



Maisons-Alfort, le 12 octobre 2016

AVIS
de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation,
de l'environnement et du travail

relatif à la saisine n 2016-SA-0160 concernant l'utilisation de la colistine en médecine vétérinaire

L'Anses met en œuvre une expertise scientifique indépendante et pluraliste.

L'Anses contribue principalement à assurer la sécurité sanitaire dans les domaines de l'environnement, du travail et de l'alimentation et à évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter.

Elle contribue également à assurer d'une part la protection de la santé et du bien-être des animaux et de la santé des végétaux et d'autre part à l'évaluation des propriétés nutritionnelles des aliments.

Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui scientifique technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque (article L.1313-1 du code de la santé publique).

Ses avis sont publiés sur son site internet.

L'Anses s'est autosaisie le 19 juillet 2016 afin de mettre en œuvre une expertise sur l'utilisation de la colistine en médecine vétérinaire.

1. CONTEXTE ET OBJET DE LA SAISINE

Le présent avis est une actualisation de l'avis n°2015-SA-0118 sur l'évaluation de risque lié à l'usage de la colistine en médecine vétérinaire et la catégorisation de la colistine sur la liste des antibiotiques d'importance critiques (AIC) en médecine vétérinaire. Les éléments scientifiques récemment identifiés sur la résistance bactérienne à la colistine, notamment la découverte du premier mécanisme de résistance transférable à la colistine (*mcr-1* puis *mcr-2*), doivent être pris en compte pour cette nouvelle analyse de risque. Dans ce contexte, les agences européennes ont récemment publié une réévaluation du profil de risque de la colistine. Ainsi, le centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC) a publié le 13 juin 2016 un rapport sur la résistance plasmidique à la colistine chez les Enterobacteriaceae et l'Agence Européenne du Médicament (EMA) a réuni de nouveau le groupe d'experts ad hoc sur l'antibiorésistance (AMEG) afin de réviser l'avis publié en 2013 relatif à l'usage et la catégorisation de la colistine en médecine vétérinaire dont le rapport public a été publié le 27 juillet 2016. L'Anses, dans le présent avis, prend en compte, l'ensemble des nouveaux éléments scientifiques et réglementaires, notamment la publication du décret n°2016-317 du 16 mars 2016 encadrant la prescription et la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique afin de réévaluer le risque lié à l'usage de la colistine en médecine vétérinaire et de statuer sur la potentielle catégorisation de la colistine sur la liste des AIC.

2. ORGANISATION DE L'EXPERTISE

L'Anses a réalisé l'expertise de la saisine en interne et a soumis l'avis à relecture d'experts. Des experts des laboratoires de l'Anses de Lyon, Ploufragan et Fougères ont été sollicités pour la relecture ainsi que quatre experts externes (vétérinaire praticien et professeur d'école vétérinaire). L'avis de l'ANSM a aussi été sollicité et est intégré dans son intégralité en annexe de ce présent rapport.

3. RESUME DU PRECEDENT AVIS DE L'ANSES N°2015-SA-0118

Lors de son précédent avis n°2015-SA-0118 du 23 septembre 2015, au vu des connaissances disponibles, l'ANSES ne recommandait pas de placer la colistine sur la liste des AIC notamment sur la base:

- Du très faible taux de résistance en médecine vétérinaire malgré un large usage depuis des décennies ;
- De l'absence de mécanisme de résistance à la colistine transférable entre bactéries.

L'avis de l'Anses était cohérent avec celui de l'AMEG qui avait classé la colistine en catégorie 1, catégorie pour laquelle le risque est estimé faible ou limité. Cette classification est en lien notamment avec un niveau faible de résistance, à l'absence de résistance plasmidique et à une résistance considérée comme labile. Ainsi, en 2015, le rapport bénéfice/risque concernant l'usage de la colistine en médecine vétérinaire était positif et l'Anses ne recommandait pas l'inscription de la colistine sur la liste des AIC mais recommandait un suivi de l'usage et de la résistance à la colistine pour détecter toutes évolutions susceptibles de modifier ce ratio.

4. ACTUALISATION DES DONNEES SCIENTIFIQUES A PRENDRE EN COMPTE

4.1. Classification 2016 de la colistine en médecine humaine par l'ANSM

En février 2016, l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM) a publié la liste réactualisée des antibiotiques critiques initialement éditée en décembre 2013. Dans cette nouvelle liste, la colistine injectable est maintenue comme antibiotique de dernier recours en médecine humaine.

4.2. Identification d'un nouveau mécanisme de résistance à la colistine

4.2.1. Découverte du gène de résistance *mcr-1*

Le 18 novembre 2015, le premier mécanisme de résistance à la colistine transférable a été décrit en Chine chez des souches bactériennes isolées à partir de porcs et de viandes de porcs et de volailles ainsi qu'en plus faible proportion chez des souches cliniques isolées chez des patients hospitalisés (Liu *et al.*, 2015). Ce nouveau mécanisme de résistance fait intervenir un gène nommé *mcr-1* codant une enzyme de type phosphoéthanolamine transférase modifiant la charge du lipide A. Les polymyxines (dont la colistine) interagissent avec la partie anionique du lipide A du lipopolysaccharide (LPS) de la membrane externe des bactéries à Gram négatif et sont transférées vers la membrane cytoplasmique perturbant par la suite la perméabilité membranaire bactérienne. La modification de la charge du lipide

A réduit donc l'affinité de la colistine avec le LPS. Non seulement, il s'agit d'un nouveau mécanisme acquis de résistance, mais surtout, le gène *mcr-1* est présent sur un plasmide transférable dans d'autres souches d'*Escherichia coli* ainsi que dans des souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans cet article, la présence du gène sur des isolats datant de 2011 à 2014 a permis d'estimer une prévalence en Chine du gène *mcr-1* de l'ordre de 15% chez des *E. coli* isolées de viande fraîche de porc ou de poulet (78/523), 21% chez des *E. coli* isolées d'animaux (porcs, 166/804) et 1% de *E. coli* isolées de patients humains avec infections (16/1322).

4.2.2. Epidémiologie du gène de résistance *mcr-1*

La publication de la séquence génétique du gène *mcr-1* a conduit plusieurs instituts à rechercher la présence de ce gène dans les collections bactériennes à l'échelle mondiale.

Chez des souches d'origines animales, l'analyse rétrospective a révélé l'existence de ce gène dans des isolats datant des années 1980 en Chine. Cependant, malgré la circulation du gène depuis des années, la prévalence du gène *mcr-1* dans toutes les collections bactériennes est particulièrement faible, sauf en Chine (cf ci-dessus) et au sein des souches d'*E. coli* résistantes aux céphalosporines de dernière génération chez le veau en France, où ce taux atteint 21%. A ce jour, en Europe le gène *mcr-1* a été détecté dans des souches bactériennes d'*E. coli* et/ou *Salmonella enterica*, par de nombreux laboratoires de références européens (Danemark, Royaume-Uni, France ...).

Chez les isolats d'origine humaine, la résistance à la colistine a augmenté dans certains pays de l'Union Européenne (notamment en Grèce et en Italie) (AMEG/EMA/231573/2016). La présence du gène *mcr-1* a ainsi aujourd'hui été confirmée dans des isolats humains à l'échelle européenne, et notamment en France en juillet 2016. Ce constat est d'importance notamment au vu de l'intérêt croissant de la médecine humaine pour la colistine comme traitement de dernier recours, ce qui conduit à une augmentation de la pression de sélection dans les hôpitaux européens.

Le gène *mcr-1* a été identifié sur des plasmides similaires ayant des origines différentes (animaux de rente, aliment, homme, environnement) pouvant indiquer une transmission possible entre ces différents compartiments. D'après le rapport de l'AMEG, la prévalence, nettement plus élevée chez les isolats d'origine animale, associée à l'usage beaucoup plus important de la colistine en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine, ainsi que la découverte du gène *mcr-1* dans l'environnement suggèrent une possible transmission de l'animal à l'homme. Le gène *mcr-1* est présent chez des souches cliniques issues de colibacilloses vétérinaires et chez des souches pathogènes invasives en médecine humaine.

D'après les données actuellement disponibles, la prévalence de la résistance à la colistine chez les animaux reste, sauf exception, faible au sein de l'Union Européenne autant dans les aliments que dans les isolats vétérinaires, tout comme en médecine humaine où la prévalence du gène chez des isolats cliniques est inférieure à 1%.

4.2.3. Découverte du gène de résistance *mcr-2*

Dernièrement, en juin 2016, une équipe de chercheurs belges a identifié un nouveau plasmide portant un gène de résistance à la colistine chez des isolats porcins et bovins d'*E. coli* résistants à colistine mais ne contenant pas le gène *mcr-1* (Xavier *et al.*, 2016).

Le nouveau gène ainsi identifié présente 76,7% d'identité nucléotidique avec le gène *mcr-1* et est nommé *mcr-2*. Ce gène a été trouvé sur un plasmide similaire à *mcr-1* présentant une

Dose) pour 1000 habitants par jour (DDJ/1000hab/J) est approximativement de 0,008 depuis 2010 (Tableau 1).

Par conséquent, en médecine humaine la colistine est un antibiotique peu utilisé en comparaison avec d'autres molécules mais est l'un des derniers antibiotiques de recours pour les infections nosocomiales dues à des entérobactéries résistantes.

Tableau 1 : Evolution de l'utilisation de polymyxines dans les pays de l'UE/EEE, 2010-2014 (exprimé en DDD pour 1 000 habitants et par jour). (ECDC, ESAC-Net, novembre 2015).

Country	2010	2011	2012	2013	2014	Trends in consumption of polymyxins, 2010–2014	Average annual change 2010–2014	Statistical significance
Finland (b)	0	0	0	0	0			n.a.
Lithuania (a)			0	0	0			n.a.
Norway	0.0002	0.0004	0.0006	0.0006	0.0006		<0.001	significant
Poland (a)					0.001			n.a.
Latvia	0	0	0.003	0.002	0.001		<0.001	n.s.
Sweden	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001		<0.001	n.s.
Netherlands	0.006	0.003	0.002	0.003	0.002		-0,001	n.s.
Bulgaria	0	0	0	0	0.002		<0.001	n.s.
Estonia	<0.001	<0.001	0.002	0	0.002		<0.001	n.s.
Denmark	0.002	0.002	0.002	0.001	0.003		<0.001	n.s.
Luxembourg	0.005	0.005	0.005	0.006	0.003		<0.001	n.s.
Slovenia	0.001	0.002	0.003	0.003	0.005		0.001	n.s.
United Kingdom (a)(d)				0.005	0.006			n.a.
Hungary	0.002	0.004	0.005	0.006	0.007		0.001	significant
France	0.008	0.008	0.008	0.008	0.008		<0.001	n.s.
Malta	0.026	0.004	0.002	0.006	0.011		0.003	n.s.
EU/EEA	0.008	0.011	0.014	0.012	0.012		<0.001	n.s.
Ireland	0.014	0.014	0.015	0.015	0.013		<0.001	n.s.
Portugal (c)	0.013	0.018	0.019	0.020	0.019		0.001	n.s.
Croatia	0.055	0.010	0.029	0.003	0.019		0.008	n.s.
Slovakia (a)			0.020	0.023	0.025			n.a.
Italy	0.012	0.011	0.019	0.023	0.025		0.004	significant
Greece (a)		0.078	0.085	0.084	0.095			n.a.
Belgium	0.008	0.009	0.006	0.008				n.a.

