiques, leur posologie (dose insuffisante, durée de traitement courte ou à l'inverse utilisation au long cours) ou encore la voie d'élimination peuvent favoriser la transmission de résistances. En particulier, l'utilisation au long cours de doses infrathérapeutiques est considérée comme un facteur responsable du développement de résistance en exerçant une pression de sélection permettant l'émergence de souches résistantes préexistantes dans la population bactérienne (15).

L'effet promoteur de croissance de certains antibiotiques utilisés à doses infrathérapeutiques a été découvert de manière fortuite en 1946 (16;17). L'incorporation d'antibiotiques à de très faibles concentrations aux aliments des animaux améliorerait en effet les performances zootechniques : augmentation de la vitesse de croissance (GMQ : gain moyen quotidien de poids vif), amélioration de l'efficacité alimentaire (IC : indice de consommation – quantité de matière sèche consommée pour produire 1kg de poids vif de l'animal) (18). Le mécanisme de cet effet n'est pas complètement clarifié. Plusieurs suggestions ont été faites. A faibles doses, les antibiotiques inhibent fortement le catabolisme de l'urée et des acides aminés des bactéries de la flore intestinale, ils augmenteraient donc la disponibilité des nutriments et de l'énergie pour l'animal. La production de molécules toxiques, comme l'ammoniaque, est également fortement réduite entraînant en retour une diminution du taux de renouvellement de l'épithélium intestinal (c'est à dire, une diminution de l'épaisseur de la paroi intestinale), ce qui favoriserait

une meilleure absorption. Le méthane, les matières azotées et le phosphore seraient également rejetés en quantités moindres (19).

Les données concernant la quantité d'antibiotiques utilisée en santé animale en France et en Europe sont limitées, mais on estime d'après les données de la Fédération européenne de la santé animale (FEDESA), les ventes totales d'antibiotiques en Europe à 10 493 tonnes en 1997 dont 52 % pour l'usage humain, 33 % (3 460 tonnes) pour la thérapeutique vétérinaire et 15 % comme facteur de croissance. Il est impossible d'évaluer les consommations exactes d'antibiotiques par les animaux d'élevage même s'il se met en place un enregistrement obligatoire des traitements effectués. Le programme actuel de surveillance de la consommation des antibiotiques en élevage se base sur les données de vente de tous les laboratoires pharmaceutiques. Ces données ont été présentées par Monsieur G. Moulin de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) lors du colloque organisé par l'Organisation internationale des epizooties (OIE) (20). En 1999, sur les 1 364 tonnes consommées en France, les tétracyclines et les macrolides représentent plus de 50 % des antibiotiques utilisés. L'arsenal thérapeutique utilisé pour traiter les animaux comprend les molécules plutôt anciennes et peu onéreuses pour des raisons essentiellement économiques (coût élevé des dossiers d'homologation). De plus, certains antibiotiques sont interdits en médecine vétérinaire ; c'est le cas des aminosides de dernière génération (amikacine et apparentés), des céphalosporines de troisième génération récentes, carbénicillines, carbapénanes, céphamycines, oxacéphèmes, carbacéphèmes, monobactames, pénèmes, azalides, streptogramines, glycopeptides, et de la rifampicine.

On estime par ailleurs que la supplémentation des aliments avec un additif facteur de croissance (antibiotique ou chimique) concerne :

- de façon quasiment systématique les porcelets (98 %) et les dindons (96 %) ;
- de façon largement majoritaire : poulets de chair (68 % : tous les aliments pour les poulets standards sont ainsi supplémentés, alors qu'ils ne le sont pas pour les poulets blancs), pintades (81 %) et porcs (70 %) ;
- de façon significative mais minoritaire : poules pondeuses (20 %), lapins (17 %), bovins à l'engrais (28 %).

Dans leur rapport concernant l'utilisation d'antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale, G. Bories et P. Louisot estimaient la consommation globale par an des antibiotiques en France en 1998 à 145 tonnes pour la filière porcine et rappelaient, en outre, que les porcs recevaient de l'ordre de 70 mg de substances actives utilisées comme facteurs de croissance par kg de viande de porc (équivalent carcasse) (21). Les productions se référant aux principes de l'agriculture biologique et les productions sous le label, quant à elles, se sont engagées à ne pas utiliser les antibiotiques en tant que facteurs de croissance, sur toutes ou seulement les phases terminales de croissance. Elles représentent en 2001 respectivement 0,01 % et 1,25 % du marché interne (rapport annuel du Centre de développement des certifications des qualités agricoles et alimentaires – CERQUA – créé en 1965).

L'émergence de résistances a amené dès les années 60, la création en Grande Bretagne d'une commission mixte sur l'usage des antibiotiques en élevage et en médecine vétérinaire. Dans son rapport de 1969 (22), la commission reconnaissait déjà que l'administration d'antibiotiques, particulièrement à doses infrathérapeutiques, présentait un risque pour la santé animale et humaine. A ce titre, les antibiotiques autorisés comme additifs zootechniques dans l'Union européenne sont depuis différents de ceux utilisés en médecine humaine et vétérinaire ; toutefois, ils peuvent appartenir aux mêmes familles thérapeutiques, d'où la possibilité de résistance croisée (23). De plus, les doses faibles peuvent être particulièrement efficaces pour sélectionner la résistance (24;25). Elles peuvent en outre favoriser le transfert de gènes de résistances (26).

Les molécules utilisées en thérapeutique vétérinaire appartiennent à toutes les classes pharmacologiques (20). En revanche, la liste des molécules antibiotiques autorisées en Europe comme additifs dans l'alimentation animale a été considérablement réduite. Ainsi, à partir de 1997, les produits suivants ont été interdits dans l'alimentation animale : l'avoparcine, l'andracin, le carbadox, l'olaquinox, la bacitracine, la spiramycine, la tylosine et la virginiamycine. Les antibiotiques actuellement utilisés en France comme facteurs de croissance sont (famille à laquelle ils appartiennent) :

- 1 - Avilamycine (E717), (polyéthers ionophores) ;
- 2 - Flavophospholipol (E712) (bambermycin) ;
- 3 - Salinomycine sodium (E716), (polyéthers ionophores) ;
- 4 - Monensin sodique (E714) (non utilisé pour les porcelets et les porcs) (polyéthers ionophores).

Une résistance croisée est à craindre entre l'avilamycine et un antibiotique de la même famille, l'éverninomycine en cours de développement en santé humaine pour traiter les infections nosocomiales à cocci gram positif multirésistants aux antibiotiques et infections à pneumocoque résistant à la pénicilline (27).

Les conséquences pour l'homme de la sélection de bactéries résistantes dans les élevages sont difficiles à évaluer. On sait cependant que les élevages peuvent représenter une source d'acquisition par l'homme de bactéries résistantes dans deux circonstances : la contamination des denrées alimentaires et l'exposition directe dans les élevages animaux.

– Transmission de bactéries résistantes par l'alimentation

Les bactéries résistantes sélectionnées dans les élevages peuvent, en effet, entrer dans la chaîne alimentaire et contaminer l'homme. Ceci a été particulièrement bien démontré lors d'une épidémie d'infections à *Salmonella* Newport survenue en 1983 aux USA et plus récemment dans le Sud-Est de la France en 2001 (28). L'exemple outre-atlantique peut parfaitement illustrer ce cas de figure (29) : une souche de *Salmonella* Newport résistante aux tétracyclines a été isolée dans un élevage bovin où les tétracyclines étaient utilisées comme facteur de croissance. Dix-huit cas de salmonellose dus à une souche résistante à la tétracycline et à l'ampicilline se sont déclarés chez des personnes ayant consommé de la viande provenant de cet élevage, et où la même souche a été isolée. Les conséquences ont été importantes avec onze sujets hospitalisés et un décès suite à une infection nosocomiale. En outre, une prise d'ampicilline dans les jours précédant l'exposition à la viande contaminée constituait un facteur de risque significatif d'infection par une salmonelle résistante aux antibiotiques.

De la même manière, l'émergence récente de souches de *Campylobacter* résistantes aux quinolones (11) et de souches d'entérocoques résistantes aux glycopeptides (30;31) responsables de cas d'infections chez l'homme, est attribuée à la sélection de ces souches dans les élevages suivie de leur transmission à l'homme par l'alimentation. Au Danemark, une épidémie due à une souche de *S. Typhimurium* DT104 multirésistante, y compris aux quinolones, et d'origine porcine, a été transmise à l'homme par l'alimentation, et a eu pour conséquence des infections difficiles à traiter du fait de la résistance aux quinolones (32).

Enfin, d'éventuels résidus d'antibiotiques en persistant dans la viande animale pourraient favoriser la sélection de bactéries résistantes chez le consommateur. Normalement, l'utilisation des antibiotiques en élevage suit des règles qui doivent exclure la présence d'antibiotiques dans les viandes, notamment grâce au respect d'une période libre entre la fin de l'administration et l'abattage. Malgré cette période de «wash-out» imposée par la réglementation française, des enquêtes systématiques ont montré que la présence d'antibiotiques était détectable chez 2-3 % des bêtes abattues en 1998 et 1999 (33).

– Exposition directe dans les élevages animaux

Il semble exister un risque particulièrement élevé de portage de bactéries résistantes pour les sujets ayant des contacts répétés avec les animaux d'élevage. Les enquêtes menées récemment aux Pays-Bas par l'équipe de van den Bogaard montrent que les fréquences de portage intestinal d'entérobactéries résistantes à différentes classes d'antibiotiques dont les quinolones (34) et d'entérocoques résistants aux glycopeptides (35;36) sont significativement plus élevées chez les sujets travaillant dans des élevages que chez des sujets vivant en zone urbaine. Il existe une relation entre les classes d'antibiotiques utilisées dans les élevages, ou l'ayant été, et les profils de résistance sélectionnés (30).

Cela a fait suite à la démonstration princeps de la dissémination de la résistance de souches commensales des animaux à l'homme, en 1976 dans un élevage de poulets (37). De la tétracycline a été incorporée dans la nourriture de poulets de 3 mois. Trente six heures après, toutes les souches fécales d'*Escherichia coli* étaient résistantes à la tétracycline dans le groupe des poulets supplémentés, alors que le taux de résistance était inférieur à 10 % dans le groupe témoin non supplémenté. De plus, l'extension au personnel de la ferme de souches d'*E. coli* résistantes aux tétracyclines a été détectée chez 31 % des personnes, dans les 4 à 6 mois suivant l'introduction de la supplémentation dans l'alimentation. Cette étude démontre clairement la rapidité de la transmission des bactéries résistantes des animaux à l'homme dans les élevages. Toutefois, elle ne quantifie pas précisément ce risque, ce qui a été un des points centraux de notre étude.

L'acquisition de bactéries résistantes chez les sujets au contact des élevages suit sans doute plusieurs voies de transmission.

L'acquisition de bactéries résistantes peut se faire à partir des animaux ou de leur environnement, par ingestion. Les bactéries ainsi acquises sont potentiellement capables de transmettre des gènes de résistance aux bactéries composant cet écosystème même si elles ne séjournent que de façon transitoire dans l'écosystème intestinal des sujets (26;38-39). L'exposition aux antibiotiques distribués aux animaux pourrait également jouer un rôle. Le médicament, sous forme de poudre ou de granulés à incorporer dans l'aliment, pourrait être inhalé du fait des poussières en suspension dans les locaux de stockage ou à l'occasion de la distribution de l'aliment, et exercer ainsi une pression sélective sur la flore des sujets. A l'heure actuelle, aucune donnée de la littérature ne vient étayer cette hypothèse.

Ainsi, les données obtenues à partir des enquêtes menées aux Etats-Unis et en Europe suggèrent qu'il existe un risque d'augmentation de la colonisation par des bactéries résistantes chez le personnel des

élevages associé à leur exposition sur les lieux de travail. Il n'existe à ce jour aucune donnée française permettant d'estimer ce risque. La réalisation d'une telle enquête en France est justifiée par les différences de pratique qui existent entre les pays en terme d'utilisation des antibiotiques en élevage et par les modifications récentes des pratiques dues à l'interdiction d'utilisation de l'avoparcine en avril 1997, antibiotique de la classe des glycopeptides, jusque-là largement utilisé comme promoteur de croissance. Notre objectif a donc été de réaliser une enquête épidémiologique pour déterminer s'il existait en France un portage plus fréquent de bactéries résistantes chez les sujets travaillant dans les élevages de porcs en comparaison d'employés non exposés aux élevages.



Objectifs

L'objectif principal de cette étude était de tester l'hypothèse selon laquelle les sujets travaillant dans des élevages de porcs avaient un portage accru de bactéries résistantes dans leurs flores commensales nasale, pharyngée et digestive, en comparaison avec des individus ne partageant pas cette exposition.

Les objectifs secondaires étaient d'identifier une taille particulière d'élevage ou d'éventuelles pratiques à risque au sein des élevages pour la colonisation par des bactéries résistantes au sein de la population exposée.

Méthode

Schéma d'étude

L'étude réalisée a consisté en une étude transversale appariée « exposés-non exposés ».

Cette étude a permis de déterminer la prévalence du portage pharyngé, nasal et digestif de souches appartenant à différentes espèces bactériennes, résistantes à certaines classes d'antibiotiques dans un groupe « exposé » de sujets travaillant au contact des animaux, dans les élevages exclusifs porcins. La prévalence dans ce groupe a été comparée à celle d'un groupe non exposé.

Population d'étude

La population source était constituée par les exploitants et les salariés travaillant dans des élevages exclusifs porcins et par les salariés du secteur tertiaire, suivis en consultation dans le cadre de la médecine du travail par la Mutualité sociale agricole (MSA) dans les départements sélectionnés.

La population cible était quant à elle constituée par l'ensemble des exploitants et des salariés des élevages exclusifs porcins, et des salariés du secteur tertiaire, travaillant dans les départements sélectionnés.

Choix des élevages

Des élevages de porcs exclusifs ont été retenus pour cette étude pour deux raisons :

1. la production porcine en France représente plus de 20 millions de têtes par an ;
2. les porcs reçoivent en traitement curatif ou préventif plus de neuf familles d'antibiotiques (40).

Seuls les élevages exclusifs de porcs ont été inclus car l'exposition est très difficile à évaluer dans le cas d'élevages mixtes.

Le choix de n'inclure que les élevages de type naisseur-engraisseur (incluant tous les stades physiologiques de l'animal, de sa naissance jusqu'au départ à l'abattoir) a été motivé par le fait de pouvoir disposer de tous les stades physiologiques des animaux, de la naissance jusqu'à leur départ pour l'abattoir. La taille minimale de 84 truies dans chaque élevage où travaillaient les sujets inclus a également été choisie car ce nombre correspond à l'occupation à temps plein d'une personne. Au-delà de 150 truies, le nombre de personnes (notamment salariés) en activité dans l'élevage naisseur-engraisseur augmente et l'activité des porchers se spécialise.

Dans le choix des départements retenus dans l'étude, la volonté était d'avoir une représentativité analogue à celle de la production porcine française. Les départements retenus ont été :

- Côtes d'Armor, Finistère, Ille et Vilaine et Morbihan où la densité des élevages est importante ;
- Maine et Loire, Vendée, départements à densité moyenne ;
- Yonne, département à densité faible.

Définition de l'exposition

Les sujets du groupe exposé étaient des salariés ou des exploitants travaillant à temps plein, au contact des animaux dans les élevages conventionnels exclusifs porcins, de type naisseur-engraisseur.

Les sujets du groupe non-exposé étaient des salariés du secteur tertiaire (mutuelles, banques) affiliés à la MSA.

Critères d'appariement

Pour chaque sujet exposé, un sujet non exposé a été apparié selon le sexe, la tranche d'âge (16-25, 26-35, 36-45, 46-55, >55 ans) et le canton du lieu de travail.

Critères d'exclusion

- **Critères d'exclusion retenus pour l'ensemble des sujets étaient :**
 - souffrir de fièvre, de maux de gorge ou de gastro-entérite au moment de la consultation ;
 - avoir suivi un traitement antibiotique >24 heures, le mois précédant l'inclusion dans l'étude.
- **Critères d'exclusion spécifiques aux sujets exposés étaient :**
 - délai d'activité dans l'entreprise inférieur à trois mois ;
 - activité professionnelle non exclusive dans le secteur porcin ;
 - activité dans un secteur sans contact direct avec les animaux (par exemple, bureau ou administration de l'élevage) ;
 - inclusion antérieure d'un salarié ou exploitant travaillant dans le même élevage.
- **Critères d'exclusion spécifiques aux sujets non exposés étaient :**
 - avoir eu une activité en abattoir, dans l'industrie de l'alimentation du bétail ou dans un élevage personnel ou familial de quelque type que ce soit, le mois précédant la consultation ;
 - partager le domicile avec un sujet travaillant dans un élevage de quelque type que ce soit ou dans un abattoir ou dans l'industrie de l'alimentation du bétail.

Sélection des sujets

L'inclusion des paires de sujets exposés et non exposés a eu lieu au cours d'une même période de 3 mois, comprise entre novembre 2000 et juin 2001. Le fait que les sujets des deux groupes étaient appariés sur le sexe, la tranche d'âge et le canton permettait d'assurer la comparabilité, en particulier pour les facteurs alimentaires qui peuvent jouer un rôle dans le risque de colonisation par des bactéries résistantes et la période de 3 mois permettait d'éviter un biais potentiel lié à l'évolution de la résistance antibiotique dans le temps.

Le recrutement et les consultations ont été assurés par des médecins du travail de la MSA, ayant au moins dans leur secteur 60 salariés employés ou exploitants dans des élevages exclusifs porcins, dans l'un des 7 départements choisis.

• recrutement des sujets exposés

Pour chaque salarié figurant sur le carnet de rendez-vous du médecin du travail pour le mois en cours, une information sur les caractéristiques (type d'élevage exclusif porcin ou non, naisseur-engraisseur ou non, nombre de truies) de son lieu de travail a été ajoutée. A partir de cette liste, le médecin du travail de la MSA a sélectionné le premier salarié travaillant dans un élevage porcin et ayant les critères d'inclusion requis, pour lequel une consultation était prévue au moins deux semaines plus tard. Celui-ci était contacté par téléphone sur son lieu de travail. L'appel téléphonique était standardisé en utilisant un texte type qui portait sur les objectifs et les modalités de l'étude. Le médecin vérifiait à l'occasion de cet appel si l'élevage correspondait aux critères d'inclusion (élevage porcin exclusif, de type naisseur-engraisseur, nombre de truies supérieur ou égal à 84), posait les questions relatives aux critères d'exclusion des sujets exposés, et recueillait l'accord de principe du sujet pour participer à l'étude.

En cas d'absence du salarié lors de l'appel du médecin, celui-ci devait renouveler son appel au moins deux fois, et si possible à un moment favorable indiqué par un autre collègue de travail.

En cas de refus de participation, d'existence d'un critère d'exclusion ou d'absence après 3 tentatives, le sujet était remplacé par le premier salarié travaillant dans un élevage porcin exclusif, suivant sur la liste du carnet de rendez-vous. Cette procédure était répétée jusqu'à recrutement d'un sujet exposé.

Pour les salariés ou exploitants qui se présentaient à la consultation groupés par entreprise, le médecin tirait au sort un sujet et si celui-ci n'était pas retenu du fait d'un refus de participation ou de non-respect des critères d'inclusion, le médecin tirait au sort un deuxième sujet et ainsi de suite jusqu'à obtenir l'accord d'un sujet respectant les critères d'inclusion dans l'étude.

Un seul salarié ou exploitant par élevage a été retenu.

• recrutement des sujets non exposés

Les sujets non exposés ont été recrutés après chaque inclusion d'un sujet exposé et dans un délai maximum de trois mois. Le médecin a sélectionné, à partir de la liste du carnet de rendez-vous complétée avec l'information sur le lieu de travail, le premier salarié du secteur tertiaire du même sexe que le sujet exposé et pour lequel une consultation était prévue. Les critères d'appariement au sujet exposé (sexe, tranche d'âge et canton de travail) étaient alors vérifiés.

Si le salarié ne remplissait pas ces critères d'appariement, le salarié du secteur tertiaire suivant sur la liste était sélectionné et ainsi de suite.

Le premier salarié remplissant l'ensemble des critères était contacté selon les mêmes modalités que pour les sujets exposés.

En cas de refus de participation, d'existence d'un critère d'exclusion, ou d'absence après trois tentatives de contact téléphonique, le sujet était remplacé par le premier salarié suivant sur la liste, correspondant aux critères d'inclusion dans l'étude.

Chaque médecin devait inclure au moins 5 sujets exposés et 5 sujets non exposés au cours de la période d'étude.

Période d'étude

La période prévue pour la réalisation des recrutements des sujets allait de novembre 2000 à juin 2001.

Taille d'échantillon

Le calcul de la taille de l'échantillon a été fait compte tenu de l'objectif principal et non des objectifs secondaires. Le calcul a été fait à partir des informations disponibles concernant la prévalence du portage de bactéries résistantes chez les sujets sains ([Annexe 1](#)) en se basant sur la prévalence la plus faible qui est voisine de 5 % et de façon à ce que l'enquête ait la puissance suffisante pour détecter une différence de prévalence de 10 % entre les 2 groupes, exposé et non exposé. Un groupe de 250 sujets au total (125 exposés et 125 non exposés) était suffisant pour obtenir une puissance satisfaisante dans la plupart des situations ([Annexe 2](#)). Cependant, concernant la résistance de *E. coli* à l'ampicilline avec une prévalence attendue de 50 % chez les sujets non exposés, par exemple, cet échantillon ne permettait de démontrer qu'une différence de prévalence de 19 % ou plus.

Réalisation des prélèvements et recueil des échantillons et acheminement au laboratoire

Lorsque l'accord du salarié était obtenu, le contact téléphonique était suivi de l'envoi postal au domicile du sujet d'un formulaire de consentement éclairé ([Annexe 3](#)) d'un pot de recueil des selles et d'une note explicative.

L'écouvillonnage nasal a été réalisé à l'aide d'un double écouvillon mousse stérile (IZ, Becton-Dickinson). Le même écouvillon a été utilisé pour les narines droite et gauche. Le prélèvement a été effectué en enfonçant l'écouvillon d'au moins 1 cm dans la narine et en vrillant l'écouvillon dans la narine au moins 3 fois et en le laissant en place pendant 10 à 15 secondes.

L'écouvillonnage pharyngé a été réalisé à l'aide d'un double écouvillon stérile (IZ, BD) et d'un abaisse-langue en appliquant fermement l'écouvillon sur différentes parties des amygdales et de la paroi postérieure de l'oropharynx, sans toucher les joues, les dents ou les gencives lors du retrait de l'écouvillon.

Un écouvillonnage de selles a été réalisé en trempant l'écouvillon dans un prélèvement de fèces émis dans les 12 heures précédant la consultation (1 à 5 g de selles ont été recueillis dans un pot à coproculture) et apporté par le volontaire.

Immédiatement après leur réalisation, chacun de ces écouvillons a été déchargé par le médecin de consultation dans deux tubes pour congélation de 2 ml (Nunc) contenant chacun 1 ml de bouillon glucosé tamponné (BGT) additionné de 10 % de glycérol. Les tubes ont été étiquetés en utilisant un code de façon à ce que l'identité du sujet ne soit plus apparente. Ils ont été conservés à température ordinaire pendant quelques heures puis congelés à -80°C avant la fin de l'après-midi dans un laboratoire départemental

(Annexe 4). Transportés dans la carboglace jusqu'au laboratoire de l'EPI9933, ils y ont été conservés congelés à -80°C jusqu'à leur décongélation par série le jour de l'analyse.

Questionnaire et recueil des données

Les questionnaires (Annexes 5 et 5 bis) ont été remplis par le médecin du travail lors de la consultation. Ces questionnaires ont été élaborés avec des médecins du travail de la MSA et des techniciens d'élevage. Ils avaient préalablement été testés en situation auprès de 10 sujets environ et amendés en fonction de ce test. Le recueil des données a été effectué au cours de la consultation. Leur traitement informatique a été assuré au Département des maladies infectieuses de l'InVS de façon à respecter l'anonymat des sujets participant à l'étude. L'identification des sujets se faisant par un n° d'identifiant élaboré par le médecin du travail, un code à 4 chiffres était attribué à chaque sujet, les deux premiers chiffres correspondaient au code du médecin et les deux derniers au code spécifique du patient. Seul le médecin du travail de la MSA conservait la trace de la liaison entre l'identité du sujet et son numéro d'identifiant.

Aspects éthiques

Une demande d'avis sur le traitement de données nominatives a été préalablement envoyée au Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé et une demande d'autorisation de constitution de fichier par traitement automatisé des informations recueillies par questionnaire a été soumise à la Commission nationale de l'informatique et des libertés (Cnil). Un avis favorable a été émis par la Cnil (avis n°900242).

Préalablement à l'étude et conformément à la loi du 20 décembre 1977 modifiée (livre II bis du code de la santé publique), le promoteur (la caisse centrale de la Mutualité sociale agricole) a contracté une assurance responsabilité civile sous le contrat N° 438375G001 de la compagnie Groupama Assurances. Cette enquête a, par ailleurs, reçu l'avis favorable du Comité consultatif de protection des personnes participant à une recherche biomédicale (CCPPRB) de Créteil – Henri Mondor le 11 juillet 2000.

Analyses microbiologiques

La recherche de bactéries résistantes s'est effectuée selon les techniques suivantes :

• prélèvements nasaux

Le portage de *Staphylococcus aureus* a été recherché par étalement du bouillon ensemencé avec les écouvillons nasaux sur milieux de Chapman (BioMérieux, Charbonnières les bains, France). Les colonies fermentant le mannitol ont été identifiées comme *S. aureus* par la recherche de coagulase de plasma de lapin (BioMérieux). La sensibilité des souches de *S. aureus* aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en gélose comme recommandée par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) (41). Les antibiotiques (ou familles) suivants ont été retenus pour les tests de sensibilité : méticilline, péfloxacin, pénicilline G, aminosides (kanamycine, tobramycine et gentamicine) ainsi que le groupe «érythromycine, lincomycine et streptomycine».

• prélèvements pharyngés

Le portage de souches de *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), d'*Haemophilus* spp. de *Moraxella* spp., de streptocoques bêta-hémolytiques et de *S. aureus* a été recherché. Ce portage a été déterminé par étalement en épuisement des bouillons ensemencés avec les écouvillons pharyngés sur gélose Columbia additionnée de 5 % de sang de mouton, sur gélose au sang cuit et sur gélose de Chapman. Les souches de *S. pneumoniae* et d'*Haemophilus* spp. ont été identifiées par les méthodes conventionnelles. Les souches de Streptocoques du groupe A ont été identifiées par la présence d'une hémolyse bêta puis par agglutination. Leur sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en gélose. Les antibiotiques suivants ont été retenus pour les tests de sensibilité :

- pour *S. pneumoniae* : pénicilline, oxacilline, érythromycine, tétracycline et cotrimoxazole ;
- pour *H. influenzae* : amoxicilline, amoxicilline + acide clavulanique, céfalotine, péfloxacin, tétracycline, cotrimoxazole et pristinamycine.

La présence de streptocoques commensaux a été détectée par étalement au râteau de 0,1 ml de bouillon sur gélose Columbia additionnée de 5 % de sang de mouton et contenant ou non de l'ampicilline à la concentration de 4 mg/L ou de l'érythromycine à la concentration 1 mg/L. Ces concentrations ont été choisies en accord avec les concentrations critiques du CA-SFM permettant de caractériser les souches

résistantes. Les souches des streptocoques commensaux ont été identifiées uniquement sur l'aspect des colonies, la coloration de Gram ainsi que sur le caractère catalase négatif. Les sujets étaient déclarés porteurs de streptocoques commensaux résistants à l'érythromycine ou à l'amoxicilline quand des colonies étaient présentes sur les milieux contenant l'antibiotique correspondant.

Les levures, les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* ont été recherchés respectivement sur milieux Chromagar, Drigalski et Cétrimide (BioMérieux) et identifiés par méthodes standards, le cas échéant.

• prélèvements digestifs

Les bouillons ont été décongelés peu de temps avant d'être ensemencés. Des aliquotes de 0,1 ml de cette culture ont ensuite été étalés : a) sur gélose Sabouraud Chromagar (BioMérieux) et incubés 7 jours à température ambiante pour la détection de champignons et de levures ; b) sur une gélose de Chapman (BioMérieux) pour la détection de *S. aureus* ; c) sur une gélose Cétrimide pour la détection de *P. aeruginosa* et ; d) sur une gélose Bile-Esculine-Azide (BEA) pour la détection des entérocoques. Les entérocoques résistants à l'érythromycine ont été détectés sur gélose BEA contenant 5 mg/L d'érythromycine comme recommandé et ceux résistants à la vancomycine ont été détectés sur gélose BEA contenant 10 mg/L de vancomycine après une étape d'enrichissement de 18 heures dans un bouillon contenant 1 mg/L de vancomycine (42;43). La présence de *Clostridium difficile* a été détectée par ensemencement d'une gélose CCFA (BioMérieux) incubé pendant 48 heures en anaérobiose (44). La résistance des bactéries Gram négatif a été détectée selon deux procédures distinctes (45).

La première technique a consisté à explorer la flore digestive sous-dominante. La présence de colonies était détectée après incubation à 37° C pendant 48 heures de 0,1 ml de bouillon étalé sur gélose Drigalski sans antibiotique ou contenant respectivement de l'ampicilline (10 mg/L), de la ceftazidime (2 mg/L), de la streptomycine (20 mg/L), de la kanamycine (20 mg/L), du chloramphénicol (20 mg/L), de la tétracycline (10 mg/L), ou de l'acide nalidixique (50 mg/L) (46). Les colonies étaient ensuite dénombrées et des classes constituées : [0], [1-5], [5-10], [10-15], [15-25], [25-100], ≥ 100 suivant le nombre d'unités formant colonie (UFC).