4.1.2. En médecine vétérinaire

La colistine est utilisée régulièrement en médecine vétérinaire depuis des décennies, à la fois comme traitement curatif et préventif. La colistine est principalement utilisée chez des animaux jeunes. Les indications majeures pour l'usage de la colistine sont les infections causées par les entérobactéries chez les porcs, les lapins, les volailles, les bovins, les ovins et les caprins. La colistine est aussi utilisée chez les poules pondeuses et les ruminants producteurs de lait destinés à la consommation humaine (EMA/755938/2012 ; EMA/381884/2014). L'antibiotique est principalement indiqué pour les infections gastro-intestinales à germe Gram négatif en administration par voie orale mais aussi lors d'infections systémiques, respiratoires ou uro-génitales chez la volaille. Des associations de colistine avec d'autres antimicrobiens sont disponibles pour le traitement de groupes chez les animaux de rente dans certains pays européens (dont la France). Des médicaments pour usage parentéral et intramammaire sont aussi disponibles sur le marché. La Polymyxine B fait partie des substances essentielles pour le traitement des équidés notamment en cas d'endotoxémie systémique associée à des coliques sévères ou autres troubles gastro-intestinaux. Chez les animaux de compagnie, des gouttes ophtalmiques et auriculaires à base de colistine sont aussi disponibles (EMA/755938/2012).

En Europe, la colistine est utilisée depuis les années 1950, surtout en filière porcine en prévention de la diarrhée causée par *E. coli* et *Salmonella* spp (EMA/755938/2012 ; EMA/381884/2014). Dans les 26 pays de l'Union Européenne pour lesquels les données de ventes sont disponibles pour l'année 2012, les Polymyxines étaient le 5ème groupe d'antimicrobiens le plus vendu (7%), après les tétracyclines (37%), les pénicillines (22%), les sulfamides (10%), et macrolides (8 %) (ESVAC, 2014).

Au niveau européen, on constate une forte disparité dans l'usage de la colistine en médecine vétérinaire entre les pays membres de l'Union Européenne. La variabilité dans l'usage de la colistine s'étend de pays non utilisateurs, comme la Finlande, la Norvège ou l'Islande, à des pays fortement utilisateurs, comme le Portugal, l'Italie, l'Estonie ou encore l'Allemagne. Ces fortes différences dans l'usage peuvent en partie s'expliquer par l'importance relative des filières animales, notamment celles utilisatrices de colistine et par l'existence ou non de traitements alternatifs autorisés pouvant se substituer à la colistine. Ainsi, parmi les pays européens les plus utilisateurs de colistine on retrouve les pays présentant des filières, notamment en production de viande porcine et avicole, les plus importantes (Tableau 2).

Certains pays ayant de faibles utilisations de colistine présentent tout de même d'importantes filières de production de viandes porcine et/ou avicole, comme par exemple le Danemark, les Pays-Bas ou encore le Royaume-Uni (Tableau 2). Cette différence dans l'usage de la colistine peut aussi s'expliquer par l'existence d'une autorisation de mise sur le marché pour l'usage de l'oxyde de zinc en tant que médicament vétérinaire. En effet, l'oxyde de zinc en tant que médicament vétérinaire est indiqué pour la prévention des diarrhées modérées chez les porcelets. Par conséquent, l'usage d'oxyde de zinc peut contribuer, dans certains cas, à la diminution de l'usage de la colistine. Toutefois, on constate que certains pays fortement utilisateurs de colistine sont aussi fortement utilisateurs d'oxyde de zinc en tant que médicament vétérinaire. Certains pays soulignent que cette alternative ne suffit pas à réduire ou arrêter l'usage de la colistine dans les filières animales. C'est par exemple le cas en Belgique, où le rapport sur la surveillance de l'usage des antimicrobiens stipule que la réduction de l'usage de la colistine n'est pas celle escomptée car non proportionnelle à l'augmentation de l'usage de l'oxyde de zinc, pouvant témoigner d'un usage concomitant des deux produits (BelVetSac, 2014).

De plus, l'oxyde de zinc présente des risques non négligeables d'un point de vue environnemental (contamination définitive des sols avec un risque accru pour les sols acides) et aussi de sélection de la résistance aux antibiotiques (co-localisation du gène de résistance au zinc sur la cassette de résistance à la méthicilline chez le *Staphylocoque doré*) (Anses, 2013, saisine n° « 2012-SA-0067 »).

A la suite de cette saisine, la France a initié avec les Pays-Bas en octobre 2014 une procédure d'arbitrage communautaire selon l'article 33 de la Directive 2001/82/CE concernant la spécialité « GUTAL® 1000g/kg, prémélange pour aliments médicamenteux pour porcelets », contenant 100 % de substance active « oxyde de zinc ». GUTAL® est indiqué dans la prévention des diarrhées de post sevrage du porcelet, à raison de 2500 ppm de zinc dans l'aliment (3100 ppm d'oxyde de zinc) pendant 14 jours consécutifs. En effet, la France considère qu'en raison de la nature intrinsèque du zinc (substance accumulable, et non biodégradable), l'épandage régulier de lisier provenant d'animaux traités avec des doses élevées d'oxyde de zinc, constitue une préoccupation environnementale significative,

particulièrement pour les types de sol les plus vulnérables (sols acides, sols sablonneux, sols perméables) et pour le compartiment aquatique.

Dans son avis formulé le 6 mai 2015, le comité des médicaments à usage vétérinaire (CVMP « Committee for Medicinal Products for Veterinary Use ») de l'Agence européenne des médicaments (EMA), confirme que l'accumulation de zinc dans l'environnement représente un risque sérieux et rejoint en cela les conclusions de l'Agence européenne de la sécurité de l'alimentation (EFSA). Il recommande donc que des mesures de gestion de risque soient mises en œuvre pour limiter les risques pour l'environnement.

Le comité européen reconnaît que ces mesures de gestion du risque présentent des insuffisances et que leur efficacité à réduire le risque environnemental ne peut être entièrement quantifiée. 10 membres du comité européen ont émis un avis divergent soulignant l'impraticabilité et l'inefficacité des mesures de gestion proposées. La décision communautaire a finalement été adoptée à la majorité des voix, et l'Anses-ANMV a délivré, le 15 janvier 2016 (<http://www.ircp.anmv.anses.fr>) cette AMM conformément à la décision d'exécution de la Commission Européenne.

Le 1er Février 2016, la France a initié avec les Pays-Bas une procédure d'arbitrage communautaire, toujours en cours, selon l'article 35 de la Directive 2001/82/CE concernant les prémélanges médicamenteux à base d'oxyde de zinc enregistrés dans l'Union Européenne en raison de risques sérieux pour l'environnement et de sélection de l'antibiorésistance. Cette procédure permettra une évaluation complète de la balance bénéfico-risque de ces médicaments vétérinaires au sein de l'Union.

Des vaccins ont été récemment approuvés pour réduire chez les porcelets sevrés l'incidence de la diarrhée de post-sevrage due à *E. coli*. De nombreuses autres alternatives aux antibiotiques sont à l'étude pour contrôler les colibacilloses du sevrage et, même si certaines sont prometteuses, leur utilisation suppose préalablement une validation scientifique de leur efficacité. Cependant, il est probable que ces alternatives ne seront pas suffisantes en cas d'infection par des souches très pathogènes.

Avis de l'Anses
Saisine n° «2016-SA-0160 »

Tableau 2 : Tendances de la consommation de polypeptides dans les pays de l'UE/EEE , 2011-2013 (exprimé en mg/PCU).

Pays	Polypeptides* (mg/PCU)			Viandes de volailles** (x1000 tonnes)	Viandes porcines** (x1000 tonnes)	Oxyde de zinc*** autorisé avant 2013 Oui / Non
	2011	2012	2013			
Italie	30,32	30,01	27,45	1294,96	1485,83	O
Espagne	26,19	25,41	21,56	1443,26	3895,85	O
Portugal	7,90	18,54	18,91	308,69	377,46	O
Allemagne	14,81	14,75	14,69	1511,00	5562	N
Hongrie	8,85	7,86	9,90	478,71	409,3	O
Chypre	8,15	7,93	8,52	23,78	43,4	O
France	7,85	6,60	5,89	1718,00	1967,61	N
Estonie	4,03	4,37	5,16	-	42,41	N
Belgique	5,43	5,80	4,70	425,94	1124,31	O
Pologne	4,20	3,97	4,38	2011,04	1906,11	O
Luxembourg	N.D	1,74	3,11	0,00	12,29	N
Bulgarie	3,13	3,76	2,67	101,25	60,68	N
Lettonie	0,98	2,55	1,55	29,52	29,33	N
Slovaquie	1,23	2,12	1,13	-	45,24	O
République Tchèque	0,58	0,88	1,07	151,41	227,74	O
Autriche	0,98	0,66	0,92	-	527,77	N
Pays-Bas	1,59	0,97	0,63	-	1456,22	N
Danemark	0,17	0,26	0,22	134,40	1598,7	O
Royaume-Uni	0,15	0,07	0,12	1688,84	898,33	O
Lithuanie	1,41	1,30	0,11	95,79	66,17	N
Suède	0,12	0,09	0,10	145,78	233,5	N
Irlande	0,10	0,12	0,06	128,02	276,4	O
Slovénie	0,13	0,07	0,04	58,76	20,23	N
Finlande	0,00	0,00	0,00	117,31	191,93	N
Islande	0,00	0,00	0,00	8,40	6,8	N
Norvège	0,00	0,00	0,00	-	-	N

* : données adaptées du rapport ESVAC - 2015

: mg/PCU = mg/Population Correction Unit

** : données adaptées du site EUROSTAT - 2015

*** : données adaptées de la saisine ANSES sur l'usage du zinc en médecine vétérinaire - 2013

En France, la répartition des ventes d'antibiotiques en pourcentage pour l'année 2013, exprimées en Animal Course Dose par kilogramme (ACDkg), qui représente la dose nécessaire pour traiter un kilogramme de poids vif sur la durée totale du traitement, révèle que les animaux sont traités principalement avec des Tétracyclines (28,33%), des Polypeptides (colistine) (21,40%), des Pénicillines (19,37%), des Macrolides (10,73%) puis des Aminoglycosides (9,01%) et des Sulfamides (8,43%). Concernant les pré-mélanges médicamenteux, en 2013, la famille des Tétracyclines représente plus de 30% du poids vif traité et la famille des Polypeptides autour de 25% du poids vif traité toutes espèces animales confondues. Plus de 36% du poids vif est traité par des poudres ou des solutions orales avec des Tétracyclines et près de 33% avec des Polypeptides (Anses-ANMV, 2014). Les données de ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques exprimées en tonnage de principe actif en France montrent, pour l'année 2015, que le tonnage atteint pour la famille des polypeptides toutes espèces confondues est de 30,6 tonnes. L'analyse du tonnage estimé par espèce animale révèle que les filières les plus utilisatrices de polypeptides (essentiellement la colistine) sont les filières porcine, volaille et bovine qui représentent environ 50%, 30% et 10% du tonnage total de polypeptides, respectivement (Anses-ANMV). Depuis 2009, une réduction de plus de 50% du tonnage toutes espèces confondues est ainsi enregistrée pour la famille des polypeptides (en 2009 : 66,4 tonnes toutes espèces confondues). Par filière animale, cela correspond à une réduction du tonnage de polypeptides entre 2009 et 2015, en filière volaille, bovine et porcine équivalente à 50%, 46% et 39%, respectivement.

Les données présentées dans la figure 2 révèlent qu'après une tendance à l'augmentation, on constate globalement une forte réduction de l'exposition et donc de l'usage de la colistine dans les filières animales en France. Cette tendance à la baisse débute en 2010, avec l'exception de l'année 2014 marquée par la promulgation au 1^{er} janvier 2015 de la Loi d'Avenir pour l'Agriculture, l'Alimentation et la Forêt (voir Anses-ANMV, 2015). Ainsi on observe une réduction de 40% pour la filière porcine, de 43% pour la filière bovine et de 55% pour la filière volaille dans l'indicateur d'exposition entre 2010 et 2014. Globalement, toutes espèces animales, confondues on constate une réduction de l'ordre de 48% dans l'indicateur d'exposition entre 2010 et 2015.