Des lots de géloses contenant des antibiotiques étaient préparés hebdomadairement et conservés à +4°C jusqu'à utilisation. Un système de contrôle qualité utilisant des souches de *E. coli* de sensibilité connue aux antibiotiques a été mis en place ; les souches étaient ensemencées sur chaque lot de gélose Drigalski contenant des antibiotiques. En outre, une gélose sur dix avec croissance bactérienne était sélectionnée pour la réalisation de contrôle de qualité et une colonie repiquée pour réaliser les tests de sensibilité aux antibiotiques afin d'assurer que les colonies croissant sur milieux aux antibiotiques étaient bien résistantes à l'antibiotique contenu dans la gélose. Aucune autre identification n'a été réalisée sauf pour les colonies qui avaient poussé sur les milieux contenant de la ceftazidime, qui furent identifiées en utilisant une plaque API (API, La Balme-les-Grottes). La sensibilité de ces souches aux antibiotiques était testée par la méthode de diffusion en gélose. Selon cette première technique, un sujet était défini comme porteur d'entérobactéries résistantes à un antibiotique dans la flore sous-dominante si au moins une colonie poussait sur le milieu contenant cet antibiotique.

La seconde technique a consisté à examiner la flore dominante en repiquant 5 colonies choisies au hasard parmi celles ayant poussé sur le milieu de Drigalski sans antibiotique. Les colonies étaient ensuite purifiées et identifiées. La sensibilité aux antibiotiques était alors déterminée par la méthode de diffusion en gélose selon les recommandations du CA-SFM. Les antibiotiques testés étaient les suivants : ampicilline, amoxicilline + acide clavulanique, céfalotine, céfamandole, ceftazidime, streptomycine, kanamycine, gentamicine, acide nalidixique, péfloxacin, tétracycline, chloramphénicol, cotrimoxazole et colistine. Un sujet a été considéré comme porteur d'entérobactéries résistantes à un antibiotique donné dans la flore dominante si au moins une des colonies isolées du milieu était résistante à l'antibiotique considéré.

• antibiorésistance

Pour le calcul des rapports de prévalence de la résistance aux antibiotiques, les souches R (appartenant à la catégorie clinique R, c'est-à-dire celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique) ont été prises en compte. Les souches I (catégorie clinique intermédiaire) ont été groupées avec les souches S (catégorie clinique sensible).

Analyse statistique

Nous avons comparé les sujets exposés et non exposés par le calcul du rapport de prévalence du portage des bactéries dans les flores commensales ainsi que des rapports de prévalence de la résistance des bactéries isolées.

Les prévalences de portage de bactéries dans les flores commensales (nasale, pharyngée et digestive) ont été calculées pour les exposés et les non exposés. Un rapport de prévalence apparié a ensuite été calculé ainsi que l'intervalle de confiance à 95 % (47).

Les analyses ont ensuite consisté à calculer les prévalences de la résistance parmi les sujets exposés et non exposés porteurs de bactéries isolées de leurs flores commensales. La distribution des sujets porteurs de bactéries résistantes ne respectant pas nécessairement l'appariement, les analyses complémentaires sur la prévalence de portage de bactéries résistantes n'étaient pas appariées. La distribution des sujets porteurs de bactéries en termes d'âge, de sexe et de département de travail a été préalablement établie afin de vérifier la comparabilité des deux groupes et de discuter, le cas échéant les biais potentiels induits par la rupture des critères d'appariement. La comparaison des deux groupes en terme d'âge a été réalisée en utilisant une comparaison de moyenne entre les sujets porteurs des deux groupes. Les répartitions des sujets porteurs des deux groupes par sexe et par département ont été comparées en utilisant le test du Chi 2. Les rapports de prévalence de la résistance parmi les sujets porteurs exposés et non exposés ont été calculés à l'aide du calculateur statistique d'Epi info (version 6.04, Centers for Diseases Control, Atlanta) (48).

Des analyses complémentaires ont permis de détailler la distribution du portage et des résistances des bactéries isolées des flores des populations exposées et non exposées, selon le sexe, l'âge, l'ancienneté dans l'entreprise (élevage ou secteur tertiaire) et le département de travail.

Au sein de la population exposée, des analyses complémentaires ont également été réalisées afin d'identifier des situations à risque. Ainsi, pour chacun des postes de travail identifié comme potentiellement à risque (contact avec le lisier, préparation des aliments...), des rapports de prévalence non appariés ainsi que les intervalles de confiance à 95 % ont été calculés entre les individus exposés occupant ces postes et les individus exposés ne les occupant pas (48). Les quantités d'antibiotiques utilisées dans les élevages étant bien évidemment proportionnelles à la production porcine (kg de poids vif), une analyse complémentaire a consisté à comparer les prévalences de portage et de résistance des bactéries isolées des sujets exposés selon le nombre de truies par élevage (répartition par quartile). Un Chi 2 de tendance a été alors utilisé (49).

La prévalence de portage digestif d'entérobactéries a été calculée. Les pourcentages cumulatifs des porteurs d'entérobactéries digestives résistantes à au moins un des 8 antibiotiques testés ont été comparés dans les deux groupes, en fonction du nombre de marqueurs de résistance aux antibiotiques (50). Une semiquantification des entérobactéries résistantes isolées sur milieux contenant des antibiotiques a été effectuée et comparée par une comparaison de moyennes, en prenant en compte le milieu de chacune des classes pour le calcul du nombre total de colonies isolées (pour la classe ≥ 100 UFC, le compte 200 a été fixé comme milieu de classe).

Pour estimer la fréquence de résistance des souches d'*E. coli*, le nombre de souches résistantes à X antibiotiques a été divisé par le nombre total de souches isolées sur le milieu sans antibiotique et rapporté au nombre d'antibiotiques X pour les sujets exposés et non exposés, selon la méthode décrite par Lester *et al.* (45). Les distributions des souches d'*E. coli* isolées de la flore dominante digestive des porchers et des non porchers ont été comparées en fonction du nombre de marqueurs de résistance aux antibiotiques (50). La corésistance à l'ampicilline, au cotrimoxazole et à la streptomycine des souches de *E. coli* a été utilisée comme marqueur de la multirésistance et sa prévalence comparée entre les groupes (48).

Résultats

Description de l'échantillon

Au cours de la période d'étude de novembre 2000 à juin 2001, 226 sujets comprenant 113 exposés et 113 non exposés ont été inclus dans l'analyse. Dans chacun des groupes, il y avait 16 femmes, le sex-ratio H/F était donc de 6,1.

La moyenne d'âge ne différait pas de façon statistiquement significative selon le groupe d'étude et était de 37,8 ans pour **l'ensemble des deux groupes** (médiane = 36,0 / min-max : [21-72]) ; **non exposés** : moyenne = 39,0 (médiane = 39,0 / min-max : [24-72]) ; **exposés** : moyenne = 36,6 (médiane = 36,0 / min-max : [21-63]).

Le recrutement des sujets par département et par groupe est indiqué tableau 1.

Tableau 1. Répartition des individus par département du lieu de travail et par groupe

Département	Non exposés	Exposés	Total
Côtes d'Armor	23	23	46
Finistère	22	22	44
Morbihan	20	20	40
Yonne	20	20	40
Ille-et-Vilaine	17	17	34
Vendée	9	9	18
Maine-et-Loire	2	2	4
Total	113	113	226

L'ancienneté des individus dans l'entreprise (élevage et secteur tertiaire) définie par le délai entre l'arrivée dans l'entreprise et la date de consultation avec le médecin du travail (*i.e* date du recrutement dans l'étude) était significativement différente entre les populations exposées (moyenne 9,7 ans [médiane : 6,7]) et non exposées (moyenne 13,1 ans [médiane : 11,1]) ($p < 0,01$).

Description de l'activité de la population exposée

Les élevages de l'étude étaient pour la plupart des élevages en bâtiment clos (95/102) et le nombre moyen de truies par élevage était de 320 (médiane : 270 ; min-max : [70*-1500]).

Quatre-vingt huit pour cent (100/113) des sujets exposés participaient quotidiennement à la préparation et la distribution des aliments. Dans la majorité des cas (90,3 %), la préparation des aliments était automatique. Seuls 9,7 % des sujets exposés (11/113) préparaient l'alimentation de manière manuelle exclusivement. Le contact avec le lisier ou le fumier était fréquent, et quotidien pour 34,5 % des sujets exposés (39/113) ; 8,0 % (9/113) n'avaient aucun contact avec le lisier ou le fumier au cours de leurs activités. Vingt et un sujets exposés (18,8 %) ne participaient à aucune activité de type : épandage de lisier, évacuation des fosses ou lavage des sols. Les sujets participant à une, deux ou trois de ces activités étaient respectivement 20,5 % (23/112), 39,3 % (44/112) et 21,4 % (24/112). Les données sur les activités des individus exposés sont présentées dans le tableau 2.

** Le comité de pilotage de l'étude a toléré, *a posteriori* mais sans prendre connaissance des résultats des tests microbiologiques, un écart au protocole pour trois élevages (un à 80 truies et deux à 70 truies) pour deux raisons. La première est l'approximation de la déclaration par le porcher du nombre de truies lors de la consultation de médecine du travail. La seconde est que les trois porchers contactés ont confirmé travailler à temps plein depuis trois mois dans leur ferme avant leur inclusion dans l'étude.

Tableau 2. Description de l'exposition des sujets exposés

Expositions	N. sujets exposés (%)	
Préparation et distribution des aliments		
Tous les jours	100	(88,5)
Parfois / souvent	9	(8,0)
Parfois	4	(3,5)
Jamais	0	
Total	113	(100,0)
Mode de préparation des aliments		
Automatique	35	(31,0)
Manuelle	11	(9,7)
Mixte	67	(59,3)
Total	113	(100,0)
Contact avec le lisier/fumier		
Tous les jours	39	(34,5)
Parfois / souvent	48	(42,5)
Parfois	17	(15,0)
Jamais	9	(8,0)
Total	113	(100,0)

Sur les 113 sujets exposés, 112 (99,1 %) administraient des antibiotiques aux animaux. Les formes injectables étaient utilisées par 109 (97 %), les poudres déjà incorporées par 58 (52 %), les poudres solubles par 39 (35 %) et les poudres sèches par 62 (55 %).

L'utilisation par les sujets exposés des différentes tenues de protection recommandées au cours de leurs activités figurent dans le tableau 3.

Tableau 3. Fréquence d'utilisation des masques et des gants par les 113 porchers selon les activités

Activité	N (%)	N (%) utilisant	
		Masques	Gants
Préparation des aliments, quotidienne ou fréquente	109 (96)	4 (3,6)	8 (7,3)
Préparation des aliments, manuelle ou mixte	78 (69)	4 (5,2)	5 (6,4)
Manipulation du lisier/fumier, quotidienne ou fréquente	87 (77)	2 (2,3)	7 (8,0)
Administration des antibiotiques	112 (99)	4 (3,5)	9 (8,0)

Les sujets exposés avaient plusieurs activités au sein de l'élevage et pouvaient occuper plusieurs postes. Quatre-vingt onze porchers (80,5 %) travaillaient au poste maternité/gestantes. La distribution du travail selon les postes est présentée dans le tableau 4.

Tableau 4. Poste de travail des sujets exposés (*plusieurs réponses possibles*)

Poste	Oui (%)	Non (%)	Total
Maternité	98 (87,5)	14 (12,5)	112
Post sevrage	88 (79,3)	23 (20,7)	111
Engraissement	79 (71,2)	32 (28,8)	111
Gestantes	99 (89,2)	12 (10,8)	111
Quarantaine	90 (81,1)	21 (18,9)	111

Résultats microbiologiques

Prélèvements de nez

La prévalence du portage de *S. aureus* dans la flore nasale des sujets exposés (44,6 % ; 50/112) était significativement supérieure à celle des non exposés (24,1 % ; 27/112) avec un rapport de prévalence apparié (Rpa) de 1,85 (IC 95 % [1,26-2,71] $p < 0,01$) (Tableau 5). Le rapport de prévalence (Rp) était de 1,62 chez les hommes (IC 95 % [1,08 ; 2,41] ; 42/97 pour les exposés contre 26/97 pour les non exposés), et de 8,0 pour les femmes (IC 95 % [1,71-37,33] ; 8 femmes porteuses de *S. aureus* sur 16 exposées contre 1 seule femme sur 16 non exposées).

Les sujets porteurs de *S. aureus* étaient comparables dans les deux groupes quant à la répartition par âge (âge moyen des sujets exposés : 37,8 ; âge moyen des sujets non exposés : 38,3 ; $p = 0,84$), sexe ($p = 0,22$) et département ($p = 0,63$).

Les profils de résistance aux différents antibiotiques testés n'étaient pas différents entre les deux groupes, excepté pour la résistance aux antibiotiques de la famille des macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS) avec un rapport de prévalence très élevé de près de 10 (Tableau 5).

Tableau 5. Prévalence de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. aureus* isolées dans la flore nasopharyngée

	Prévalence N (%)		Ratio de Prévalence	IC 95 %	p
	Sujets Exposés	Sujets Non Exposés			
Portage de <i>S. aureus</i>					
Total	50/112 (44,6)	27/112 (24,1)	1,85	[1,26-2,71]	< 0,01
Oxacilline résistant	5/50 (10,0)	0/27	–	–	0,59
Macrolides résistant^a	36/50 (72,0)	2/27 (7,4)	9,72	[2,53-37,30]	< 0,01
Aminosides résistant^b	10/50 (20,0)	0/27	–	–	0,11
Péfloxaciné résistant	8/50 (16,0)	1/27 (3,7)	4,32	[0,57-32,75]	0,22

^a résistance à au moins un antibiotique : macrolide (érythromycine), lincosamide (lincomycine) et streptogramine (pristinamycine)

^b résistance à au moins un antibiotique : kanamycine, tobramycine, gentamicine

Le profil de sensibilité aux antibiotiques le plus fréquemment observé était celui associant une résistance à l'érythromycine et à la lincomycine et une sensibilité à la pristinamycine (Tableau 6).

Tableau 6. Distribution des différents profils de résistance des souches de *S. aureus* aux macrolides dans le portage nasopharyngé : (S/R) érythromycine, (S/R) lincomycine, (S/R) pristinamycine

N (%)	SSS	RSS	RRS	RRR	SRR
Sujets Exposés (n=50)	14 (28,0)	3 (6,0)	27 (54,0)	4 (8,0)	2 (4,0)
Sujets Non Exposés (n=27)	25 (92,6)	2 (7,4)	0	0	0
Total	39 (50,6)	5 (6,5)	27 (35,1)	4 (5,2)	2 (2,6)

Cinq sujets exposés étaient porteurs de *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) contre 0 non exposé (NS) (Tableau 5). Une analyse complémentaire auprès de ces cinq sujets, suivant un questionnaire testé dans une étude antérieure (51) (Annexe 6) a permis de mettre en évidence une potentielle acquisition hospitalière des souches de SARM. En effet, parmi les 5 sujets porteurs de SARM, 3 avaient été hospitalisés (en pneumologie et chirurgie) dans les deux ans précédant la consultation avec le médecin de la MSA et un sujet avait été hospitalisé en soins intensifs dans les douze mois précédant la consultation. Un sujet avait travaillé en maison médicalisée et avait eu plusieurs consultations dans un cabinet médical au cours des deux dernières années. Un sujet enfin n'avait pas eu de contact avec des établissements de soins, mais avait eu plusieurs consultations dans des cabinets médicaux pour prise en charge d'une maladie chronique (cardio-respiratoire) dans les 12 mois précédant la consultation avec la MSA. Chez ce sujet, un pneumocoque résistant aux antibiotiques avait également été isolé dans les douze mois précédant la consultation.