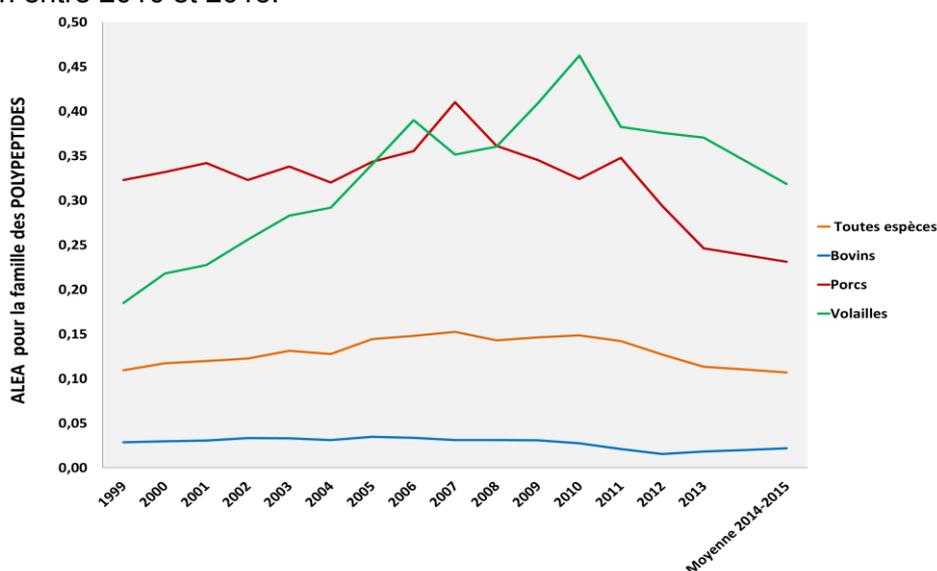


Figure 2 : Evolution en France de l'indicateur d'exposition aux polypeptides par filière animales (Source Anses-ANMV)

La colistine est donc un antibiotique indiquée en médecine vétérinaire pour le traitement des infections gastro-intestinales et représente, notamment en filières porcine et volaille, un des antibiotiques les plus utilisés. De plus, on constate au cours des 5 dernières années une forte baisse de l'usage de la colistine dans ces filières avec notamment en 2014-2015 une exposition pour la filière porcine la plus faible enregistrée depuis 1999.

4.2. Surveillance européenne de la résistance en médecine humaine et vétérinaire

4.2.1. Surveillance de la résistance chez les bactéries zoonotiques et commensales

L'année 2014 constituait le début de la surveillance européenne de la résistance à la colistine chez les souches de *Salmonella* et d'*E. coli* issues de la filière animale et concernait essentiellement les volailles (ECDC/EFSA, 2015). Les données sur la résistance aux antimicrobiens chez les bactéries zoonotiques et indicatrices en 2014, présentées par les états membres de l'UE, ont été analysées conjointement par l'EFSA et l'ECDC. Ces résultats permettent ainsi de définir un seuil basal, notamment dans la filière volaille, afin d'identifier dans le futur toute augmentation ou diminution de la résistance. A noter que l'occurrence de la résistance à la colistine ne peut pas être directement corrélée à la prévalence du gène *mcr-1* car il n'est pas le seul mécanisme conférant une résistance à la colistine (Olaitan *et al.*, 2014).

- **Résistance à la colistine chez des bactéries zoonotiques**

- **Chez l'Homme**

Seulement trois pays ont également testé les antimicrobiens optionnels azithromycine, colistine et/ou tigécycline. Concernant la colistine, la détermination de la sensibilité ne pouvait être testée que par les quelques laboratoires utilisant des méthodes de dilution puisqu'en raison de sa mauvaise diffusion dans l'agar, aucune méthode de diffusion en milieu gélosé ne fournit d'interprétation fiable pour la colistine. Chez les souches de *Salmonella spp*, la résistance à la colistine a été détectée dans les deux pays ayant testé cet antimicrobien, avec une occurrence allant de 5,9% (Danemark) à 21,5 % (Pays-Bas) des isolats (ECDC/EFSA, 2015). Selon le rapport de l'ECDC/EFSA, la résistance à la colistine, pour des souches d'origine humaine, est relativement commune pour *S. Enteritidis* notamment due à une résistance intrinsèque naturelle de ce sérovar (68% de résistance au sein des souches de *S. Enteritidis*). En effet, des niveaux plus élevés de résistance à la colistine ont été observés pour *S. Enteritidis* que pour d'autres sérotypes de *Salmonella*. Cette observation a déjà été faite (Agersø *et al.*, 2012) et reflète les différences intrinsèques probables dans la sensibilité de certains sérotypes de *Salmonella*.

- **Chez l'animal**

Les souches de *Salmonella* résistantes à la colistine ont été isolées dans plusieurs états membres chez des poulets de chair, des poules pondeuses et des dindes en engraissement (viandes et animaux). L'occurrence moyenne, au niveau européen, de la résistance à la colistine est de 8.3% des isolats de *Salmonella spp*. issus de poulets de chair et 10,5% des isolats de *Salmonella spp*. issus de poules pondeuses. Cependant 72 à 80% des isolats de *Salmonella spp*. appartiennent au sérovar *Enteritidis* présentant une résistance intrinsèque naturelle à la colistine expliquant une occurrence de la résistance élevée (Tableau 3).

- **Résistance à la colistine chez des bactéries indicatrices**

La résistance à la colistine chez des souches indicatrices d'*E. coli* a été trouvée dans plusieurs états membres chez des poulets de chair et des dindes en engraissement. L'occurrence moyenne au niveau européen de la résistance à la colistine a été observée chez 0,9% des isolats d'*E. coli* issus de poulets de chair et 7,4% des isolats d'*E. coli* issus de dindes (Tableau 3).

Selon le rapport de l'ECDC/EFSA, la résistance à la colistine est fréquemment détectée chez les souches de *S. Enteritidis* à la fois chez des isolats humains et vétérinaires (filière volaille). Il est suggéré que ce fort taux de résistance est dû à une forme de « résistance intrinsèque » de ces souches. Chez les souches d'*E. coli* indicatrices, la prévalence de la résistance au niveau européen est relativement faible en filière poulet de chair (0,9%) et plus élevée en filière dinde (7,4%). Par conséquent, les états membres sont encouragés à poursuivre la surveillance de la résistance à la colistine pour détecter toute augmentation de la résistance.

4.2.2. Surveillance de la résistance chez les *Enterobacteriaceae* pathogènes

La surveillance de la résistance aux antimicrobiens chez les bacilles à Gram négatif à l'origine d'infections en santé humaine dans l'Union Européenne est fondée sur les phénotypes de résistance bactérienne chez les isolats cliniques invasifs pour certaines espèces, y compris *E. coli* et *K. pneumoniae*, mais ne contrôle pas la fréquence des mécanismes de résistance.

Le réseau européen de surveillance de la résistance aux antimicrobiens (EARS-Net) recueille des données sur la base de tests de routine de sensibilité aux antimicrobiens. La disponibilité des résultats de sensibilité pour les agents antimicrobiens spécifiques dépend des protocoles d'essais nationaux et n'entre pas spécifiquement dans un plan de surveillance de la santé publique. Ainsi certains pays, où on note une faible prévalence de la résistance à la colistine, n'intègrent pas la colistine systématiquement dans les tests de sensibilité. La résistance à la colistine augmente chez les entérobactéries productrices de carbapénémase en Europe (ECDC, 2015). Par exemple, en Italie, 43 % des *K. pneumoniae* productrices de carbapénémase collectées au cours d'une période de six mois à partir de novembre 2013 à avril 2014 et 13% des *K. pneumoniae* résistants aux carbapénèmes isolées de bactériémies en 2014 étaient également résistants à la colistine. En Roumanie et en Grèce, environ 20% des souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes isolées de bactériémies en 2014 chez l'homme étaient résistantes à la colistine. Cette récente augmentation de la résistance à la colistine suit la tendance à la hausse de l'utilisation de colistine en médecine humaine en Europe. La résistance à la colistine est notamment la plus élevée dans les pays où les taux de prévalence de la résistance aux carbapénèmes et la multi-résistance des bacilles à Gram négatifs sont élevés (ECDC, 2015).

Avis de l'Anses
Saisine n° «2016-SA-0160 »

Tableau 3 : Occurrence de la résistance à la colistine au sein des bactéries zoonotiques et indicatrices en Europe et en France. (ECDC/EFSA, 2015).

Origine	Espèces bactériennes	Filière animale	Nombre d'états membres participant à la collecte des données	Moyenne en Europe		En France	
				N	%RES (min - max)	N	%RES
Bactéries zoonotiques							
Viande	<i>Salmonella</i> spp*	poulets de chairs	11	672	5,5 (0 - 14)	169	2,4
		dindes en engraissement	3	226	29,6 (0 - 38,7)	173	38,7
Animal	<i>Salmonella</i> spp*	poulets de chairs	22	1656	8,3 (0 - 35,8)	36	2,8
	- <i>S. Enteritidis</i>		15	285	40,4 (0 - 100)	1	0
	- <i>S. Infantis</i>		19	462	1,3 (0 - 3,6)	4	0
Animal	<i>Salmonella</i> spp*	poules pondeuses	15	792	10,5 (0 - 41,4)	86	15,1
	- <i>S. Enteritidis</i>		17	210	31,9 (0 - 100)	18	16,7
	- <i>S. Infantis</i>		15	67	0 (0)	1	0
Animal	<i>Salmonella</i> spp*	dindes en engraissement	9	726	1,8 (0 - 8,6)	58	3,4
	- <i>S. Kentucky</i>		6	55	0 (0)	-	-
	- <i>Salmonella</i> Derby		5	196	1,6 (0 - 2,1)	3	0
Bactéries indicatrices							
Animal	<i>Escherichia coli</i>	poulets de chairs	27	4037	0,9 (0 - 7,0)	226	1,8
		dindes en engraissement	11	1663	7,4 (0 - 27,0)	238	5,9

* : données agrégées toutes espèces confondues

N : correspond au nombre total de souches testées

%RES : correspond au pourcentage des souches testées trouvées résistantes

4.3. Surveillance de la résistance à la colistine et de la prévalence du gène *mcr-1* en médecine vétérinaire en France

4.3.1. Surveillance de la résistance chez les bactéries zoonotiques en France

Selon le rapport de l'ECDC/EFSA, chez les bactéries zoonotiques, notamment les *Salmonella* spp., on constate une forte prévalence de la résistance à la colistine. En effet, une forte prévalence de la résistance est ainsi observée chez cette espèce bactérienne plus particulièrement pour des souches isolées de viandes de dinde (38,7%) et isolées sur animaux en filière poule pondeuse (15,1 – 16,7%) (Tableau 3). Cependant comme mentionné ci-dessus, les isolats de *Salmonella* spp. appartenant au sérovar Enteritidis présentent une « résistance intrinsèque naturelle » à la colistine expliquant une occurrence de la résistance élevée (ECDC/EFSA, 2015).

4.3.2. Surveillance de la résistance chez les bactéries indicatrices en France

Les données de surveillance des *E. coli* commensaux en filière animale entre 2007 et 2014 révèlent que 98% des souches sont sensibles à la colistine. La résistance à la colistine a été identifiée chez les bactéries *E. coli* indicatrices en filière poulets de chairs et dindes en engraissement (Figure 3). Au sein de ces filières en 2014, 14 souches isolées de dindes (n=239) et 4 isolées de poulets (n=227) ont été identifiées comme résistantes à la colistine. Le gène *mcr-1* a été détecté au sein de toutes les souches résistantes à la colistine identifiées avec des prévalences de 1,8% pour les poulets et 5,9% pour les dindes (ECDC/EFSA, 2015 ; Perrin-Guyomard *et al.*, 2016) (Figure 3).

Chez le porc, la surveillance de la résistance faite au niveau national a permis d'identifier aussi une résistance à la colistine en filière porcine. En 2007 et en 2013, une souche résistante à la colistine a été identifiée (n=200 et n=227) et le gène *mcr-1* détecté définissant ainsi une prévalence de 0,5% pour la filière porcine.

4.3.3. Surveillance de la résistance chez les bactéries pathogènes en France

Pour les bactéries pathogènes, la résistance à la colistine est principalement observée chez les porcelets souffrant de diarrhées. Depuis plusieurs années le réseau français de surveillance de la résistance des pathogènes vétérinaires (RESAPATH) fournit un état des lieux dans différentes productions animales, montrant ainsi un taux de résistance globalement faible (<2%), tout en identifiant un épisode marqué par un taux de résistance supérieur (autour de 10%) entre 2009 et 2011 (Figure 4) (Anses-Resapath, 2015). Cependant, ces résultats doivent être pris avec la plus grande précaution compte tenu de la méthode utilisée (diffusion en gélose) et des seuils utilisés (15 mm/18 mm) qui peuvent sous-estimer le pourcentage de résistance. Des analyses affinées sur les résultats obtenus pour les diamètres compris entre 15 mm et 18 mm montrent néanmoins une tendance significative à l'augmentation de sensibilité à la colistine des souches d'*E. coli* pathogènes (Anses-Résapath 2016, Figure 5).

La filière bovine est aussi impactée par le gène de résistance plasmidique à la colistine. La recherche du gène *mcr-1* chez 517 souches d'*E. coli* productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) isolées de veaux diarrhéiques a permis d'identifier une prévalence du gène *mcr-1* de 21% (106 souches *mcr-1* positives/517) (Haenni *et al.*, 2016a). A noter, la plus ancienne souche de *E. coli* possédant le gène *mcr-1* est une souche qui avait été collectée en 2005. Les

souches possédant le gène *mcr-1* proviennent de différentes fermes suffisamment éloignées pour exclure le rapport clonal dans la dissémination du gène. Par ailleurs, la prévalence du gène *mcr-1* au sein des souches de *E. coli* BLSE de veaux augmente de façon significative depuis 2006 (Haenni *et al.*, 2016b)(Figure 6).

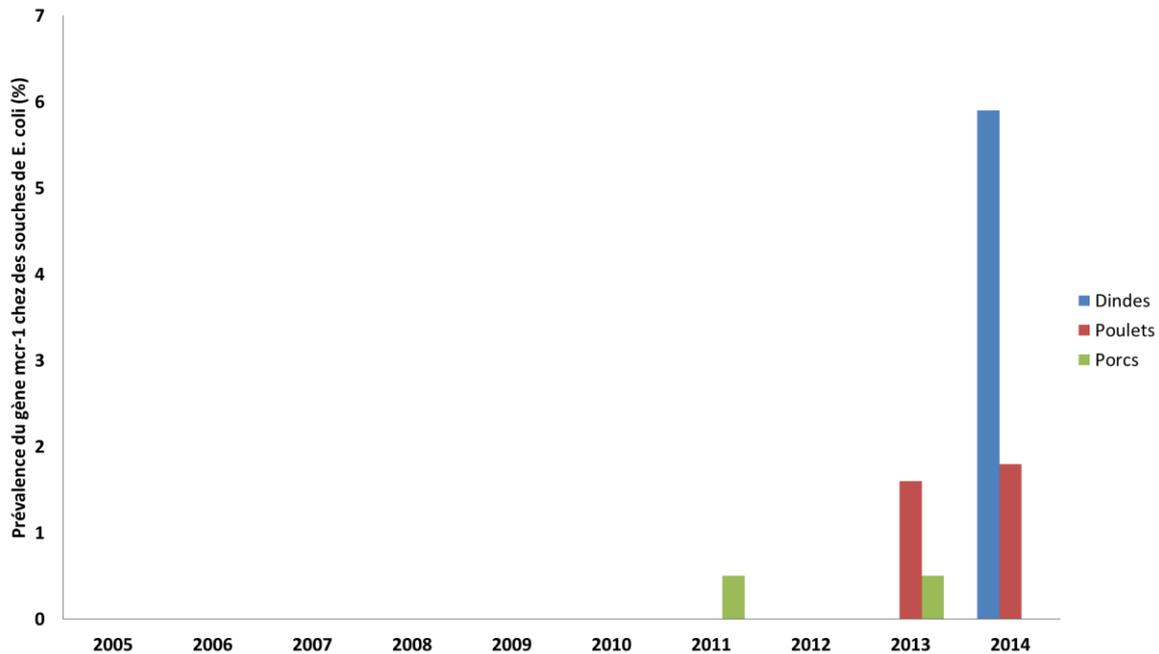


Figure 3 : Evolution de la prévalence du gène *mcr-1* au sein des souches zoonotiques et indicatrices résistantes à la colistine issue de filières animales. D'après Perrin-Guyomard *et al.*, 2016.

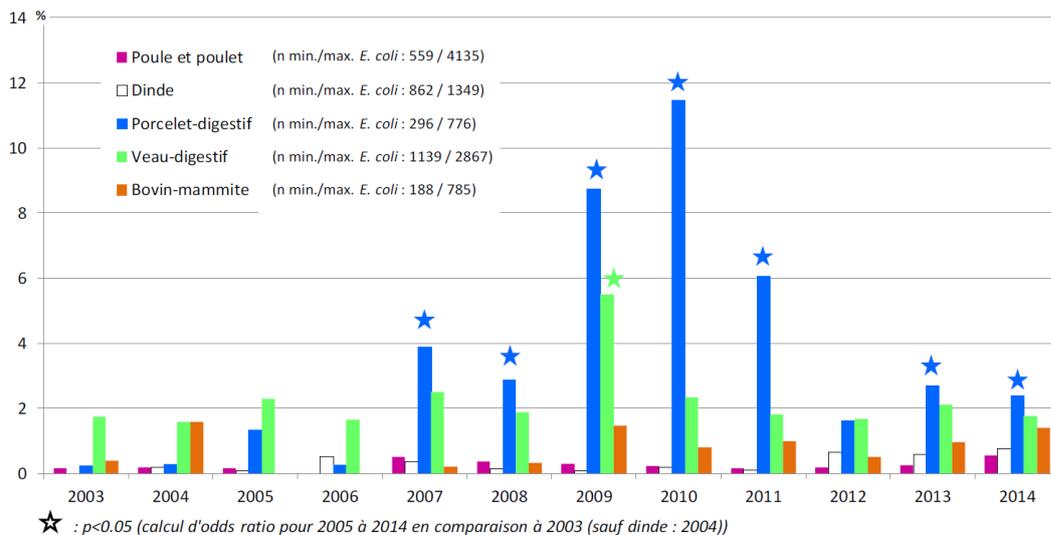


Figure 4 : Evolution des proportions annuelles de *E. coli* présentant une zone d'inhibition de diamètre inférieure à 15 mm vis-à-vis de la colistine (disque 50 µg) (Anses-Resapath, 2015).

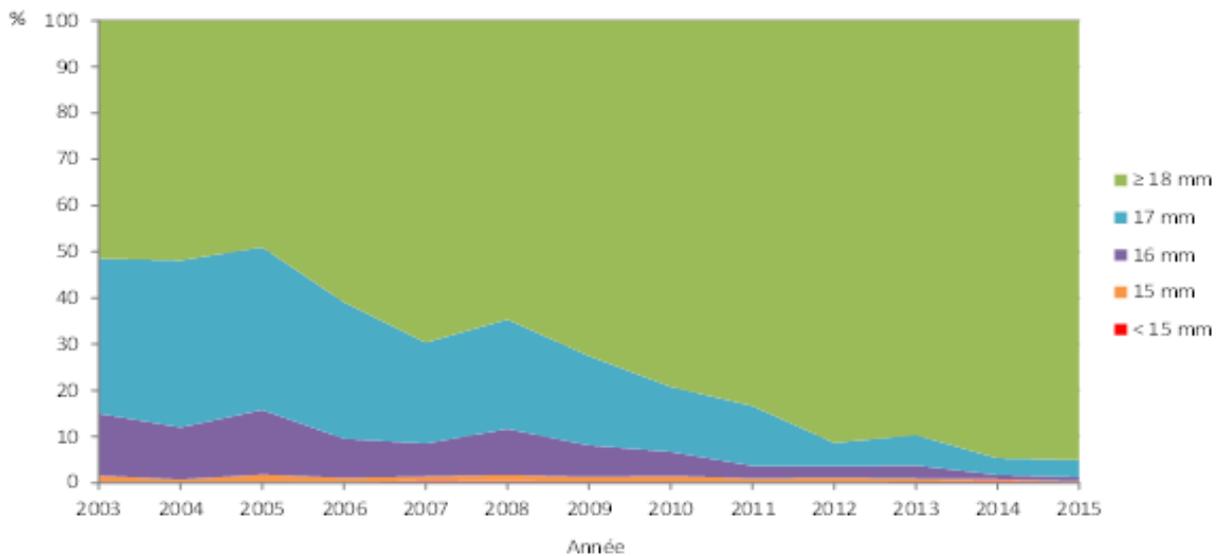


Figure 5 : Proportions relatives des diamètres de zone d'inhibition <math>< 15\text{ mm}</math>, à 15 mm, 16 mm, 17 mm et >math>\ge 18\text{ mm}</math> autour du disque de colistine (50 μg) pour les *E. coli* isolés au cours de toutes pathologies chez les poules et poulets (n min. : 559 (2004) ; n max. : 6379 (2015))(Anses-Résapath 2016)

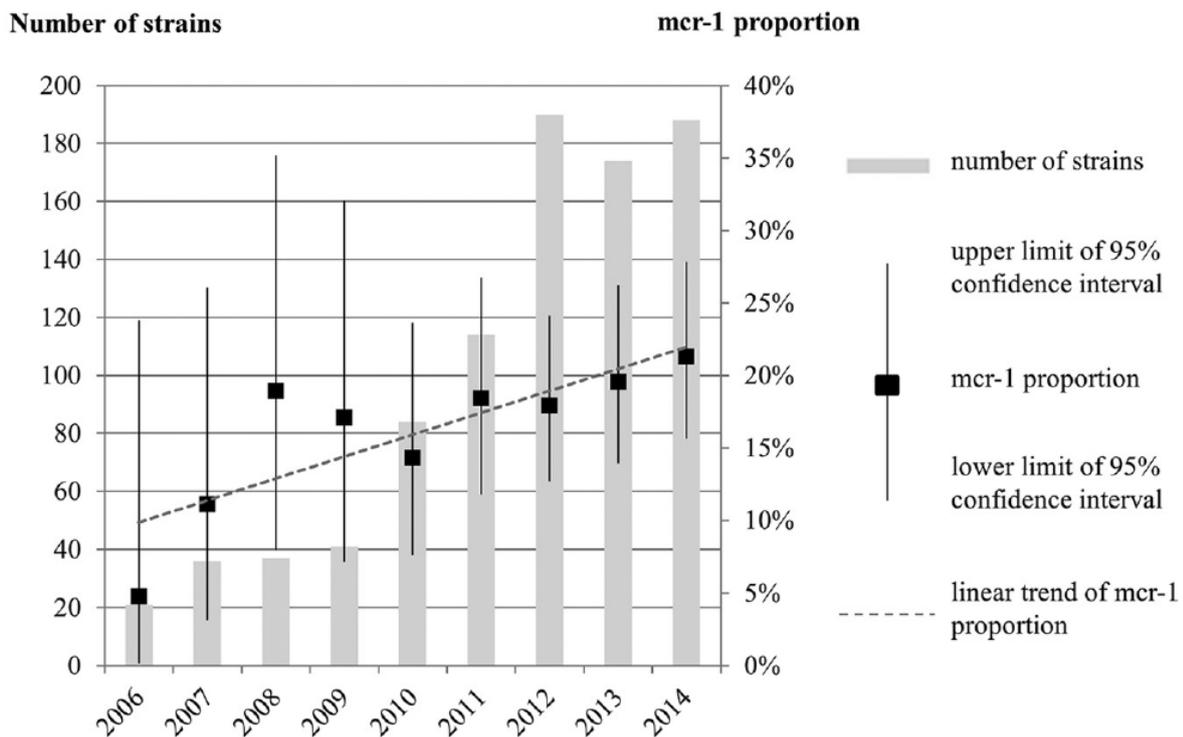


Figure 6 : Evolution de la prévalence du gène *mcr-1* au sein des *E. coli* producteurs de BLSE issus de veaux (d'après Haenni et al., 2016b).