Les phénotypes de résistance aux antibiotiques des 5 souches de SARM étaient différents : 4 souches étaient résistantes à au moins un macrolide (2 étaient RRR, 1 était RRS et 1 était SRR pour l'érythromycine, la lincomycine et la pristinamycine respectivement), 4 souches étaient résistantes aux aminosides (2 étaient RRS et 2 RRR, pour la kanamycine, la tobramycine et la gentamicine, respectivement) et 4 souches étaient résistantes à la péfloxaciné. De plus, l'étude génotypique des 5 souches de SARM, notamment les profils de migration obtenus par la technique en champs pulsés, n'est pas en faveur d'une

origine communautaire (communication personnelle du Professeur J. Etienne, Centre national de référence des staphylocoques-Lyon).

Prélèvements de gorge

Flores oro-pharyngées

La prévalence élevée du portage des streptocoques alpha hémolytiques dans la gorge était comparable entre les sujets des deux groupes (108 exposés porteurs et 100 non exposés) (Tableau 7).

Les sujets porteurs de streptocoques commensaux étaient comparables en termes de sexe ($p=0,67$) et de département ($p=0,99$) et différaient légèrement en terme d'âge (âge moyen des sujets exposés porteurs = 36,2 ans ; âge moyen des sujets non exposés porteurs = 38,8 ans : $p=0,04$).

Tableau 7. Prévalence de la résistance aux antibiotiques des streptocoques commensaux de la gorge

	Prévalence N (%)		Ratio de Prévalence	IC 95 %	p
	Sujets Exposés	Sujets Non Exposés			
Portage de streptocoques non groupables					
Total	108/112 (96,4)	100/112 (89,3)	1,08	[1,00-1,16]	0,06
Ampicilline résistants	48/108 (44,4)	22/100 (22,0)	2,02	[1,32-3,09]	< 0,01
Macrolides résistants	108/108 (100)	100/100 (100)	–	–	1,00

Portage oro-pharyngé de microorganismes potentiellement pathogènes

Les recherches de *S. pneumoniae*, de *H. influenzae*, de *Candida albicans* et d'entérobactéries dans la flore oro-pharyngée des sujets n'ont pas montré de différence significative entre les deux groupes (Tableau 8). Aucune souche de *P. aeruginosa* n'a été isolée chez aucun sujet.

La répartition des groupes de streptocoques bêta-hémolytiques n'était pas significativement différente dans les deux groupes (Tableau 8).

Tableau 8. Prévalence du portage de streptocoques bêta-hémolytiques, de levures et de bactéries à gram négatif dans la flore oro-pharyngée

	Prévalence N (%)		Ratio de Prévalence	IC 95 %	p
	Sujets Exposés	Sujets Non Exposés			
Portage oropharyngé de					
Streptocoques Bêta-hémolytiques^a	11/112 (9,8)	9/112 (8,0)	1,22	[0,53-2,83]	0,82
groupe A	1/11	1/9			
groupe C	5/11	5/9			
<i>S. anginosus</i>	3/11	3/9			
<i>S. intermedius</i>	1/11	1/9			
<i>S. constellatus</i>	4/11	3/9			
<i>S. pneumoniae</i>	0/112	3/112 (2,5)	–	–	0,25
<i>H. influenzae</i>	6/112 (5,4)	5/112 (4,5)	1,20	[0,38-3,82]	1,00
Entérobactéries	1/112 (0,9)	2/112 (1,8)	0,50	[0,05-5,44]	1,00
<i>Candida albicans</i>	1/112 (0,9)	0/112	–	–	0,25

^a plusieurs espèces possibles par sujet

Prélèvements de selles

Flore digestive

Il n'a pas été mis en évidence de différence significative entre les deux groupes quant au portage des entérocoques isolés dans les prélèvements de selles (Tableau 9). Les caractéristiques des sujets porteurs, 71 sujets exposés et 80 sujets non exposés, n'étaient pas statistiquement différentes entre les deux groupes pour les facteurs d'appariement (âge moyen des sujets exposés : 37,7 ans ; âge moyen des sujets non exposés : 39,4 ; $p=0,33$; sexe $p=0,44$; département $p=0,99$). La prévalence du portage d'entérocoques résistants à la vancomycine (VRE) dans les selles était de 10,6 % ; 6/71 chez les porchers et 10/80 chez les non exposés. Parmi les 16 souches VRE, deux souches appartenaient à l'espèce

E. faecium (phénotype de résistance de type VanA), les autres appartenait à l'espèce *E. gallinarum* (n=11) et *E. casseliflavus* (n=3) ayant un phénotype de résistance de type VanC qui est une résistance naturelle chez ces espèces.

De même, la prévalence du portage d'entérobactéries n'était pas différente entre les deux groupes (Tableau 9). La répartition des sujets porteurs d'entérobactéries n'était pas différente entre les deux groupes selon l'âge (âge moyen des sujets exposés porteurs = 38,9 ans ; âge moyen des sujets non exposés porteurs = 36,7 ans, p=0,10), le sexe (p=0,92) et le département (p=0,99).

La détection des entérobactéries sur des milieux contenant des antibiotiques a permis de mettre en évidence des différences entre les deux groupes. La prévalence de la résistance à la streptomycine, au chloramphénicol, à la tétracycline et à l'acide nalidixique était significativement supérieure chez les exposés en comparaison avec les non exposés (Tableau 9). De plus, le nombre d'UFC d'entérobactéries isolées sur un milieu contenant un antibiotique était significativement supérieur dans le groupe exposé par rapport au groupe non exposé pour les antibiotiques suivants : streptomycine, tétracycline et acide nalidixique (Annexe 7). Pour le chloramphénicol et les autres antibiotiques testés, le nombre de bactéries isolées était comparable entre les deux groupes.

Tableau 9. Comparaison des flores sous dominantes et dominantes et de leur sensibilité aux antibiotiques des 112 sujets exposés et 112 non exposés

Flore sous dominante	Prévalence N (%)		Ratio de Prévalence	IC 95 %	p
	Sujets Exposés	Sujets Non Exposés			
Portage d'entérocoques					
Total	71/109 (65,1)	80/109 (73,4)	0,89	[0,75-1,05]	0,21
Erythromycine résistant	38/71 (53,5)	46/80 (57,5)	0,93	[0,70-1,24]	0,62
Vancomycine résistant	6*/71 (8,5)	10†/80 (12,5)	0,68	[0,26-1,77]	0,42
Portage d'entérobactéries^a					
Total	103/109 (94,5)	100/109 (91,7)	1,03	[0,96-1,10]	0,58
Streptomycine résistant	69/103 (67,0)	48/100 (48,0)	1,40	[1,09-1,78]	<0,01
Kanamycine résistant	29/103 (28,2)	23/100 (23,0)	1,22	[0,76-1,96]	0,40
Gentamicine résistant	10/103 (9,7)	3/100 (3,0)	3,24	[0,92-11,42]	0,05
Ampicilline résistant	68/103 (66,0)	55/100 (55,0)	1,20	[0,96-1,50]	0,11
Chloramphénicol résistant	30/103 (29,1)	14/100 (14,0)	2,08	[1,17-3,68]	<0,01
Tétracycline résistant	73/103 (70,9)	43/100 (43,0)	1,65	[1,27-2,13]	<0,01
Ac. nalidixique résistant	22/103 (21,4)	3/100 (3,0)	7,12	[2,20-23,0]	<0,01
Flore dominante	Prévalence N (%)		Ratio de Prévalence	IC 95 %	p
	Sujets Exposés	Sujets Non Exposés			
Portage d'<i>E. coli</i>^b					
Total	100/109 (91,7)	98/109 (89,9)	1,02	[0,94-1,10]	0,64
Streptomycine résistant	50/100 (50,0)	35/98 (35,7)	1,40	[1,01-1,95]	0,04
Kanamycine résistant	10/100 (10,0)	12/98 (12,2)	0,82	[0,37-1,80]	0,62
Gentamicine résistant	2/100 (2,0)	0	-	-	0,99
Ampicilline résistant	37/100 (36,3)	35/98 (35,0)	1,04	[0,72-1,50]	0,85
Ampi.+ inhibiteur résistant	0	3/98 (3,1)	-	-	0,60
Céfalotine résistant	0	3/98 (3,1)	-	-	0,60
Chloramphénicol résistant	11/100 (11,0)	9/98 (9,2)	1,20	[0,52-2,76]	0,67
Tétracycline résistant	52/100 (52,0)	23/98 (23,5)	2,22	[1,48-3,32]	<0,01
Cotrimoxazole résistant	37/100 (37,0)	12/98 (12,2)	3,02	[1,68-5,44]	<0,01
Ac. nalidixique résistant	11/100 (11,8)	0	-	-	<0,01
Péfloxacin résistant	5/100 (5,0)	0	-	-	0,22

**E. faecium* : 0, *E. gallinarum* : 6 ; †*E. faecium* : 2, *E. gallinarum* : 5, *E. casseliflavus* : 3

^a aucune entérobactérie résistante à la ceftazidime n'a été trouvée chez les sujets exposés et les non exposés

^b aucune souche de *E. coli* résistante à la colistine, ni au céfamandole, ni à la ceftazidime n'a été trouvée chez les sujets exposés et les non exposés

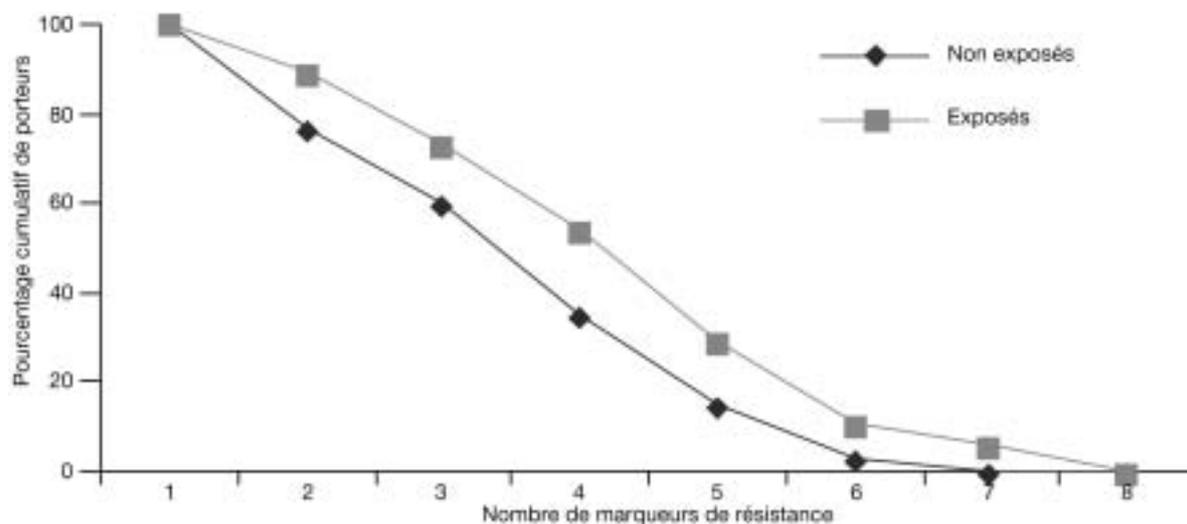
L'analyse des souches de la **flore dominante** a permis d'identifier 995 entérobactéries chez les 198 sujets porteurs ; *E. coli* était l'espèce la plus fréquemment retrouvée (917/995 ; 92,2 %) avec *Hafnia alvei* (48/995 ; 4,8 %) et *Citrobacter freundii* (11/995 ; 1,1 %). Il n'y avait pas de différence significative entre les deux groupes quant au portage de ces trois espèces (Annexe 8).

Les résultats des tests de sensibilité *in vitro* des souches de *E. coli* à différentes classes d'antibiotiques ont permis de mettre en évidence un taux de résistance à la streptomycine, à l'acide nalidixique, à la tétracycline et au cotrimoxazole supérieur parmi les exposés par rapport aux non exposés (Tableau 9). Les mêmes analyses concernant l'espèce de *H. alvei* n'ont pas mis en évidence de différence significative entre les groupes pour le portage et pour la résistance aux antibiotiques testés.

La résistance associée aux antibiotiques

Concernant la **flore digestive sous dominante**, 89 % des sujets exposés contre 77 % des sujets non exposés étaient porteurs d'entérobactéries résistantes à au moins 2 antibiotiques, alors que 73 % des sujets exposés étaient porteurs de bactéries résistantes à au moins 3 antibiotiques (Figure 1). A partir des deux distributions observées des pourcentages cumulatifs de porteurs, les distributions théoriques ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 %.

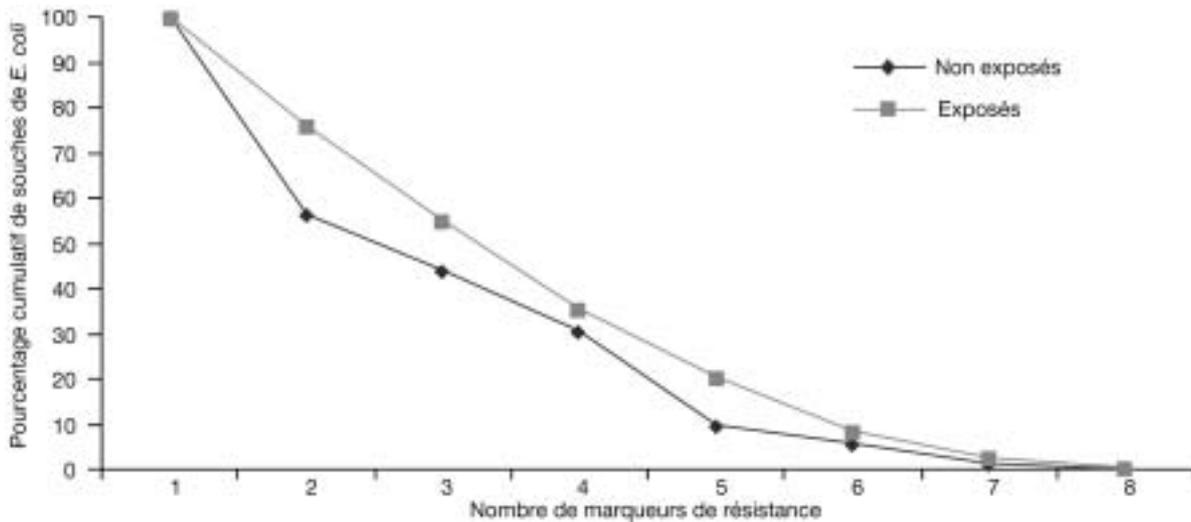
Figure 1. Pourcentage cumulatif des porteurs d'entérobactéries résistantes à au moins un antibiotique



La prévalence de la multi-résistance à la streptomycine, à l'ampicilline et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* composant la **flore dominante colique** a été estimée. Sur les 198 individus porteurs de *E. coli* dans les selles, 36 étaient porteurs d'au moins une souche résistante aux trois antibiotiques : 24 sujets exposés et 12 sujets non exposés ($R_p=1,96$; IC 95 % [1,04-3,70] ; $p=0,03$).