Les données de résistance à la colistine en France et dans l'Union Européenne confirment l'existence d'une prévalence faible dans les filières animales. L'identification du gène *mcr-1* chez une souche d'*E. coli* isolée en 2005 souligne le fait que le mécanisme de résistance circule dans les élevages depuis plusieurs années. Les premières données disponibles suggèrent un niveau de résistance supérieur pour la filière dinde.

Toutefois, une augmentation de la prévalence du gène *mcr-1* est observée depuis 2006 au sein des souches d'*E. coli* pathogènes productrices de BLSE chez le veau, jusqu'au taux de 21%.

6. EVALUATION DE RISQUE DE LA COLISTINE

5.1. Evaluation et profil de risque de la colistine par le groupe ad hoc de l'EMA – AMEG

L'EMA a de nouveau réuni en 2016 le groupe d'experts ad hoc sur l'antibiorésistance (AMEG) afin de réviser l'avis publié en 2013 (EMA/755938/2012). Le groupe de travail a donc réalisé un profil de risque afin d'évaluer le risque pour la santé publique relatif à l'usage de la colistine en médecine vétérinaire. Dans ce rapport, l'AMEG précise que de nombreuses lacunes persistent dans les connaissances scientifiques relatives à la prévalence du gène *mcr-1* et dans l'évolution de la résistance (EMA/CVMP/CHMP/231573/2016). Le profil de risque a consisté à estimer le risque pour l'Homme d'être exposé aux germes résistants d'origines animales et sur l'impact potentiel sur la santé publique.

5.1.1. Identification du danger

L'usage de la colistine en médecine vétérinaire sélectionne des Entérobactéries résistantes à la colistine potentiellement transmissibles à l'homme. Ce phénomène est d'autant plus probable que l'identification du gène *mcr-1* conférant la résistance à la colistine est portée par un plasmide, signifiant que la résistance à la colistine n'est plus seulement chromosomique mais aussi plasmidique. Le large usage en médecine vétérinaire engendre une forte pression de sélection et donc une persistance de la résistance. Le gène *mcr-1* co-localise fréquemment avec d'autres gènes de résistance engendrant une potentielle co-sélection avec d'autres agents antimicrobiens (souches multirésistantes).

5.1.2. Estimation de l'exposition

En médecine vétérinaire, la colistine est essentiellement utilisée par voie orale ce qui engendre une forte exposition des germes intestinaux potentiellement excrétés dans l'environnement par les fèces. Les données *in vitro* ont montré un fort potentiel de transmission du gène *mcr-1* entre souches bactériennes. Le risque pour la santé publique d'être exposé aux gènes de résistance *via* les bactéries d'origines animales est, pour le moment, relativement faible en raison de la faible prévalence chez les isolats européens d'origine animale.

5.1.3. Conséquences pour la santé humaine

La colistine est un antibiotique de dernier recours en médecine humaine pour le traitement systémique des infections causées par des souches résistantes aux carbapénèmes généralement multirésistantes.

5.1.4. Estimation globale du risque pour la santé publique

En conclusion, bien qu'il existe peu de données sur l'évolution de la résistance à la colistine, au vu des nouveaux éléments scientifiques, notamment le fait que le mécanisme nouvellement identifié a le potentiel de propager rapidement le gène de résistance, et compte tenu de l'importance croissante de la colistine en médecine humaine, ceci conduit à un risque accru pour la santé humaine lié à l'utilisation de la colistine en médecine vétérinaire. L'AMEG recommande une élévation du niveau de risque pour cet antibiotique qui se traduit par un changement du classement de la colistine de la catégorie 1 (risque faible ou limité) à la catégorie 2 (antimicrobiens utilisés en médecine vétérinaire où le risque pour la santé publique est actuellement estimé supérieur).

5.1.5. Mesures de gestion proposées dans l'avis du groupe européen ad hoc sur l'antibiorésistance (AMEG)

L'AMEG chargé de réviser l'évaluation du risque lié à l'usage de la colistine en médecine vétérinaire suite à la découverte du mécanisme de résistance transférable impliquant le gène *mcr-1* a rendu ses conclusions en juin 2016. Le groupe de travail propose de ne pas interdire l'usage de la colistine en médecine vétérinaire, notamment chez les espèces productrices de denrées alimentaires, entre autres, afin d'éviter d'accroître la pression sur les antibiotiques d'importance critique (Fluoroquinolones, Céphalosporines 3-4G) et aussi dans un souci de bien-être animal. En supplément des mesures de gestion préconisées lors du précédent référé communautaire de 2013, le groupe de travail recommande des mesures plus strictes pour réduire la pression de sélection liée à l'usage de la colistine.

Dans ce sens, l'AMEG, en plus de l'inscription de la colistine dans la catégorie 2 (risque élevé) décide de définir un objectif de réduction d'usage. Ainsi, l'AMEG recommande une réduction de l'usage sous la barre des 5 mg/PCU (Population Correction Unit) d'ici 3 à 4 ans pour les pays européens fortement ou modérément utilisateurs et sous la barre des 1 mg/PCU pour les pays européens les moins utilisateurs. Cet objectif devrait contribuer à une réduction de 65% de l'usage de la colistine en Europe. En parallèle de cet objectif, aucune augmentation de l'usage des antibiotiques et plus particulièrement des antibiotiques critiques ne doit être enregistrée.

5.2. Evaluation de risque de la colistine pour la santé publique – ECDC

L'ECDC a publié une note de synthèse de l'évaluation du risque liée à la récente découverte du gène *mcr-1* chez des souches d'origines animales et humaines. Le rapport identifie les risques associés à la dissémination potentielle de ce gène et recommande différents axes d'amélioration pour contenir et réduire à terme le risque lié à l'usage de la colistine en médecine vétérinaire et humaine.

5.2.1. Identification du danger lié au gène *mcr-1*

En dépit de sa néphrotoxicité et neurotoxicité, la colistine est de plus en plus utilisée comme l'une des dernières options de traitement pour les patients atteints d'infections graves causées par des bactéries résistantes aux carbapénèmes (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *P. aeruginosa*). Le gène *mcr-1* est majoritairement retrouvé chez des souches présentant des phénotypes de multi-résistances. La capacité de transfert de ce gène entre espèces bactériennes peut entraîner l'apparition de germes pan-résistants, notamment pour les bactéries pour lesquelles la colistine demeure le seul antibiotique actif. Ainsi, l'ECDC au travers de son rapport souligne le danger lié à la dissémination du gène *mcr-1* à la fois dans le secteur hospitalier mais aussi au sein de la communauté.

5.2.2. Les actions pour prévenir et/ou réduire les risques identifiés

Les recommandations de l'ECDC visant la réduction du risque sont :

- l'amélioration des méthodes de laboratoire pour la détection de la résistance à la colistine et la présence du gène *mcr-1*. En effet, actuellement, les comités européens et internationaux sur l'antibiogramme (EUCAST et CLSI) recommandent une détermination de la CMI par une méthode de microdilution pour les tests de sensibilité à la colistine. L'ajout de la colistine dans les programmes de surveillance de la résistance nécessite donc une modification des méthodes de test pour cet antibiotique.
- l'amélioration du délai entre diagnostic microbiologique et administration d'un traitement antimicrobien approprié afin de réduire le risque accru de morbidité et de mortalité.
- l'amélioration de la surveillance de l'usage et surtout de la résistance en santé humaine et vétérinaire afin d'identifier toute dissémination à l'échelle internationale du gène *mcr-1*, notamment au sein de souches bactériennes résistantes aux carbapénèmes.

Les recommandations de l'ECDC visant la prévention du risque sont :

- le respect strict des mesures de lutte contre les infections y compris l'hygiène des mains, la désinfection de l'environnement et le retraitement adéquat des dispositifs médicaux pour la prévention de la transmission de bactéries multirésistantes ;
- une bonne gouvernance des antimicrobiens en se référant à des programmes coordonnés qui mettent en œuvre des interventions visant à assurer la prescription d'antibiotiques appropriés dans le but d'améliorer l'efficacité clinique du traitement et de limiter la résistance aux antimicrobiens en réduisant la pression de sélection.

La colistine est un antibiotique réservé comme traitement de dernier recours en médecine humaine lors d'infections sévères causées par des germes multi-résistants. Le gène *mcr-1* est présent au sein des mêmes plasmides chez les souches isolées chez l'homme, l'animal et dans l'environnement laissant penser à une transmission potentielle entre compartiments. Les prévalences plus élevées chez les souches d'origines animales font craindre une transmission possible de l'animal à l'homme. Les conclusions des deux évaluations de risque européennes présentées ci-dessus mentionnent l'importance d'une réduction de l'usage en filière animale ainsi que la mise en place d'une surveillance obligatoire de l'usage et de la résistance à la colistine en médecine vétérinaire et humaine.

6. LES MESURES DE GESTION EUROPEENNES PRISES POUR ENCADRER L'USAGE DE LA COLISTINE

La Commission Européenne a saisi l'Agence Européenne des Médicaments au titre de l'article 35 de la directive 2001/82/CE par deux fois :

- Dans un premier temps, en 2014, pour tous les médicaments vétérinaires contenant de la colistine comme seul principe actif à administrer par voie orale.
- Dans un second temps en 2015, pour tous les médicaments vétérinaires contenant de la colistine en association administrés par voie orale.

6.1. Médicaments vétérinaires contenant de la colistine comme seul principe actif administré par voie orale.

En 2014, le comité des médicaments à usage vétérinaire (CVMP) a été invité à émettre un avis sur les mesures devant être adoptées pour assurer l'utilisation prudente de la colistine chez les animaux producteurs d'aliments dans l'ensemble de l'Union Européenne et pour minimiser les risques potentiels associés à l'utilisation des médicaments identifiés; entre autres, s'il s'avère nécessaire d'inclure des indications et des mises en garde adéquates sur l'utilisation prudente

dans les Résumés des Caractéristiques des Produits (RCP) et/ou de restreindre les indications des médicaments identifiés en prenant en compte la ligne directrice révisée du CVMP sur les résumés des caractéristiques des produits contenant des antimicrobiens (EMA/CVMP/SAGAM/383441/2005).

Le 16 Mars 2015, la décision de la Commission Européenne a été publiée. Cette décision ne remet pas en cause le maintien de l'utilisation de la colistine en médecine vétérinaire mais restreint ses indications au traitement et à la métaphylaxie. Elle demande aussi de retirer toutes les indications d'utilisation préventive afin de minimiser tout risque potentiel associé à une utilisation plus large. De plus, la décision prévoit que la dose doit être harmonisée à 100 000 UI/Kg et que la durée de traitement ne doit pas dépasser 7 jours. La décision demande également la suppression de toute indication concernant les Salmonelles car seules des données cliniques très limitées ou non concluantes ont été présentées pour justifier cette indication.

Les indications pour le traitement de la salmonellose et des infections gastro-intestinales dues à *E. coli* (colibacillose) chez le poulain sont également supprimées.

6.2. Médicaments vétérinaires contenant de la colistine en association administrés par voie orale.

En 2015, le CVMP a été invité à émettre un avis sur les mesures devant être adoptées pour assurer l'utilisation prudente de la colistine en association avec d'autres antibiotiques chez les animaux producteurs d'aliments dans l'ensemble de l'UE et pour minimiser les risques potentiels associés à l'utilisation des produits identifiés. Le 14 Juillet 2016, la Commission Européenne a publié une décision demandant l'abrogation de toutes les autorisations de mise sur le marché concernant les médicaments vétérinaires contenant de la colistine en association avec d'autres antibiotiques faute de preuves scientifiques justifiant les associations pour le traitement en comparaison avec les médicaments contenant un seul antibiotique.

7. DISCUSSION SUR LA SITUATION FRANÇAISE ET HYPOTHESES DE SCENARII DE GESTION

7.1. Les autorisations de mises sur le marché de médicaments vétérinaire contenant de la colistine

En France, il existe actuellement 54 autorisations de mise sur le marché (AMM) de médicaments vétérinaires contenant de la colistine (site i-RCP, Anses-ANMV). Parmi ces 54 AMM, 31 contiennent la colistine comme seule substance active et 23 contiennent de la colistine en association avec un autre antibiotique : aminoglycoside (néomycine), macrolide (érythromycine),

sulfamide (sulfaguanidine ou sulfadiméthoxy-pyridazine), tétracycline (oxytétracycline) ou triméthoprim. Les médicaments à base de colistine seule sont principalement à administrer par voie orale mais certains médicaments sont à administrer par voie topique ou injectable. Parmi les 23 médicaments contenant de la colistine en association, 12 sont à administrer par voie orale et 11 par voie injectable.

A la suite des deux référés communautaires au titre de l'article 35 de la directive européenne 2001/82/CE, l'ensemble des médicaments à base de colistine à administrer par voie orale en médecine vétérinaire a été réévalué sur la base de leur ratio bénéfices / risques.

A l'issue du premier référé concernant les médicaments vétérinaires à administrer par voie orale contenant de la colistine comme seul principe actif, l'Anses ANMV a supprimé les indications concernant l'usage préventif. Cette suppression a été associée à une restriction de la durée de traitement à une harmonisation de la dose administrée. L'ensemble des modifications des 29 AMM concernées a été notifié le 4 septembre 2015.

Suite à la décision de la Commission Européenne en date du 14 juillet 2016 issue du second référé concernant les médicaments vétérinaires à administrer par voie orale contenant de la colistine en association avec d'autres antimicrobiens, les AMM de 12 médicaments concernés en France sont en cours de retrait par l'Anses ANMV.

7.2. Historique pour la France en termes d'usage et de résistance

En France, le suivi national des ventes d'antibiotiques est assuré par l'Anses-ANMV depuis 1999. Concernant la famille des polypeptides, on note depuis quelques années une réduction de l'usage de la colistine dans les filières animales. Cette tendance est confirmée en utilisant comme indicateur d'exposition l'Animal Level Exposure to Antimicrobials (ALEA) qui représente l'exposition aux antibiotiques car il prend en compte les informations concernant le traitement (dose et durée) et la population animale potentiellement traitée aux antibiotiques. Les données présentées dans la figure 2 révèlent qu'après une tendance à l'augmentation, on constate globalement une forte réduction de l'exposition et donc de l'usage de la colistine dans les filières animales en France. Cette tendance à la baisse débute en 2010, notamment pour les filières porcine et volailles. Ainsi un ALEA pour la filière porcine en 2015 est le plus faible jamais enregistré depuis 1999.

Concernant la résistance à la colistine, les données de surveillance françaises des bactéries pathogènes en 2014 montrent une prévalence inférieure à 2% pour toutes les espèces animales avec cependant une période autour des 10% entre 2009 et 2010 (RESAPATH, 2014 ; Figure 4). Cependant, ces résultats doivent être pris avec la plus grande précaution compte tenu de la

méthode utilisée (diffusion en gélose) et des seuils utilisés (15 mm/18 mm) qui peuvent sous-estimer le pourcentage de résistance.

Les données publiées relatives à la prévalence du gène *mcr-1* permettent d'identifier une souche d'*E. coli* isolée de veaux diarrhéiques en 2005 comme la souche la plus ancienne isolée en France possédant ce gène (Haenni *et al.*, 2016a). Cela souligne que le gène *mcr-1* circule en France dans les filières animales depuis plusieurs années sans toutefois conduire à une augmentation majeure de la résistance. Toutefois, la prévalence du gène *mcr-1* au sein des souches d'*E. coli* BLSE de veaux augmente de façon significative depuis 2006 (Haenni *et al.*, 2016b). Il est à noter également que les surveillances européenne et nationale de la résistance à la colistine des bactéries *E. coli* indicatrices suggèrent une prévalence également forte en filière dinde.

Actuellement, l'impact de l'ensemble des mesures de gestion de risque (récemment adoptées) sur l'usage de la colistine et sur la résistance à la colistine n'a pas pu encore être mesuré. Cependant, la suppression des 12 AMM pour les associations d'antibiotiques contenant de la colistine et à administration orale ainsi que la suppression de l'usage préventif devrait impacter de manière non négligeable l'usage de la colistine sur le territoire national.

7.3. Situation de la France par rapport aux objectifs de réduction fixés par l'AMEG

L'AMEG recommande une réduction de l'usage sous la barre des 5 mg/PCU d'ici 3 à 4 ans pour les pays européens fortement ou modérément utilisateurs et sous la barre des 1 mg/PCU pour les autres. Les données prises en compte pour faire cette recommandation sont les dernières données publiées par l'ESVAC relatives à l'année 2013. En prenant en compte les données disponibles en France pour les années 2014 et 2015, il est possible de calculer la consommation en mg/PCU pour ces deux années. Ainsi, le nombre de mg/PCU est de 7,2 pour l'année 2014 et de 4,3 pour l'année 2015 (Figure 7).

L'augmentation observée des ventes en 2014 est à mettre en relation avec la parution de la loi n°2014-1170 du 13 octobre 2014 d'avenir pour l'agriculture, l'alimentation et la forêt (LAA), qui instaure plusieurs mesures telles que la fin des remises, rabais et ristournes à compter du 1er janvier 2015. Cela a induit un stockage de médicaments contenant des antibiotiques par les acteurs de la distribution et ou délivrance du médicament durant l'année 2014 et à une baisse des ventes en 2015. Une estimation basée sur la moyenne de ces deux années conduit au chiffre de 5,7 mg/PCU.

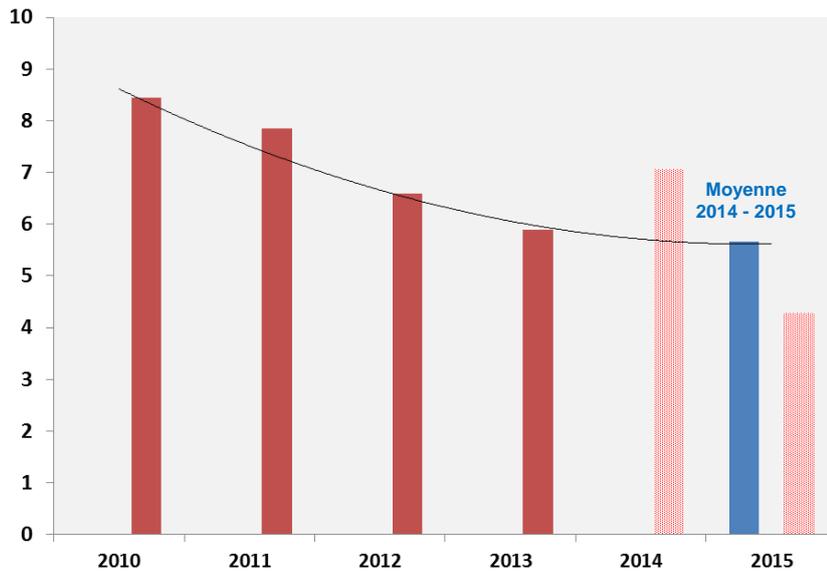


Figure 7 : Evolution du nombre de mg/PCU pour la colistine entre 2010 et 2015.

Dans son rapport l'AMEG reconnaît que les objectifs de réduction devraient idéalement être établis par espèce animale, ce qui n'est pas possible au niveau Européen aujourd'hui.

En France, des données par espèce animale sont disponibles, il est ainsi possible de calculer le nombre de mg/PCU pour chacune de ces espèces (Figure 8).

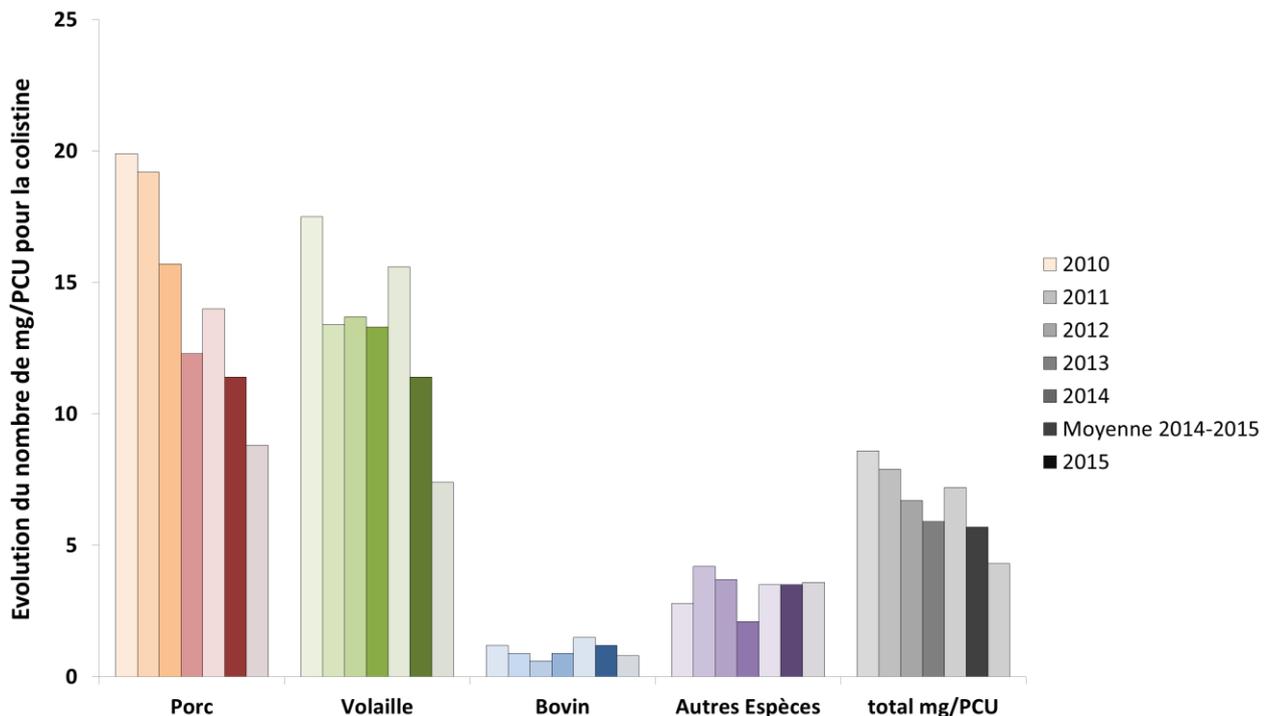


Figure 8 : Evolution française du nombre de mg/PCU pour la colistine par espèce entre 2010 et 2015.