Les distributions des souches d' *E. coli* isolées de la flore dominante colique en fonction du nombre de marqueurs de résistance aux antibiotiques pour lesquels une résistance a été mise en évidence (ampicilline, ampicilline + acide clavulanique, cotrimoxazole, streptomycine, tétracycline, chloramphénicol, céfalotine, kanamycine, gentamicine, acide nalidixique, péfloxacin) sont présentées sur la figure 2. A partir des deux distributions observées, les deux distributions théoriques ne diffèrent pas significativement au seuil de 5 % d'après le test de Smirnov (50). Néanmoins, d'après la méthode décrite par Lester *et al.* (45), la fréquence de la résistance de *E. coli* à 5 antibiotiques, 10,3 % (48/462) pour le groupe exposé et à 3,3 % (15/455) pour le groupe non exposé, sont différentes ($p<0,01$).

Figure 2. Distribution des souches d'*E. coli* isolées de la flore dominante digestive en fonction du nombre de marqueurs de résistance aux antibiotiques testés et du caractère Exposé (E) et Non Exposé (NE) des sujets porteurs



Portage intestinal de microorganismes potentiellement pathogènes

Les isollements de *S. aureus*, de *Candida* et autres levures n'étaient pas significativement différents selon le groupe (Tableau 10). Aucune souche de *P. aeruginosa* et de *C. difficile* n'a été isolée.

Tableau 10. Comparaison de l'isolement de bactéries potentiellement pathogènes de la flore digestive des 109 sujets exposés et 109 non exposés

	Prévalence N (%)		Ratio de Prévalence	IC 95 %	p
	Sujets Exposés	Sujets Non Exposés			
Portage de					
<i>Clostridium difficile</i>	0/109	0/109	–	–	–
<i>S. aureus</i>	4/109 (3,7)	2/109 (1,8)	2,0	[0,37-10,69]	0,68
<i>C. albicans</i> et levures	19 ^a /109 (17,4)	18 ^b /109 (16,5)	1,06	[0,59 - 1,90]	1,0
<i>P. aeruginosa</i>	0/109	0/109	–	–	–

^a 1 sujet porteur de *C. albicans*, 15 porteurs de *Geotrichum sp.*, 2 porteurs de *C. glabrata* et 1 porteur de *Rhodotorula sp.*

^b 2 sujets porteurs de *C. albicans*, 14 porteurs de *Geotrichum sp.*, 2 porteurs de *S. cerevisiae*

Portage de bactéries résistantes aux antibiotiques et caractéristiques des élevages et des porchers

Les résultats des analyses complémentaires sur la distribution du portage et sur les résistances des bactéries isolées des flores des populations exposées n'ont pas permis de mettre en évidence une activité à risque pour le portage et la résistance aux antibiotiques, quels que soient l'écosystème, la bactérie et l'antibiotique (Annexe 9). L'ancienneté dans l'élevage n'influait pas non plus le taux de portage ni la prévalence de la résistance parmi les porchers.

Par contre, parmi les sujets du groupe exposé, la prévalence de la résistance de *S. aureus* à au moins un antibiotique de la famille des macrolides/lincosamides/streptogramines (MLS) (prélèvement de nez) augmentait avec le nombre de truies de l'élevage (Chi2 de tendance linéaire, $p < 0,01$) (Tableau 11). Ce résultat n'était pas observé pour les autres familles d'antibiotiques et les autres bactéries commensales isolées de la gorge et des selles.

Tableau 11. Distribution des cas de portage nasal de *S. aureus* selon leur sensibilité aux antibiotiques de la famille MLS chez les 51 sujets exposés porteurs en fonction du nombre de truies par élevage

Nombre de truies par élevage	Sujets Exposés (%)				Sujets Non Exposés (n=27)
	70 à 180	181 à 270	271 à 399	≥ 400	
Portage de <i>S. aureus</i>					
Total	15/30 (50,0)	10/27 (37,0)	11/24 (45,8)	14/17 (82,4)	27/113 (23,8)
R macrolides*	5/15 (33,3)	7/10 (70,0)	10/11 (90,9)	14/14 (100)	2/27 (7,4)

* R macrolides : résistance à au moins un antibiotique de la famille des macrolides

Discussion

Cette étude a montré que la prévalence du portage nasal, oro-pharyngé et digestif de souches commensales résistantes aux antibiotiques était significativement augmentée chez des sujets exposés aux élevages de porcs par rapport à des sujets-contrôles non exposés à ces élevages, et a permis de quantifier cette augmentation du risque de colonisation. Les porchers et non porchers ont déclaré ne pas avoir pris de traitement antibiotique pendant le mois précédant leur inclusion dans l'étude, et ceci a été confirmé, sauf pour cinq sujets, par les résultats du contrôle de qualité sur les prescriptions antibiotiques mis en place au cours de cette étude. Les résultats sont concordants avec ceux issus de plusieurs travaux retrouvant les prévalences de résistance les plus fortes chez *E. coli* (14;52;53) et entérocoques (31) dans la flore fécale des animaux d'élevages, puis de façon décroissante dans celles des éleveurs en contact direct avec les animaux, puis des travailleurs en abattoirs et enfin des populations urbaines (36;54). Toutefois, ces travaux ne quantifiaient pas cette augmentation et n'avaient pas exploré le rôle potentiel des traitements antibiotiques chez ces sujets. Les autres écosystèmes, notamment nasal et pharyngé n'avaient pas non plus été explorés.

Au niveau nasal, la prévalence du portage de *S. aureus* chez les sujets non exposés est comparable à celle retrouvée en population générale pour laquelle la prévalence du portage permanent a été estimée à 20 % (55), alors qu'elle est deux fois plus élevée chez un sujet travaillant dans une porcherie. L'hypothèse d'un taux élevé de portage nasal de *S. aureus* lié à l'exposition aux élevages est renforcée par le fait d'une augmentation de la prévalence de *S. aureus* résistants aux macrolides chez les éleveurs par rapport aux sujets non exposés et d'un risque accru et proportionnel à la taille des élevages. Les macrolides représentent toujours la 4^{ème} famille d'antibiotiques la plus vendue à usage vétérinaire, malgré l'interdiction en avril 1997 comme additifs de la tylosine, la spiramycine et de la virginiamycine (20). Peu d'informations sont disponibles concernant le portage sain de *S. aureus* chez le porc et cette espèce bactérienne est rarement responsable d'infections dans la filière porcine, *Staphylococcus hyicus* étant l'espèce responsable de dermatites (56). Les macrolides (6 molécules disponibles) utilisés en thérapeutique dans la filière porcine par voie orale essentiellement, exercent une pression de sélection sur la flore endogène des porcs mais aussi sur celle des porchers.

L'isolement de SARM dans la flore nasale chez cinq sujets exposés a conduit à rechercher une origine hospitalière parce que *S. aureus* est le deuxième germe responsable d'infections nosocomiales en 2001 en France. Le pourcentage de SARM parmi les souches de *S. aureus* isolées est de 63,6 % dans les établissements de soins français (57). Des études récentes ont montré qu'une hospitalisation antérieure constituait le facteur de risque principal d'acquisition de SARM (58) et que la durée du portage était parfois prolongée, de plus de 18 mois avec une médiane de 8 mois (59). Un contact hospitalier ou un contact avec un personnel soignant a été recherché à l'interrogatoire des cinq sujets porteurs de SARM, et une acquisition hospitalière de SARM était probable pour chacun d'eux. Ces informations complémentaires ont ainsi permis d'écartier un portage nasal à SARM d'origine communautaire en rapport avec une exposition professionnelle.

Les résultats des analyses microbiologiques des flores oro-pharyngées ont montré une composition et une répartition des bactéries commensales comparables entre les groupes, exposé et non exposé, et la population générale (46;60) (Annexe1). Il n'y avait pas de différence significative de prévalence de la résistance entre les porchers et les sujets ne travaillant pas dans les élevages, excepté pour la résistance à l'ampicilline des streptocoques non groupables. Or, ces streptocoques oro-pharyngés commensaux résistants à l'ampicilline contribuent au transfert de gènes codant la résistance aux bêta-lactamines par transformation chez le pneumocoque (61).

Au niveau digestif, le portage de bactéries commensales résistantes aux antibiotiques étaient augmentées chez les éleveurs de porcs vis-à-vis de 4 des 8 marqueurs testés sur la flore colique sous-dominante et de 4 des 9 marqueurs testés sur la flore dominante. Les ratios de prévalence de certains tests, notamment la résistance à l'acide nalidixique des entérobactéries (7,12 – IC95 % [2,20-23,0]), au chloramphénicol (2,08 – IC95 % [1,17-3,68]) sont importants et biologiquement pertinents. La résistance d'*E. coli* est voisine de celle observée chez les sujets sains dans les pays en voie de développement (45). La prévalence de la

résistance chez les entérobactéries de la flore sous-dominante est plus faible chez les non-porchers que chez d'autres populations décrites dans la littérature. Cependant, dans une des études ayant une méthodologie voisine, les sujets inclus étaient des techniciens de laboratoires connus pour être porteurs d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques (62). Quoiqu'il en soit, le caractère très soigneux de l'appariement et des critères d'inclusion et d'exclusion des sujets issus de la même population et recrutés de façon aléatoire, rend particulièrement forts les différences observées entre les deux groupes. Par ailleurs, la prise d'antibiotique dans le mois précédant l'étude était un critère d'exclusion et a été vérifié à cinq sujets près, alors qu'il n'est pas pris en compte dans d'autres études (46).

L'importance de la prévalence de la résistance à la vancomycine des entérocoques (VRE) isolés des selles (10,8 %) par rapport au moins de 5 % de portage digestif de VRE chez les adultes sains estimés par d'autres équipes (63;64) s'explique par le choix d'une technique de détection de VRE plus sensible. En effet, elle comprend une phase d'enrichissement de la flore fécale par induction dans un bouillon contenant une concentration faible de vancomycine puis une phase d'isolement sur un milieu contenant cet antibiotique. Les résultats de la prévalence de VRE dans les selles ne peuvent donc pas être strictement comparés à ceux publiés, obtenus sans phase d'enrichissement. Néanmoins, la prévalence de portage digestif de VRE n'est pas significativement plus élevée chez les porchers comparée aux sujets non exposés. Ce résultat est sans doute la conséquence de l'interdiction de l'utilisation de l'avoparcine comme facteur de croissance depuis 1997 en France (65). Depuis l'interdiction par la commission européenne de l'utilisation de l'avoparcine en élevage, une diminution significative de la prévalence de portage de VRE dans les aliments d'origine animale, dans la flore fécale des animaux de production ainsi que chez les adultes sains a été observée dans plusieurs pays européens (66). En outre, parmi les souches de VRE isolées pendant l'étude, deux souches seulement appartenaient à l'espèce *Enterococcus faecium* chez qui la résistance aux glycopeptides est acquise et dont l'émergence est favorisée par la pression de sélection par l'avoparcine. Les autres appartenaient à l'espèce *E. gallinarum* chez qui la résistance aux glycopeptides de type VanC est constitutive. En Europe, le portage digestif de ces souches VRE ayant une résistance acquise aux glycopeptides, est acquis par la consommation des aliments d'origine animale (67) et par contact avec les animaux de production (68;69). Cette évolution de la prévalence de la résistance aux glycopeptides chez les entérocoques est considérée comme très représentative du rôle de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages, dans la sélection de bactéries résistantes ainsi que dans la transmission de résistance à l'homme via l'alimentation (70).

L'augmentation du portage de bactéries résistantes aux antibiotiques chez les éleveurs par rapport aux non-porchers est probablement la conséquence du contact avec les animaux plutôt que la pression de sélection des antibiotiques utilisés dans les élevages, pour trois raisons. La première raison est la non utilisation de techniques de protection pour limiter le contact avec l'animal et ses déjections aux différents postes occupés par les porchers (maternité, post-sevrage, engraissement, gestante et quarantaine). En effet, le port de masque et de gants qui sont les pratiques usuelles d'isolement technique, sont très peu appliquées alors que ces élevages de type « naisseur-engraisseur » porcins de taille supérieure ou égale à 84 truies ont des pratiques d'élevage intensives. La deuxième raison est la faible colonisation à levures constatée chez les porchers comme les non porchers alors que la pression de sélection antibiotique est considérée comme un facteur de risque d'acquisition de levures dans la flore oro-pharyngée et digestive (71). Enfin, la dernière raison est la consommation voisine d'antibiotiques par les porchers et non porchers durant les six mois précédant l'étude, d'après le contrôle de la qualité des informations sur la consommation d'antibiotiques réalisé par la MSA. D'après ce contrôle de qualité, cinq sujets sur les 228 inclus (2,2 % d'erreur) avaient bénéficié du remboursement d'un traitement contenant un antibiotique délivré pendant le mois précédant la consultation. Ces 3 sujets non exposés et 2 sujets exposés n'ont pas été exclus de l'étude *a posteriori*, d'autant que la prescription antibiotique remontait à plus de trois semaines pour 3 d'entre eux et que les antibiotiques prescrits étaient différents de ceux pour lesquels le rapport de prévalence de résistance était significatif.

L'acquisition de bactéries résistantes aux antibiotiques par une transmission de l'animal à l'homme via l'alimentation est bien démontrée et a été considérée comme un facteur de confusion (67;72). L'appariement sur le sexe, l'âge et le canton avait pour objectif de minimiser les différences d'habitudes alimentaires entre les groupes, en l'absence d'enquête sur les habitudes alimentaires des sujets inclus. Les sujets n'ont pas été questionnés spécifiquement sur un antécédent d'hospitalisation, qui est un facteur de risque d'acquisition de bactéries résistantes aux antibiotiques (51;73). Cependant tous les sujets inclus dans l'étude étaient en bonne santé et en activité pour les porchers depuis au moins trois mois et les salariés du secteur tertiaire depuis au moins un mois.

Cette étude épidémiologique était volontairement de type exploratoire, cherchant à explorer la majorité des antibiotiques prescrits en thérapeutique dans les élevages vis-à-vis de multiples espèces présentes dans les flores commensales principales de l'homme. En dépit des multiples tests utilisés, il est admis de façon consensuelle de ne pas faire la correction de Bonferroni qui s'applique en présence de nombreux

tests statistiques dans les situations cliniques randomisées où la démarche est davantage « confirmatoire » afin d'assurer un risque global de première espèce de 5 % (51;74). Dans ces situations ouvertes, il est donc recommandé par plusieurs auteurs de ne pas ajuster pour les comparaisons (75;76). De plus, ces résultats sont biologiquement pertinents et aucun marqueur de résistance n'a été trouvé plus important chez les non porchers.