Tableau 4 : Evolution française du nombre de mg/PCU pour la colistine par espèce entre 2010 et 2015.

Année	Porc	Volaille	Bovin	Autres Espèces	total mg/PCU
2010	19,9	17,5	1,2	2,8	8,6
2011	19,2	13,4	0,9	4,2	7,9
2012	15,7	13,7	0,6	3,7	6,7
2013	12,3	13,3	0,9	2,1	5,9
2014	14,0	15,6	1,5	3,5	7,2
2015	8,8	7,4	0,8	3,6	4,3
Moyenne 2014-2015	11,4	11,4	1,2	3,5	5,7

Il est à noter que les chiffres calculés par l'ESVAC ne prennent en compte qu'une partie limitée de la population animale (seules certaines données harmonisées disponibles sur Eurostat pour l'ensemble des pays de L'Union Européenne sont prises en compte). En prenant les chiffres de population animale disponible officiellement en France (<http://agreste.agriculture.gouv.fr/Agreste>), le nombre de mg/Kg (PCU=1Kg poids vif) de colistine est pour la moyenne des années 2014-2015 de 2,60 mg/Kg.

En effet, la biomasse animale répertoriée en France est pratiquement deux fois plus élevée que celle retenue par l'ESVAC. Une demande a été faite par la France auprès de l'ESVAC pour réviser le calcul de la biomasse animale.

Pour mesurer l'exposition des animaux, il faut prendre en compte en supplément les doses et durées de traitement de chaque médicament, ainsi l'ALEA présente un meilleur indicateur de l'exposition (Figure 2).

En résumé, les données françaises disponibles permettent d'établir qu'en 2015 la France est très proche de la limite de 5 mg/PCU fixée au niveau européen. Ces données nationales permettent également de fixer des objectifs de réduction de l'utilisation de colistine de manière plus précise.

7.4. Les projets de recherche relatifs à la colistine au sein de l'Anses.

Plusieurs projets de recherches concernant la résistance à la colistine en médecine vétérinaire sont en cours de réalisation au sein de l'Anses, notamment dans le cadre du plan national Ecoantibio 2017. Ces différents travaux scientifiques permettront d'améliorer la compréhension générale des mécanismes de résistances et de transmission de la résistance liés à la colistine. Ainsi depuis 2015, six projets de recherches concernent la résistance à la colistine et portent plus précisément sur :

- L'impact de traitement oral par la colistine sur la sélection de souches bactériennes inoculées chez le porc. Les résultats permettront de déterminer si l'administration par voie orale de colistine soit en sous-dosage, soit en surdosage, facilite la colonisation digestive, la sélection ou la transmission entre animaux de souches de *E. coli* présentant différents niveaux de résistance à la colistine, leur persistance chez l'animal après traitement. Ceci devant permettre de mieux évaluer les risques liés à l'utilisation de la colistine chez le porc ;
- Le rôle de la voie d'administration et du mode d'élevage sur la résistance à la colistine chez le veau à la ferme. Ce projet de recherche vise à mieux comprendre les conditions de la sélection de la résistance à la colistine chez le veau nouveau-né. En particulier, il vise à évaluer l'impact de la voie d'administration (orale *versus* injectable). Le projet prend également en compte une diversité de facteurs d'élevage (laitier/allaitant, veaux maintenus en niches ou en parcs, usages antibiotiques hors colistine dans l'élevage, ...) et permettra de caractériser au plan moléculaire les mécanismes de résistance émergents, qui sont à ce jour très mal connus ;
- L'épidémiologie de la résistance à la colistine en élevage. Ce projet vise l'étude de la diversité clonale des *E. coli* commensales porteuses du gène *mcr-1*, de caractériser les éléments génétiques mobiles associés à *mcr-1* et de tester la transférabilité de la résistance à la colistine ;
- La caractérisation phénotypique et moléculaire de la résistance à la colistine conférée par le gène *mcr-1* chez les souches d'*E. coli* issues de veau. Ce projet permettra de déterminer les niveaux de résistance à la colistine (faibles ou élevés) des bactéries possédant le gène *mcr-1*, d'identifier les possibilités de co-sélection du gène *mcr-1* par l'usage d'autres antibiotiques, notamment ceux critiques en médecine humaine et de déterminer la diversité moléculaire des supports génétiques (types de plasmides) et des clones bactériens porteurs du gène *mcr-1* ;
- L'étude de la transmission de la résistance plasmidique à la colistine. Le projet consiste tout d'abord à développer un protocole de détection dans les matières fécales de *E. coli* résistants à la colistine puis à mesurer la diffusion de la résistance entre souches et entre animaux. L'estimation des paramètres de transmission permettra l'évaluation du rôle de la transmission inter-hôtes sur la diffusion du gène de résistance en population porcine.
- Plus un projet ANR (sincolistin) qui vise, entre autres, à caractériser une collection de souches de *E. coli* pathogènes pour le porc et résistantes à la colistine, ainsi qu'à développer de nouvelles méthodes et concepts innovants permettant de réduire la quantité de colistine utilisée dans les élevages de porcs.

7.5. Quelles alternatives à l'usage de la colistine en filière animale ?

La colistine est largement utilisée en médecine vétérinaire depuis des décennies à la fois en traitement curatif et en prévention des infections. La colistine est une thérapeutique importante en médecine vétérinaire notamment dans le traitement des infections gastro-intestinales à Gram négatif chez certaines espèces productrices de denrées. A ce titre, en 2013, les polymyxines (essentiellement représentée par la colistine) étaient le 5^{ème} groupe d'antibiotiques selon les données de l'ESVAC à l'échelle européenne.

Les alternatives à l'usage de la colistine répondent à des stratégies de divers ordres, et pourraient consister en les solutions suivantes :

- Des solutions alternatives sans recourir à l'usage d'antibiotiques :
 - La vaccination contre certaines maladies peut être mise en place et réduire la nécessité de recourir aux antibiotiques. Par exemple, on peut citer la vaccination pour prévenir des infections entériques à *E. coli* chez les porcelets et chez le poulet de chair. Le recours aux autovaccins (vaccin bactérien inactivé) est une piste intéressante à étudier dans certains cas en l'absence de vaccins autorisés ; ou lorsque les souches visés par les vaccins commercialisés sont trop différentes des souches circulant en élevage ;
 - Améliorer la gestion du troupeau pour réduire la pression infectieuse notamment en assurant une stratégie de nettoyage et de désinfection des bâtiments entre les bandes pour éviter l'accumulation ou la persistance de germes ou de gènes de résistances ;
 - Améliorer la gestion des transitions alimentaires et adapter la composition des aliments notamment au moment du sevrage des porcelets, période critique en matière d'apparition des risques de diarrhées.
 - Les approches pré- et probiotiques en alimentation animale peuvent aussi être mises en place pour prévenir le risque d'apparition de certaines maladies digestives et donc réduire la nécessité de recourir aux antibiotiques comme la colistine ;
 - L'utilisation d'acides organiques ou encore de métaux (Cu, Zn) peut aussi se substituer aux traitements antibiotiques en filière animale notamment pour la prévention des infections digestives. Toutefois, ce type d'alternative présente des risques préoccupants pour l'environnement (risque de contamination irréversible des sols avec un risque accru pour les sols acides) mais aussi de développement de résistance aux antibiotiques (co-localisation du gène de résistance au zinc sur la cassette de résistance à la méthicilline chez le Staphylocoque doré).

- Une utilisation d'antibiotiques visant à remplacer l'usage de la colistine
 - Une meilleure identification des animaux malades nécessitant un traitement. Des outils de diagnostic précoces, rapides et des tests de sensibilité rapides doivent être développés pour identifier la bactérie en cause et déterminer le meilleur traitement antibiotique pour le groupe d'animaux ;
 - le recours à d'autres catégories d'antibiotiques telles que les aminopénicillines, les sulfamides-triméthoprime, les tétracyclines, les aminosides.
 - le recours à des antibiotiques figurant parmi la liste des antibiotiques critiques en médecine humaine tels que les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} générations et/ou les fluoroquinolones.

Par conséquent, si la colistine n'est plus disponible comme antibiotique de première intention en médecine vétérinaire, un report potentiel de l'usage vers d'autres familles d'antibiotiques pour lesquelles la résistance ou l'importance pour la médecine humaine est autant voire plus cruciale, est à craindre.

7.6. Analyse des différents scénarii envisageables

Plusieurs scénarii sont envisageables au vu de la réglementation française :

- **Interdiction de l'usage de la colistine en médecine vétérinaire en France :**

Une telle mesure extrême entraînerait un report vers d'autres alternatives thérapeutiques telles qu'énumérées ci-dessus. Plusieurs d'entre elles ne sont à l'heure actuelle que des pistes de recherche non finalisées ou non commercialisées n'ayant pas la même efficacité ; l'impact économique sur les filières ne serait pas négligeable et ne favoriserait pas leur recours sans un appui financier compensatoire. Aussi, il est fortement probable que l'on s'orienterait vers un usage renforcé des autres classes d'antibiotiques pour lesquelles la résistance serait augmentée ou pour lesquelles l'importance pour la médecine humaine est autant voire plus importante.

- **Maintien de l'usage de la colistine et inscription de la colistine sur la liste des antibiotiques d'importance critique :**

Le décret n° 2016-317 du 16 mars 2016 encadre la prescription et la délivrance des **médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique** listées par arrêté. Ainsi, les médicaments vétérinaires contenant des AIC sont interdits en médecine vétérinaire pour un usage préventif. Pour les autres usages (curatif ou métaphylactique), certains, dont la liste est définie par arrêté, peuvent être

prescrits sous conditions. Les conditions pour leur prescription sont la réalisation d'un examen clinique préalable systématique et l'obtention de résultats de laboratoire indiquant que la souche bactérienne identifiée est sensible à cette substance antibiotique d'importance critique, et en l'absence de médicament ne contenant pas ces AIC suffisamment efficace ou adapté pour traiter la maladie diagnostiquée. Des conditions sont également prévues quant au renouvellement de l'ordonnance. En cas d'entérite colibacillaire les résultats de bactériologie sont difficiles à interpréter à l'inverse de la situation en cas de septicémie colibacillaire avec des prélèvements sur organes touchés par l'infection. La généralisation d'examens bactériologiques n'apporterait pas d'amélioration sur le plan de la lutte contre l'antibiorésistance.

Considérant les mesures de gestion déjà mises en place pour les AMM des médicaments à base de colistine, l'inscription de la colistine sur la liste des AIC impliquerait comme unique mesure complémentaire la réalisation systématique d'un test de sensibilité de la bactérie isolée pour identifier le meilleur antibiotique utilisable.

Au regard des taux de résistance très faibles à l'heure actuelle en France, selon les données RESAPATH (Figure 4), on peut s'interroger sur la pertinence de cette mesure. Les germes isolés restent majoritairement sensibles à la colistine.

De plus, l'inscription de la colistine sur la liste des AIC impliquerait également un examen clinique systématique dont la pertinence est également discutable notamment en filière porcine, dans la mesure où le diagnostic est facile et l'étiologie à 99% colibacillaire en post-sevrage, stade physiologique privilégié pour l'usage de la colistine. Enfin, plusieurs jours sont nécessaires pour obtenir un résultat de diagnostic complet. Ceci semble donc peu compatible avec un traitement curatif ou métaphylactique.

- **Pas de mesure de gestion supplémentaire par rapport à celles existantes ou en cours de mise en application mais un renforcement du contrôle de leur respect et la fixation d'un objectif mesuré quant à la diminution de l'usage de la colistine :**

Comme indiqué précédemment les mesures de gestion prises suite aux deux référés communautaires ne sont en place pour l'une que depuis le 14 septembre 2015 et depuis le 14 juillet 2016 pour l'autre. Avant de mettre éventuellement en place des mesures de gestion additionnelles, il pourrait convenir de mesurer l'efficacité de celles-ci quant à la diminution du recours à l'usage de la colistine et de fixer un objectif de réduction. Une réduction de l'utilisation (ALEA) de moitié pour la colistine en 3 ans serait compatible avec les recommandations de réduction préconisées par l'AMEG. Cet objectif doit être suivi étroitement et réévalué de manière régulière en fonction des résultats de la surveillance du suivi de l'usage et de la résistance à la

colistine des bactéries commensales et pathogènes, notamment zoonotiques et de la disponibilité des alternatives à l'utilisation de la colistine

- **Par ailleurs dans le cadre d'une approche « One Health » (Une seule santé), la préservation de l'usage de la colistine devrait être appuyée par une politique en médecine humaine de gestion des antibiotiques d'importance critique réglementée au même titre que celle adoptée en médecine vétérinaire afin de diminuer la pression de l'apparition de résistance.**

7.7. Avis de l'ANSM relative à l'utilisation de la colistine en médecine vétérinaire

Dans son avis, mis dans son intégralité en annexe du présent rapport, l'ANSM indique qu'il serait cohérent que la colistine figure parmi les AIC vétérinaires, notamment au vu de des options thérapeutiques très limitées concernant la colistine, qui aujourd'hui est antibiotique de dernier recours en médecine humaine. Cependant, l'ANSM indique qu'elle n'est pas en mesure d'évaluer l'encadrement de la prescription/délivrance de la colistine en médecine vétérinaire, ni de mesurer le caractère indispensable de la colistine chez les animaux. L'ANSM demande ainsi, compte tenu de la transversalité du sujet, que celui-ci soit débattu au niveau interministériel.

8. CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS DE L'ANSES CONCERNANT L'USAGE DE LA COLISTINE EN MEDECINE VETERINAIRE

8.1. Considérant le contexte actuel, à savoir :

- La faible prévalence de la résistance à la colistine en médecine vétérinaire malgré un large usage depuis des décennies et un gène *mcr-1* présent dans des souches bactériennes isolées dans les années 1980 (Liu *et al.*, 2015) ;
- L'augmentation depuis 2006 de la prévalence du gène *mcr-1* dans les *E. coli* BLSE bovins en France qui est concomitante d'une décroissance majeure de l'usage de la colistine dans cette filière, laissant penser que la dissémination du gène *mcr-1* et l'usage de la colistine ne sont pas nécessairement corrélés (Haenni *et al.*, 2016b).
- Le bénéfice clinique de la colistine toujours positif. La colistine est un antibiotique qui garde une nette efficacité clinique dans le traitement des colibacillooses ;
- Le risque de report possible de l'usage vers d'autres classes d'antibiotiques pour laquelle la résistance ou l'importance pour la médecine humaine est autant voire plus importante ;

- L'existence de plusieurs projets de recherches en cours au sein de l'Anses pour poursuivre la caractérisation du danger et l'évaluation de risque lié à l'usage de la colistine en médecine vétérinaire au niveau national. Ces projets bénéficiant d'un financement par le plan national EcoAntibio 2017 et l'ANR.

8.2. Considérant les mesures de gestion déjà prises :

- *Suite au Référé Article 35 du 16 Mars 2015 sur la colistine seule*
 - Suppression de l'utilisation en prévention ;
 - Réduction de la durée de traitement à 7 jours maximum ;
 - Harmonisation de la dose ;
 - Harmonisation des RCP concernant les recommandations d'usage prudent ;
- *Suite au Référé Article 35 du 14 Juillet 2016 concernant la colistine en association*
 - Suppression de toutes les autorisations de mises sur le marché concernant les médicaments vétérinaires administrés par voie orale contenant de la colistine en association avec d'autres antimicrobiens.

8.3. Considérant les recommandations de l'AMEG

- Objectif de réduction de l'usage pour atteindre un niveau inférieur à 5 mg/PCU pour les pays fortement consommateurs et un niveau inférieur à 1 mg/PCU pour les pays faiblement consommateurs.

L'Anses recommande

- de ne pas inscrire la colistine sur la liste des AIC ;
- de renforcer le contrôle de la surveillance de l'usage de la colistine et de fixer un objectif de réduction de l'utilisation (ALEA) de moitié pour la colistine en 3 ans ;
- de mettre en place un suivi étroit de la résistance pour détecter précocement tout signal d'alerte susceptible de modifier l'analyse bénéfique/risque de l'utilisation de la colistine en médecine vétérinaire ;
- de réviser cet avis en fonction des avancées et découvertes scientifiques, et des résultats des données de surveillance afin de réévaluer le risque de l'usage de la colistine en médecine vétérinaire et de pouvoir catégoriser la colistine;
- de poursuivre la recherche scientifique relative à la compréhension des mécanismes de résistance et de transmission de la résistance liés à la colistine ;
- de développer des tests de diagnostic rapides et fiables pour identifier la sensibilité des germes à la colistine ;

- de poursuivre la recherche de traitements alternatifs aux antibiotiques, notamment à la colistine pour le traitement et ou la métaphylaxie en filière animale.
- Et d'adapter la durée de traitement à l'état clinique de l'animal et de réduire la durée de traitement au strict minimum pour atteindre l'objectif thérapeutique.

Dr Roger Genet

MOTS-CLES

Médecine vétérinaire – antibiotiques – colistine

BIBLIOGRAPHIE**Références bibliographiques :**

- **Rapports et documents officiels**
- ANSM – Liste des antibiotiques critiques. Rapport ANSM. Actualisation 2015, publication février 2016.
- AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à la saisine 2015-SA-0118 concernant les antibiotiques critiques pour la santé humaine et animale. 23 septembre 2015.
- BelVetSac, 2015. 'Belgian Veterinary Surveillance of Antimicrobial Consumption (BelVetSac) National consumption report 2014. http://www.belvetsac.ugent.be/pages/home/BelvetSAC_report_2014%20finaal.pdf
- Décret n° 2016-317 du 16 mars 2016 relatif à la prescription et à la délivrance des médicaments utilisés en médecine vétérinaire contenant une ou plusieurs substances antibiotiques d'importance critique. JORF n°0066 du 18 mars 2016 texte n° 40.
- ECDC Rapid Risk Assessment. Plasmid-mediated colistin resistance in Enterobacteriaceae. 13 June 2016.
- ECDC summary of the latest data on antibiotic consumption in the European Union. ECDC/ESAC-Net surveillance data. November 2015.
- EFSA scientific report. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. EFSA Journal, 14(2):4380. December 2015.
- EMA/AMEG. Updated advice on the use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health. EMA/231573/2016. 26 May 2016.
- EMA, 2013. 'Use of colistin products in animals within the European Union: development of resistance and possible impact on human and animal health (EMA/755938/2012)', http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2013/07/WC500146813.pdf

- EMA, 2014. 'Answers to the requests for scientific advice on the impact on public health and animal health of the use of antibiotics in animals - Answer to the second request from the EC (ranking of antibiotics); Answer to the third request from the EC (new antibiotics); Answer to the fourth request from the EC (risk mitigation options) (EMA/381884/2014)',
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Other/2014/07/WC500170253.pdf
 - EMA/CVMP, 2010. 'Opinion following an Article 35 referral for veterinary medicinal formulations containing colistin at 2 000 000 IU per ml and intended for administration in drinking water to food producing species (EMA/189829/2010)',
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Colistin_35/WC500093733.pdf
 - EMA/CVMP, 2015. 'Opinion following an Article 35 referral for veterinary medicinal products containing colistin to be administered orally (EMA/160340/2015)',
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Referrals_document/Colistin_oral_35/WC500185448.pdf
 - EMA/ESVAC, 2015. 'European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption. Sales of veterinary antimicrobial agents in 26 EU/EEA countries in 2013 (EMA/387934/2015). Fifth ESVAC report.
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2015/10/WC500195687.pdf
- **Publications scientifiques à comité de lecture**
- Amachawadi, R.G., H.M. Scott, S. Nitikanjana, J. Vinasco, M.D. Tokach, S.S. Dritz, J.L. Nelssen, R.D. Goodband, and T.G. Nagaraja, 2015. 'Nasal carriage of *mecA*-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs exhibits dose-response to zinc supplementation', Foodborne pathogens and disease, Vol. 12 (2), pp.159-163.
 - Haenni, M., L. Poirel, N. Kieffer, P. Châtre, E. Saras, V. Métayer, R. Dumoulin, P. Nordmann, and J.-Y. Madec, 2016. 'Co-occurrence of extended spectrum β lactamase and *MCR-1* encoding genes on plasmids', The Lancet infectious diseases, Vol. 16 (3), pp.281-282.
 - Haenni M., Métayer V., Gay E., Madec J.-Y. (2016) Increasing trends in *mcr-1* prevalence among ESBL-producing *E. coli* in French calves despite decreasing exposure to colistin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 60: 6433-6434

- Liu, Y.-Y., Y. Wang, T.R. Walsh, L.-X. Yi, R. Zhang, J. Spencer, Y. Doi, G. Tian, B. Dong, and X. Huang, 2015. 'Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study', *The Lancet infectious diseases*, Vol. 16 (2), pp.161-168.
- Malhotra-Kumar, S., B.B. Xavier, A.J. Das, C. Lammens, P. Butaye, and H. Goossens, 2016a. 'Colistin resistance gene *mcr-1* harboured on a multidrug resistant plasmid', *The Lancet infectious diseases*, Vol. 16 (3), pp.283-284.
- Monaco, M., T. Giani, M. Raffone, F. Arena, A. Garcia-Fernandez, S. Pollini, S.-I.C. Network Eu, H. Grundmann, A. Pantosti, and G. Rossolini, 2014. 'Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014', *Euro surveillance: bulletin europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, Vol. 19 (42)
- Olaitan, A.O., S. Chabou, L. Okdah, S. Morand, and J.-M. Rolain, 2015. 'Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene', *The Lancet infectious diseases*, Vol. 16 (2), pp.144-145.
- Olaitan, A.O., S. Morand, and J.-M. Rolain, 2014. 'Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria', *Frontiers in microbiology*, Vol. 5 (643).
- Perrin-Guyomard, A., M. Bruneau, P. Houée, K. Deleurme, P. Legrandois, C. Poirier, C. Soumet, and P. Sanders, 2016. 'Prevalence of *mcr-1* in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014', *Euro surveillance: bulletin europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, Vol. 21 (6),
- Poirel, L., N. Kieffer, N. Liassine, D. Thanh, and P. Nordmann, 2016. 'Plasmid-mediated carbapenem and colistin resistance in a clinical isolate of *Escherichia coli*', *The Lancet infectious diseases*, Vol.
- Skov RL and DL Monnet. Plasmid-mediated colistin resistance –*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. *Eurosurveillance*. 2016
- Webb, H.E., S.A. Granier, M. Marault, Y. Millemann, H.C. den Bakker, K.K. Nightingale, M. Bugarel, S.A. Ison, H.M. Scott, and G.H. Loneragan, 2015. 'Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene', *The Lancet infectious diseases*, Vol. 16 (2), pp.147-149.
- Xavier B.B., C. Lammens, R. Ruhal, S. Kumar-Singh, P. Butaye, H. Goossens and S. Malhotra-Kumar. 2016. Identification of a novel plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-2*, in *Escherichia coli*, Belgium, June 2016. Rapid communication. *Eurosurveillance* (21)27:pi=30280..

- Zhang, R., Y. Huang, E.W.-c. Chan, H. Zhou, and S. Chen, 2016. 'Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene', *The Lancet. Infectious diseases*, Vol. 16 (3), p.291.