Il y a des limites à la signification des résultats trouvés dans cette étude qui peuvent tenir à la méthodologie choisie d'une part, et à la population d'étude d'autre part. Une étude transversale ne permet pas de démontrer les liens de causalité. Des prélèvements microbiologiques « avant-après » auraient permis de démontrer que l'exposition professionnelle précédait l'acquisition d'une flore commensale résistante aux antibiotiques. Ils n'ont pas pu être réalisés dans le cadre de la visite annuelle organisée par la médecine du travail de la MSA. Cependant, l'association observée indique que l'exposition professionnelle dans les élevages est un facteur de risque de colonisation d'espèces commensales résistantes aux antibiotiques.

L'utilisation minimale des mesures de protection par les porchers a probablement augmenté ce risque. Cependant, le schéma de l'étude n'a pas permis de déterminer l'influence des conditions et des circonstances d'exposition sur la prévalence de la résistance aux antibiotiques de la flore commensale. En effet, les critères de sélection des élevages ont favorisé l'inclusion dans l'étude de porchers exerçant des activités multiples (contact avec le fumier, préparation des aliments...). La taille de l'échantillon calculée compte tenu de l'objectif principal, était alors insuffisante pour identifier, dans les porcheries, d'éventuelles activités à risque de colonisation par des bactéries résistantes. D'autres études seraient nécessaires pour préciser les facteurs d'exposition et pour confirmer notamment l'association entre la taille des élevages et la résistance du *S. aureus* aux antibiotiques de la famille des macrolides, lincomycine et streptogramine. Une étude prospective considérant les contacts avec les animaux d'élevage d'une part (employés des abattoirs) et les activités en relation avec la manipulation des antibiotiques d'autre part (employés d'une usine de fabrication d'aliments vétérinaires contenant des antibiotiques, par exemple) permettrait de comprendre les mécanismes de transmission de la résistance.

L'acquisition de la résistance aux antibiotiques des bactéries commensales des écosystèmes, nasal, oropharyngé et digestif de plusieurs sujets contribue à la dissémination de l'antibiorésistance dans la population. Le risque collectif existe et il a été démontré notamment par des études microbiologiques *in vitro* que les streptocoques commensaux sont les réservoirs de gènes de résistance aux bêta-lactamines (gènes mosaïques de PLP modifiées) pour les pneumocoques (61). Les conséquences sur le plan individuel de l'acquisition d'une flore commensale résistante aux antibiotiques sont moins bien connues. Plusieurs études ont montré que le remplacement des flores sensibles aux antibiotiques par des flores résistantes au sein des espèces commensales, notamment les populations de *E. coli* (77) et les entérocoques intestinaux (78), mais aussi les streptocoques pharyngés (79), n'affectait pas immédiatement l'état de santé des porteurs. La prévalence du portage de ces espèces commensales n'était pas modifiée chez les porchers et les salariés du secteur tertiaire et comparable à celle rapportée pour la population générale (Annexe 1).

Au total, ces résultats démontrent que le travail dans les élevages de porcs est un facteur de risque de portage de bactéries commensales résistantes aux antibiotiques au sein des trois principaux écosystèmes de l'homme par rapport à la population non exposée, avec des risques relatifs compris entre 1,4 IC 95 % [1,1-1,8] pour les entérobactéries résistantes à la streptomycine de la flore digestive et 9,8 IC 95 % [2,6-37,3] pour les souches de *S. aureus* résistantes aux macrolides de la flore nasale. En revanche, il n'a pas été mis en évidence d'augmentation significative de la prévalence du portage de VRE, ni de bactéries pathogènes.

Dans la mesure où il n'existe pas d'élevages « sans antibiotique », il est nécessaire d'évaluer l'impact de ce portage de bactéries résistantes aux antibiotiques sur la santé des éleveurs et, le cas échéant, de déterminer les conditions environnementales et les circonstances d'exposition dans les élevages liées aux pratiques les plus à risque d'acquérir cette résistance, afin de pouvoir proposer des mesures de prévention.

Références

- (1) Lelievre H, Lina G, Jones ME, Olive C, Forey F, Roussel-Delvallez M et al. Emergence and spread in French hospitals of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with increasing susceptibility to gentamicin and other antibiotics. *J Clin Microbiol* 1999; 37(11):3452-3457.
- (2) Fremaux A, Sissia G, Geslin P. Le point sur la résistance des pneumocoques en France (1987-1997) : impact sur l'antibiothérapie des infections à pneumocoques. *Antibiotiques* 1999; 1:93-97.
- (3) Manges AR, Johnson JR, Foxman B, O'Bryan TT, Fullerton KE, Riley LW. Widespread distribution of urinary tract infections caused by a multidrug-resistant *Escherichia coli* clonal group. *N Engl J Med* 2001; 345(14):1007-1013.
- (4) McDonald LC, Kuehnert MJ, Tenover FC, Jarvis WR. Vancomycin-resistant enterococci outside the health-care setting: prevalence, sources, and public health implications. *Emerg Infect Dis* 1997; 3(3):311-317.
- (5) Megraud F. Les infections à *Campylobacter* en France (1986-1997). *Bull Epidemiol Ann* 1999; 2:83-84.
- (6) Uttley AH, Collins CH, Naidoo J, George RC. Vancomycin-resistant enterococci. *Lancet* 1988; 1(8575-6):57-58.
- (7) *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin-USA,2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002; 51(26):565-567.
- (8) Davies J. Inactivation of antibiotics and the dissemination of resistance genes. *Science* 1994; 264(5157):375-382.
- (9) Andremont A, Corpet DE, Courvalin P. La résistance des bactéries aux antibiotiques. *Pour la Science* 1997; 232:66-73.
- (10) Tancrede CH, Andremont AO. Bacterial translocation and gram-negative bacteremia in patients with hematological malignancies. *J Infect Dis* 1985; 152(1):99-103.
- (11) Endtz HP, Ruijs GJ, van Klingeren B, Jansen WH, van der RT, Mouton RP. Quinolone resistance in campylobacter isolated from man and poultry following the introduction of fluoroquinolones in veterinary medicine. *J Antimicrob Chemother* 1991; 27(2):199-208.
- (12) Levy SB, FitzGerald GB, Macone AB. Changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of a tetracycline-supplemented feed on a farm. *N Engl J Med* 1976; 295(11):583-588.
- (13) Welton LA, Thal LA, Perri MB, Donabedian S, McMahon J, Chow JW et al. Antimicrobial resistance in enterococci isolated from Turkey flocks fed virginiamycin. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(3):705-708.
- (14) Marshall B, Petrowski D, Levy SB. Inter- and intraspecies spread of *Escherichia coli* in a farm environment in the absence of antibiotic usage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(17):6609-6613.
- (15) Corpet DE, Lumeau S, Corpet F. Minimum antibiotic levels for selecting a resistance plasmid in a gnotobiotic animal model. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33(4):535-540.
- (16) Moore PR, Evenson A, Luckey TD, McCoy E, Elvehjem CA, Hart EB. Use of sulfasuxidine, streptothricin, and streptomycin in nutritional studies with the chick. *J Biol Chem* 1946; 165:437-441.
- (17) Morehouse NF, Mayfield OJ. The effect of some aryl arsonic acids on experimental coccidiosis infection in chickens. *J Parasitol* 1946; 32:20-24.
- (18) Martel JL, Chaslus-Dancla E. [Antibiotic use in animal breeding]. *Rev Prat* 2001; 51(1):9-12.
- (19) Perrin-Guyomard A, Cottin S, Corpet DE, Boisseau J, Poul JM. Evaluation of residual and therapeutic doses of tetracycline in the human-flora-associated (HFA) mice model. *Regul Toxicol Pharmacol* 2001; 34(2):125-136.
- (20) Moulin G. Surveillance of antimicrobial consumption : activities in France (Agence Nationale du Médicament Vétérinaire). 2nd International Conference of the Office International des Epizooties. 2 Oct 2001; Paris.

- (21) Bories G, Louisot P. Rapport concernant l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance en alimentation animale. 1998.
- (22) Swann MM. Report of joint committee on the use antibiotics in animal husbandary and veterinary medicine. 1969. London, Her Majesty's Stationery Office.
- (23) Courvalin P. The antibiotic food-chain gang. Clin Microbiol Infect 2001; 7(3):169.
- (24) Guillemot D, Carbon C, Balkau B, Geslin P, Lecoœur H, Vauzelle-Kervroedan F et al. Low dosage and long treatment duration of beta-lactam: risk factors for carriage of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae*. JAMA 1998; 279(5):365-370.
- (25) Corpet DE. Antibiotic residues and drug resistance in human intestinal flora. Antimicrob Agents Chemother 1987; 31(4):587-593.
- (26) Doucet-Populaire F, Trieu-Cuot P, Dosbaa I, Andremont A, Courvalin P. Inducible transfer of conjugative transposon Tn1545 from *Enterococcus faecalis* to *Listeria monocytogenes* in the digestive tracts of gnotobiotic mice. Antimicrob Agents Chemother 1991; 35(1):185-187.
- (27) Courvalin P. Will avilamycin convert ziracine into zerocine? Emerg Infect Dis 2000; 6(5):558.
- (28) Espié E, Aubry-Damon H, De Valk H, Vaillant V, Haeghebaert S, Bouvet P et al. Salmonellose collective : les enjeux de la déclaration immédiate. Rev Prat Med Gén 2002; 16(577):873-876.
- (29) Holmberg SD, Wells JG, Cohen ML. Animal-to-man transmission of antimicrobial-resistant Salmonella: investigations of U.S. outbreaks, 1971-1983. Science 1984; 225(4664):833-835.
- (30) Bates J. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection. J Hosp Infect 1997; 37(2):89-101.
- (31) Stobberingh E, van den BA, London N, Driessen C, Top J, Willems R. Enterococci with glycopeptide resistance in turkeys, turkey farmers, turkey slaughterers, and (sub)urban residents in the south of The Netherlands: evidence for transmission of vancomycin resistance from animals to humans? Antimicrob Agents Chemother 1999; 43(9):2215-2221.
- (32) Molbak K, Baggesen DL, Aarestrup FM, Ebbesen JM, Engberg J, Frydendahl K et al. An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype typhimurium DT104. N Engl J Med 1999; 341(19):1420-1425.
- (33) Cuenot M, Fouratier V, Loiseau B, Vial C. Problèmes posés par l'utilisation des antibiotiques en élevage pour la santé humaine. Institut national d'agronomie de Paris-Grignon, 2002.
- (34) Piddock LJ. Does the use of antimicrobial agents in veterinary medicine and animal husbandry select antibiotic-resistant bacteria that infect man and compromise antimicrobial chemotherapy? J Antimicrob Chemother 1996; 38(1):1-3.
- (35) Van den Bogaard AE, Mertens P, London NH, Stobberingh EE. High prevalence of colonization with vancomycin – and pristinamycin – resistant enterococci in healthy humans and pigs in The Netherlands: is the addition of antibiotics to animal feeds to blame? J Antimicrob Chemother 1997; 40(3):454-456.
- (36) Van den Bogaard AE, Jensen LB, Stobberingh EE. Vancomycin-resistant enterococci in turkeys and farmers. N Engl J Med 1997; 337(21):1558-1559.
- (37) Levy SB, FitzGerald GB, Macone AB. Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. Nature 1976; 260(5546):40-42.
- (38) Doucet-Populaire F, Trieu-Cuot P, Andremont A, Courvalin P. Conjugal transfer of plasmid DNA from *Enterococcus faecalis* to *Escherichia coli* in digestive tracts of gnotobiotic mice. Antimicrob Agents Chemother 1992; 36(2):502-504.
- (39) Anderson JD, Gillespie WA, Richmond MH. Chemotherapy and antibiotic-resistance transfer between Enterobacteria in the human gastro-intestinal tract. J Med Microbiol 1973; 6(4):461-473.
- (40) Lafont J-P. Utilisation des antibiotiques chez les animaux d'élevage et sélection de bactéries antibiorésistantes. Conférence internationale sur la résistance aux substances antimicrobiennes. Bruxelles : 1999.
- (41) Comité de l'Antibiogramme de la Société française de microbiologie. Communiqué 2003. Société française de microbiologie. 2001. <http://www.sfm.asso.fr>.
- (42) Roger M, Faucher MC, Forest P, St Antoine P, Coutlee F. Evaluation of a vanA-specific PCR assay for detection of vancomycin- resistant *Enterococcus faecium* during a hospital outbreak. J Clin Microbiol 1999; 37(10):3348-3349.
- (43) Satake S, Clark N, Rimland D, Nolte FS, Tenover FC. Detection of vancomycin-resistant enterococci in fecal samples by PCR. J Clin Microbiol 1997; 35(9):2325-2330.

- (44) Scanvic-Hameg A, Chachaty E, Rey J, Pousson C, Ozoux ML, Brunel E et al. Impact of quinupristin/dalfopristin (RP59500) on the faecal microflora in healthy volunteers. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(1):135-139.
- (45) Lester SC, del Pilar PM, Wang F, Perez S, I, Jiang H, O'Brien TF. The carriage of *Escherichia coli* resistant to antimicrobial agents by healthy children in Boston, in Caracas, Venezuela, and in Qin Pu, China. *N Engl J Med* 1990; 323(5):285-289.
- (46) Chachaty E, Youssef MT, Bourneix C, Andreumont A. Shedding of antibiotic-resistant members of the family Enterobacteriaceae in healthy residents of France and Jordan. *Res Microbiol* 1995; 146(2):175-182.
- (47) Rothman KJ. *Modern Epidemiology*. Boston: 1986:275-279.
- (48) Hennekens CH, Buring JE. In: Brown and company, editor. *Epidemiology in Medecine*. Boston: Little, 1987:77-96.
- (49) Armitage P. Tests for linear trends in proportions and frequencies. *Biometrics* 1955; 11:375-386.
- (50) Smirnov NV. Estimate of deviation between empirical distribution functions in two independent samples. *Bulletin Moscow University* 1939; 2:3-16.
- (51) Bellon O, Cavallo JD, Roussel-Delvallez M, Péan Y, Weber Ph. ONERBA : un aperçu de la résistance bactérienne hors de l'hôpital. *La lettre de l'infectiologue* 2000; XV(4):158-166.
- (52) Nijsten R, London N, van den BA, Stobberingh E. Resistance in faecal *Escherichia coli* isolated from pigfarmers and abattoir workers. *Epidemiol Infect* 1994; 113(1):45-52.
- (53) Nijsten R, London N, van den BA, Stobberingh E. Antibiotic resistance among *Escherichia coli* isolated from faecal samples of pig farmers and pigs. *J Antimicrob Chemother* 1996; 37(6):1131-1140.
- (54) van den Bogaard AE, Willems R, London N, Top J, Stobberingh EE. Antibiotic resistance of faecal enterococci in poultry, poultry farmers and poultry slaughterers. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49(3):497-505.
- (55) Kluytmans JA, Mouton JW, Ijzerman EP, Vandembroucke-Grauls CM, Maat AW, Wagenvoort JH et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as a major risk factor for wound infections after cardiac surgery. *J Infect Dis* 1995; 171(1):216-219.
- (56) Martel J-L. Resistant bacteria and their impact on therapy in veterinary medicine. 2nd International Conference of the Office International des Epizoosties on Antimicrobial Resistance. Oct 2001; Paris.
- (57) Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Enquête de prévalence nationale 2001 : résultats. Octobre 2003. Saint-Maurice, Institut de veille sanitaire.
- (58) Warshawsky B, Hussain Z, Gregson DB, Alder R, Austin M, Bruckschwaiger D et al. Hospital- and community-based surveillance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: previous hospitalization is the major risk factor. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000; 21(11):724-727.
- (59) Sanford MD, Widmer AF, Bale MJ, Jones RN, Wenzel RP. Efficient detection and long-term persistence of the carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis* 1994;19(6): 1123-1128.
- (60) Begovac J, Bobinac E, Benic B, Desnica B, Maretic T, Basnec A et al. Asymptomatic pharyngeal carriage of beta-haemolytic streptococci and streptococcal pharyngitis among patients at an urban hospital in Croatia. *Eur J Epidemiol* 1993; 9(4):405-410.
- (61) Maiden MC. Horizontal genetic exchange, evolution, and spread of antibiotic resistance in bacteria. *Clin Infect Dis* 1998; 27 Suppl 1:S12-S20.
- (62) Levy SB, Marshall B, Schluederberg S, Rowse D, Davis J. High frequency of antimicrobial resistance in human fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32(12):1801-1806.
- (63) Taylor ME, Oppenheim BA, Chadwick PR, Weston D, Palepou MF, Woodford N et al. Detection of glycopeptide-resistant enterococci in routine diagnostic faeces specimens. *J Hosp Infect* 1999; 43(1):25-32.
- (64) Boisivon A, Thibault M, Leclercq R. Colonization by vancomycin-resistant enterococci of the intestinal tract of patients in intensive care units from French general hospitals. *Clin Microbiol Infect* 1997; 3(2):175-179.
- (65) Agriculture Committee calls for a ban on antibiotic growth promoters. *Vet Rec* 1998; 142(19):498-500.
- (66) Klare I, Heier H, Claus H, Bohme G, Marin S, Seltmann G et al. *Enterococcus faecium* strains with vanA-mediated high-level glycopeptide resistance isolated from animal foodstuffs and fecal samples of humans in the community. *Microb Drug Resist* 1995; 1(3):265-272.

- (67) Perrier-Gros Claude JD, Courrier PL, Breard JM, Vignot JL, Masseront T, Garin D et al. Entérocoques résistants aux glycopeptides dans les viandes. *Bull Epidemiol Hebd* 1998; (12):50-51.
- (68) Descheemaeker PR, Chapelle S, Devriese LA, Butaye P, Vandamme P, Goossens H. Comparison of glycopeptide-resistant *Enterococcus faecium* isolates and glycopeptide resistance genes of human and animal origins. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43(8):2032-2037.
- (69) Wegener HC, Aarestrup FM, Jensen LB, Hammerum AM, Bager F. Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium* resistance to therapeutic antimicrobial drugs in Europe. *Emerg Infect Dis* 1999; 5(3):329-335.
- (70) Bager F, Aarestrup FM, Madsen M, Wegener HC. Glycopeptide resistance in *Enterococcus faecium* from broilers and pigs following discontinued use of avoparcin. *Microb Drug Resist* 1999; 5(1):53-56.
- (71) Crémieux AC, Muller-Serieys C, Panhard X, Delatour F, Tchimichkian M, Mentre F et al. Emergence of Resistance in Normal Human Commensal Flora during Telithromycin and Amoxicillin/Clavulanic Acid Treatments. *Antimicrob Agents Chemother* 2003.
- (72) Corpet DE. Antibiotic resistance from food. *N Engl J Med* 1988; 318(18):1206-1207.
- (73) De Mouy D, Cavallo JD, Armengaud M, Arzouni JP, Berges JL, Bouilloux JP et al. [Urinary tract infection in an urban population: etiology and antibiotic sensitivity as a function of patient history]. *Presse Med* 1999; 28(30):1624-1628.
- (74) Miller RG. Simultaneous statistical inference. In: Springer Verlag, editor. 1981:6-8.
- (75) Rothman KJ. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1990; 1(1):43-46.
- (76) Savitz DA, Olshan AF. Multiple comparisons and related issues in the interpretation of epidemiologic data. *Am J Epidemiol* 1995; 142(9):904-908.
- (77) Murray BE, Rensimer ER, DuPont HL. Emergence of high-level trimethoprim resistance in fecal *Escherichia coli* during oral administration of trimethoprim or trimethoprim – sulfamethoxazole. *N Engl J Med* 1982; 306(3):130-135.
- (78) Tancrede C, Andremont A, Guerlin N. [Effect of erythromycin on the populations of enterobacteria in the human digestive tract]. *Nouv Presse Med* 1980; 9(37):2742-2743.
- (79) Muller-Seryes C, Delatour F, Lemaitre F, Poirire I, Panhard X, Tchimichkian F et al. Effects of oral telithromycin versus amoxicillin-clavulanic acid on the intestinal, skin and oropharyngeal microflora of healthy volunteers. *Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, editor. 2001.
- (80) Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(3):505-520.
- (81) Reverdy ME, Roure C. Les antistaphylococciques en 1995 : état actuel de la sensibilité de *Staphylococcus aureus*. *Lettre de l'infectiologue* 1995 ; 10:362-371.
- (82) Cohen R, Varon E, Olivier C, De La Rocque F, Geslin P. Virulence, transmission, portage et histoire naturelle du pneumocoque. In: Carbon C, Chastang C, Decazes JM, editors. Deuxième réunion interface SPILF/Inserm : infections à pneumocoques de sensibilité diminuée aux bêta-lactamines. Paris : Springer Verlag, 1993:1-14.
- (83) Geslin P. Rapport d'activité 1997. Centre national de référence des Pneumocoques. 1997.
- (84) Turk DC. Clinical importance of *Haemophilus influenzae* – 1981. In: Sell SH, Wright PF, editors. *Haemophilus influenzae*, epidemiology, immunology and prevention of disease. New-York: Elsevier, 1982:3-9.
- (85) Dabernat H, Delmas C. Activité du Centre national de référence pour *Haemophilus influenzae*, bilan 1994-1995. Les débuts de l'après vaccination. *Med Mal Infect* 1996; 26:698-703.
- (86) Kleinegger CL, Lockhart SR, Vargas K, Soll DR. Frequency, intensity, species, and strains of oral *Candida* vary as a function of host age. *J Clin Microbiol* 1996; 34(9):2246-2254.
- (87) Sedgley CM, Samaranayake LP. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. *J Oral Pathol Med* 1994; 23(3):104-113.
- (88) Andremont A, Sancho-Garnier H, Tancrede C. Epidemiology of intestinal colonization by members of the family Enterobacteriaceae highly resistant to erythromycin in a hematology – oncology unit. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 29(6):1104-1107.

Annexe 1. Données disponibles sur la prévalence du portage de microorganismes chez l'adulte sain

Microorganismes	Site d'isolement	Prévalence (%)	Références
<i>Staphylococcus aureus</i> dont 16 % R* à l'érythromycine	nez	20-40	(80;81)
Pneumocoques	oro-pharynx	5-10	(82;83)
<i>Haemophilus influenzae</i> dont 20 à 35 % R* à l'amoxicilline	oro-pharynx	10-50	(84;85)
<i>Candida sp</i>	oro-pharynx	10-50	(86)
Entérobactéries	oro-pharynx	<10	(87)
Entérobactéries résistantes à : - gentamicine	fèces	5	(46;88)

R : résistant

Annexe 2. Calcul de la puissance de l'étude selon les différentes variables

Microorganisme	Prévalence		Différence entre les prévalences	Rapport de prévalence	Taille échantillon	Rapport exposés / non exposés	Puissance (%)	Niveau conf. (%)
	Non exposés (%)	Exposés (%)						
Résistance entérocoque	2	12	10	6	125	1/1	81,5	95
	3	13	10	4,33	125	1/1	76,5	
					134	1/1	80,0	
		14	11	4,67	125	1/2	89,0	
<i>E. coli</i>	5	15	10	3	125	1/1	67,8	95
					160	1/1	80,0	
		17	12	3,4	125	1/2	82,2	
	10	20	10	2	125	1/1	80,9	
					219	1/1	52,8	
		24	14	2,4	125	1/4	75,6	
		25	15	2,5	125	1/1	79,7	
		60	10	1,2	125	1/1	30,6	95
					408	1/1	80,0	
		69	19	1,38	125	1/4	48,2	
ampicilline	60	70	10	1,17	125	1/1	83,7	
					376	1/1	34,0	
		78	18	1,3	125	1/1	80,0	
					125	1/4	51,2	
		90	10	1,13	125	1/1	84,1	
					219	1/1	56,9	95
					125	1/4	80,0	
		93	13	1,16	125	1/1	70,3	
		94	14	1,18	125	1/1	79,1	
		35	10	1,4	125	1/1	90,0	
Portage digestif <i>P. aeruginosa</i> <i>S. aureus</i> <i>C. albicans</i>	5	15	10	3	349	1/1	35,2	95
					125	1/4	80,0	
		17	12	3,4	125	1/1	55,3	
					125	1/1	82,3	
<i>Clostridium difficile</i>	0(1)	11	10	11	125	1/1	67,8	95
	3	13	10	4,33	125	1/1	80,0	
					134	1/2	82,2	
		14	11	4,67	125	1/1	80,9	
				125	1/1	86,8	95	
				125	1/1	76,5		
				134	1/1	80,0		
				125	2/1	89,0		
				125	1/1	82,8		

Annexe 3. Lettre de consentement

Impact de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de porcs sur la résistance aux antibiotiques des bactéries colonisant l'homme

A remplir par l'enquêteur (le médecin)

N° Identifiant du Patient [N° enquêteur, N° ordre patient] :
Nom de l'élevage ou de l'entreprise :
Raison sociale :
Adresse :

Le Docteur (Nom et Prénom du médecin du travail) m'a proposé de participer à une enquête sur « **l'impact de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de porcs sur la résistance aux antibiotiques des bactéries colonisant l'homme** »
Le médecin m'a précisé que je suis libre d'accepter ou de refuser de participer à cette étude. Cela ne changera pas nos relations pour mon suivi.

Afin d'éclairer ma décision, j'ai bien compris les informations suivantes qui m'ont été données par écrit et oralement :
« Pour mesurer l'impact de l'utilisation des antibiotiques dans les élevages de porcs sur la résistance aux antibiotiques des bactéries colonisant l'homme, la MSA et ses partenaires font une étude de prévalence comparant les bactéries de la gorge et du tube digestif de personnes qui comme moi, soit travaillent dans des élevages de porcs, soit n'ont pas de contact avec les élevages mais vivent dans des régions d'élevages.
Cette étude se fera par trois types de prélèvements : nez, gorge et selles.
Le jour de la visite médicale, il me sera demandé simplement d'apporter le pot de coproculture contenant les selles, de remplir un questionnaire et d'accepter d'avoir un prélèvement de gorge et de nez comme ceux que l'on réalise en cas d'angine.
Il n'y a aucun traitement, aucune prise de sang, aucune autre consultation ultérieure à avoir.
Le médecin de la MSA me tiendra au courant des résultats »

Cette enquête a reçu l'**avis favorable** du Comité consultatif de protection des personnes participant à une recherche biomédicale de Créteil – Henri Mondor le **11 juillet 2000** et elle est co-financée par l'Inserm qui est l'organisme national pour la recherche biomédicale.

Le promoteur de cette étude, la CAISSE CENTRALE DE LA MUTUALITÉ SOCIALE AGRICOLE a contracté une assurance responsabilité civile chez GROUPAMA ASSURANCES sous le contrat N°438375G001 conformément à la loi du 20 décembre 1988 modifiée (Livre II bis du code de la Santé Publique).

J'accepte que les données indirectement nominatives me concernant, recueillies à l'occasion de cette recherche puissent faire l'objet d'un traitement automatisé par les organisateurs de cette étude (cette étude a fait l'objet d'une demande d'autorisation à la Cnil).

Le droit d'accès et de rectification prévu par la loi « Informatique et Liberté » (loi du 6 janvier 1978 modifiée le 1^{er} juillet 1994 – article 40-4) s'exerce à tout moment auprès des responsables de l'étude. Pour toutes les informations de nature médicale, j'exercerai ce droit par l'intermédiaire d'un médecin de mon choix.

Les données recueillies demeureront strictement confidentielles. Je n'autorise leur consultation que par l'équipe médicale, les personnes dûment mandatées par le promoteur de la recherche et éventuellement par des représentants des autorités administratives de santé, tous soumis au secret professionnel (article 40-3 même loi).

Je pourrai à tout moment demander toute information complémentaire au Dr
J'ACCEPTÉ LIBREMENT ET VOLONTAIREMENT DE PARTICIPER A CETTE ÉTUDE DANS LES CONDITIONS DECRITES CI-DESSUS.

Mon consentement ne décharge en rien l'investigateur et le promoteur de l'ensemble de leurs responsabilités et je conserve tous mes droits garantis par la loi.

Je suis conscient(e) que je peux retirer mon consentement à tout moment, quelles que soient mes raisons. Le fait de ne plus participer à cette enquête ne portera pas atteinte à mes relations avec le médecin du travail consultant et ne me privera pas de mes droits.

Je garde un exemplaire de la feuille d'information que m'a envoyée le Dr et du présent consentement.

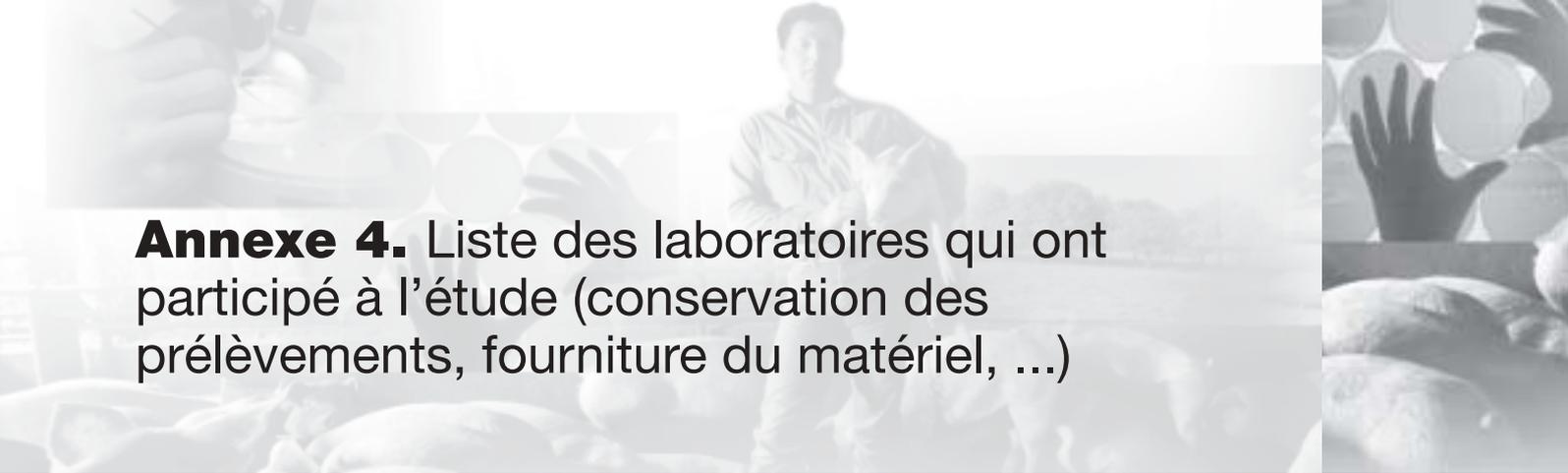
Fait à, le / / 2000
(Nom, prénom de la personne donnant le consentement)

Signature :

Je soussigné Dr certifie que M.....

a donné ce jour son consentement éclairé, libre et révocable à la recherche nommée ci-dessus.

Signature



Annexe 4. Liste des laboratoires qui ont participé à l'étude (conservation des prélèvements, fourniture du matériel, ...)

- Yonne : Entreprise CECNA 89 400-CHARMOY
- Côtes-d'Armor et l'Ille-et-Vilaine : Laboratoire d'analyses médicales Saint-Georges-35 000 RENNES
- Finistère : Laboratoire GLASGOW-29 200 BREST
- Maine-et-Loire : Coopérative agricole, Département élevage et insémination artificielle-49 800 TRELAZE
- Morbihan : Centre hospitalier Bretagne Atlantique (hôpital Chubert)-56 000 VANNES
- Vendée : Laboratoire d'analyses médicales des Drs Allaire de Gastines-85 000 LA ROCHE SUR YON

Annexe 5. Questionnaire pour les sujets exposés

Enquête sur la résistance aux antibiotiques

Pré-questionnaire personne exposée

Personne exposée SALARIE ou EXPLOITANT dans un élevage conventionnel PORCIN

Nom de l'enquêteur :

Tél : Canton de la consultation :

N° de l'Enquêteur

• Identification

N° Identifiant du patient [N°enquêteur, N° Ordre patient]

N° de pair

Date de la consultation

Age : ans Sexe : **H** **F**

• Critères d'exclusion

Questions à poser par le médecin pendant la consultation

Exercez-vous votre activité professionnelle exclusivement dans le secteur « porc » ? **Oui** – **Non**

Date d'arrivée dans l'entreprise : **mois – année**

Ceci est un critère d'exclusion si le délai d'activité dans l'entreprise est < 3 mois

Exercez-vous sans contact avec les animaux ? **Oui** – **Non**

Avez vous suivi un traitement antibiotique, > 24 H, le mois dernier **Oui** – **Non**

Avez-vous de la fièvre ou des maux de gorge ? **Oui** – **Non**

• Observation

« Selles prenant la forme du récipient qui les contient » : **Oui** – **Non**

En l'absence de critère d'exclusion, poursuivre l'interrogatoire

• Activité professionnelle pour les 3 derniers mois

Préparation et distribution d'aliments : Tous les Jours Parfois Rarement Jamais

Si oui, de quelle façon préparez-vous les aliments ? Automatique Manuelle Mixte

Contact avec le lisier ? : Tous les Jours Parfois Rarement Jamais

Lavage des sols : **Oui** – **Non**

Destockage : **Oui** – **Non**

Epannage : **Oui** – **Non**

Autre : **Oui** – **Non**

• Lieu de travail le mois dernier

Maternité : **Oui** – **Non**

Post-sevrage : **Oui** – **Non**

Engraissement : **Oui** – **Non**

Gestantes : **Oui** – **Non**

Quarantaine : **Oui** – **Non**

• Antibiotiques

Administrez vous vous-même des antibiotiques ? **Oui** – **Non**

si oui, sous quelle forme ? injectable poudre incorporée poudre soluble poudre sèche

• Protection individuelle (cocher la bonne réponse au choix)

Utilisez-vous une cotte spécifique dans l'élevage ? **Oui** – **Non**

Pendant la préparation des aliments

Utilisez-vous un masque ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Utilisez-vous des gants ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Pendant la distribution des aliments

Utilisez-vous un masque ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Utilisez-vous des gants ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Pendant la manipulation du lisier

Utilisez-vous un masque ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Utilisez-vous des gants ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Pendant l'administration des antibiotiques

Utilisez-vous un masque ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Utilisez-vous des gants ? Jamais Rarement Parfois Toujours

Questionnaire identification et caractérisation des élevages

• Identification

A compléter par le médecin

Elevage – Raison sociale :

Adresse :

Eleveur – Nom :

Téléphone : Fax :

TVA : Groupement :

Numéro Identifiant du patient [n° enquêteur – n° Ordre patient]

• Caractérisation

A compléter par la MSA

Taille

Nombre de truies présentes

Type

Conventionnel : **Oui** – **Non**

Certifié : **Oui** – **Non**

Labellisé : **Oui** – **Non**

Biologique : **Oui** – **Non**

Plein-air : **Oui** – **Non**

Semi plein-air : **Oui** – **Non**

Bâtiments clos : **Oui** – **Non**

Annexe 6. Questionnaire sur l'acquisition des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline

Nom du Médecin Département Tel :

Code identifiant..... Age du sujet..... Sexe F M

Date de la consultation

(enquête MSA, FNCBV, Inserm, InVS)

Site d'isolement du *S. aureus* résistant à la méticilline

Antécédents du sujet

Voir les définitions en fin de questionnaire

1. Antécédent d'hospitalisation dans une structure hospitalière ou une collectivité médicalisée

Dans le mois précédant la consultation (date ci-dessous)

Structure hospitalière Oui Non Ne sait pas

Collectivité médicalisée Oui Non Ne sait pas

Dans les 12 derniers mois

Structure hospitalière Oui Non Ne sait pas

Collectivité médicalisée Oui Non Ne sait pas

Dans l'année précédant les 12 derniers mois

Structure hospitalière Oui Non Ne sait pas

Collectivité médicalisée Oui Non Ne sait pas

Durée totale estimée du séjour durant ces deux ans <1 mois 1 à 6 mois >6 mois

Si oui à l'une des questions du §1, fin du questionnaire
--

2. Hospitalisation à domicile (HAD) et assimilée (Santé Service,..)

Dans le mois précédent Oui Non Ne sait pas

Dans les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas

Dans l'année précédant les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas

Durée totale estimée pendant ces 2 ans <1 mois 1 à 6 mois >6 mois

3. Soins infirmiers à domicile, kinésithérapie (hors HAD)

Dans le mois précédent Oui Non Ne sait pas

Dans les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas

Dans l'année précédant les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas

Durée totale estimée pendant ces 2 ans <1 mois 1 à 6 mois >6 mois

*Ce questionnaire est issu d'un protocole d'enquête de l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (11/03/1998)

4. Consultations dans une structure hospitalière ou dans une collectivité médicalisée

- Dans le mois précédent Oui Non Ne sait pas
 Dans les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas
 Dans l'année précédant les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas

Nombre total de consultations durant ces 2 ans <5 5 à 10 >10

5. Consultations au cabinet médical ou visites médicales à domicile

- Dans le mois précédent Oui Non Ne sait pas
 Dans les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas
 Dans l'année précédant les 12 derniers mois Oui Non Ne sait pas

Nombre total de consultations durant ces 2 ans <5 5 à 10 >10

6. Maladie chronique

- Cutanée (eczéma,...) Oui Non Ne sait pas
 Cardio-respiratoire Oui Non Ne sait pas
 Insuffisance rénale Oui Non Ne sait pas
 ORL Oui Non Ne sait pas
 Diabète Oui Non Ne sait pas
 Neurologique Oui Non Ne sait pas
 Autre (préciser)

7. Matériel étranger ou appareillage

- Sondage urinaire à demeure Oui Non Ne sait pas
 Sondages urinaires itératifs Oui Non Ne sait pas
 Chambre implantable Oui Non Ne sait pas
 Anus artificiel Oui Non Ne sait pas
 Uretères à la peau Oui Non Ne sait pas
 Autre (préciser)

8. Prise en charge 100 % par la Sécurité Sociale Oui Non Ne sait pas

9. Activité extra-professionnelle du sujet :

Lien avec l'hôpital Oui Non Ne sait pas

Si oui, préciser :

Lien avec le corps médical ou paramédical Oui Non Ne sait pas

Si oui, préciser :

Si réponses négatives aux questions des § 2 à 9 concernant les antécédents du sujet interrogé, **le questionnaire porte sur les personnes partageant le même foyer que le sujet et représentant ses contacts à domicile** : page 3

Si réponses négatives aux questions des § 2 à 9 concernant les antécédents du sujet interrogé, le questionnaire porte sur les personnes partageant le même foyer que le sujet et représentant ses contacts à domicile :

- Contact 1** Conjoint
Contact 2 Famille ascendant ou descendant ou ami
Contact 3 Famille ascendant ou descendant ou ami
Contact 4 Famille ascendant ou descendant ou ami

	Contact 1	Contact 2	Contact 3	Contact 4
10. Antécédents d'hospitalisation (structure hospitalière ou collectivité médicalisée) des contacts				
Dans le mois précédant la consultation (date p.1)
Dans les 12 derniers mois
Dans l'année précédant les 12 derniers mois

Si oui à l'une des questions du §10, fin du questionnaire

11. Hospitalisation à domicile et assimilée (Santé Service,..) des contacts				
Dans le mois précédent
Dans les 12 derniers mois
Dans l'année précédant les 12 derniers mois

12. Soins à domicile (hors HAD) des contacts				
Dans le mois précédent
Dans les 12 derniers mois
Dans l'année précédant les 12 derniers mois

Si oui à l'une des questions des §11 ou 12, fin du questionnaire

13. Maladies chroniques				
Cutanée (eczéma,...)
Cardio-respiratoire
Insuffisance rénale
ORL
Diabète
Neurologique
Autre (préciser)

14. Matériel étranger				
Sondage urinaire à demeure
Sondage urinaire itératif
Chambre implantable
Anus artificiel
Uretères à la peau
Autre (préciser)

15. Profession ou activité des contacts

Lien avec l'hôpital précisez
Lien avec le corps médical ou paramédical précisez

Définitions

Structure hospitalière : Hôpital ou clinique
Précisez le type de service : Médecine
Chirurgie
Soins intensifs
Gynécologie obstétrique
Pédiatrie
Autre (précisez)
Collectivité médicalisée : Centre de rééducation, réadaptation
Maison de retraite médicalisée
Autre (précisez)
Hospitalisation : Admission dans une structure hospitalière ou dans une collectivité médicalisée, quelle que soit la durée du séjour
Consultation : A l'hôpital ou en cabinet de ville d'un médecin, d'une infirmière, d'un kinésithérapeute... (ou de tout autre membre d'une profession médicale ou paramédicale)

LOI N° 78-17 DU 6 JANVIER 1978

Relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés

Article 27

Les personnes auprès desquelles sont recueillies des informations nominatives doivent être informées :

- du caractère obligatoire ou facultatif des réponses ;
- des conséquences à leur égard d'un défaut de réponse ;
- des personnes physiques ou morales destinataires des informations ;
- de l'existence d'un droit d'accès et de rectification.

Annexe 7. Résistance aux antibiotiques des entérobactéries dans les prélèvements de selles

Milieu avec streptomycine

	nombre de colonies							Total
	0	[1-5[[5-10[[10-15[[15-25[[25-100[≥100	
Exposés	34	9	12	17	12	17	2	103
Non exposés	52	12	7	10	11	6	2	100
Total	86	21	19	27	23	23	4	203

Rp = 1,40 [1,09-1,78] ; p<0,01
 Comparaison de moyenne : p<0,04

Milieu avec tétracycline

	nombre de colonies							Total
	0	[1-5[[5-10[[10-15[[15-25[[25-100[≥100	
Exposés	30	10	14	11	13	21	4	103
Non exposés	57	12	6	10	8	5	2	100
Total	87	22	20	21	21	26	6	203

Rp = 1,65 [1,27-2,13] ; p<0,01
 Comparaison de moyenne : p<0,01

Milieu avec acide nalidixique

	nombre de colonies							Total
	0	[1-5[[5-10[[10-15[[15-25[[25-100[≥100	
Exposés	81	4	8	2	4	4	0	103
Non exposés	97	1	0	1	0	1	0	100
Total	178	5	8	3	4	5	0	203

Rp = 7,12 [2,20 – 23,0] ; p<0,01
 Comparaison de moyenne : p=0,02

Milieu avec chloramphénicol

	nombre de colonies							Total
	0	[1-5[[5-10[[10-15[[15-25[[25-100[≥100	
Exposés	73	11	7	7	4	1	0	103
Non exposés	86	2	5	1	3	3	0	100
Total	159	13	12	8	7	4	0	203

Rp = 2,08 [1,17-3,68] ; p<0,01
 Comparaison de moyenne p=0,99

Annexe 8. Identification des entérobactéries isolées de la flore dominante digestive des sujets exposés et non exposés

Espèces bactériennes	N. d'isolats			%
	parmi exposés	parmi non exposés	Total	
<i>E coli</i>	462	455	917	92
<i>E. coli</i> H2S+	2	–	2	< 1
<i>H. alvei</i>	27	21	53	5
<i>C. freundii</i>	2	9	11	1
<i>K. oxytoca</i>	3	2	5	< 1
<i>K. pneumoniae</i>	5	0	5	< 1
<i>C. diversus</i>	0	3	3	< 1
<i>C. braakii</i>	0	1	1	< 1
<i>E. cloacae</i>	1	0	1	< 1
autres	0	2	2	< 1
Total	502	493	995	100

(5 colonies choisies au hasard parmi celles isolées du prélèvement de selles sur milieu de culture sans antibiotique)

Annexe 9. Isolement et résistance aux antibiotiques des bactéries commensales de la population exposée selon le type d'activité dans l'élevage

Activité A. Préparation des aliments

Exposition / Activité A	Manuelle-mixte	Automatique	Rp	IC 95 %	p
Prévalence du portage nasal de S. aureus	36/78	14/34	1,12	0,70-1,79	0,63
Résistance aux macrolides	24/36	12/14	0,78	0,57-1,07	0,32
Prévalence du portage digestif d' entérocoques	53/77	18/32	1,22	0,87-1,72	0,21
Résistance à la vancomycine	4/53	2/18	0,68	0,14-3,40	0,98
Prévalence du portage digestif d' entérobactéries	74/77	29/32	1,06	0,94-1,20	0,50
Résistance à					
• ampicilline	48/74	20/29	0,94	0,70-1,26	0,69
• streptomycine	49/74	20/29	0,96	0,72-1,29	0,79
• gentamicine	9/74	1/29	3,53	0,47-26,61	0,33
• tétracycline	51/74	22/29	0,91	0,70-1,17	0,49
• chloramphénicol	20/74	10/29	0,78	0,42-1,47	0,45
• acide nalidixique	16/74	6/29	1,05	0,45-2,41	0,91

Activité B. Contact avec le lisier

Exposition / Activité B	Tous les jours – souvent	Rarement – jamais	Rp	IC 95 %	p
Prévalence du portage nasal de S. aureus	34/86	16/26	0,64	0,43-0,96	0,05
Résistance aux macrolides	25/34	11/16	1,07	0,73-1,58	0,72
Prévalence du portage digestif d' entérocoques	54/84	17/25	0,95	0,69-1,29	0,73
Résistance à la vancomycine	5/54	1/17	1,57	0,20-12,56	0,95

Notes

Notes

Notes

Notes

Notes