



AGENCE FRANÇAISE  
DE SÉCURITÉ SANITAIRE  
DES ALIMENTS

Maisons-Alfort, le 14 mai 2007

## Avis

### de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à une demande d'autorisation d'essais avec un produit de la catégorie des histomonostatiques à base de sulfate de paromomycine chez les dindes

LA DIRECTRICE GÉNÉRALE

#### Rappel de la saisine :

Par courrier reçu le 5 février 2007, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie par la Direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes, d'une demande d'avis relative à une demande d'autorisation d'essais avec un produit de la catégorie des histomonostatiques à base de sulfate de paromomycine chez les dindes. Il est envisagé de constituer ultérieurement un dossier d'autorisation d'urgence selon l'article 15 du règlement (CE)1831/2003.

Ce dossier entre dans le cadre de l'article 3 du règlement (CE) n° 1831/2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation animale.

#### Contexte

Le pétitionnaire demande l'autorisation de réaliser un essai terrain sur un grand nombre d'élevages de dindes avec un produit de la catégorie des histomonostatiques à base de sulfate de paromomycine. Le produit, objet de la demande, contient au maximum 10 g de sulfate de paromomycine par kilogramme de produit. Le taux d'incorporation du produit dans l'aliment est tel que la concentration en paromomycine de l'aliment est au maximum de 400 mg de paromomycine par kilogramme d'aliment.

Les nombres de lots que le pétitionnaire propose de supplémenter sont, d'une part, l'intégralité des lots de reproducteurs (23 000 reproducteurs d'un jour par semaine) mis en place à partir d'avril 2007 et, d'autre part une proportion représentative du cheptel chair (au minimum 742 éleveurs concernés<sup>1</sup>).

#### Méthode d'expertise

Le dossier est expertisé en conformité avec le règlement (CE) n° 1831/2003 relatif aux additifs destinés à l'alimentation animale.

Le dossier comprend un protocole d'essai destiné à mesurer l'efficacité de la molécule et un autre protocole destiné à estimer l'impact possible de la molécule sur la résistance aux antibiotiques.

L'analyse du dossier fourni par le pétitionnaire est faite en regard de la documentation disponible sur la paromomycine et sur les molécules de la même famille.

27-31, avenue  
du Général Leclerc  
94701

Maisons-Alfort cedex  
Tel 01 49 77 13 50  
Fax 01 49 77 26 13  
www.afssa.fr

REPUBLIQUE  
FRANÇAISE

<sup>1</sup> Soit une estimation minimale de l'ordre de 6 millions de dindes incluses dans l'essai en considérant 7500 dindes par éleveur

Après consultation du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale », réuni les 27 mars et 24 avril 2007, et après examen des questions soulevées par le volet antibiorésistance de cette étude lors de deux conférences téléphoniques réunissant des experts du Comité d'experts spécialisé « Alimentation animale » et des experts microbiologistes extérieurs, l'Afssa émet l'avis suivant :

## Argumentaire

### **1- Sur un plan réglementaire**

L'Afssa relève que :

- Le sulfate de paromomycine n'a pas le statut d'additif autorisé au niveau communautaire pour aucune espèce animale au titre du règlement (CE) n° 1831/2003 ;
- Selon les dispositions de l'article 3 de ce règlement, « *les États membres peuvent autoriser, à des fins de recherche scientifique, l'utilisation en tant qu'additifs de substances non autorisées au niveau communautaire, à l'exception des antibiotiques...* » ;
- Selon le considérant 6 du même règlement, « *toute action de la Communauté en matière de santé humaine, de santé animale et d'environnement devrait être fondée sur le principe de précaution* » ;
- Selon le considérant 26 du même règlement, « *il faudrait également interdire toute nouvelle autorisation d'antibiotiques en tant qu'additifs pour l'alimentation animale* » ;
- L'article 11 du même règlement envisage « *une décision sur la suppression des coccidiostatiques et des histomonostatiques en tant qu'additifs pour l'alimentation animale d'ici le 31 décembre 2012* ».

La définition du statut du sulfate de paromomycine, dans le contexte de cette demande d'essai et de ces dispositions réglementaires relève des administrations.

### **2- Sur un plan scientifique**

#### ***Innocuité pour l'utilisateur***

La fiche de sécurité du produit objet de la demande est renseignée et contient toutes les mesures préventives et curatives nécessaires à la gestion du risque pour l'utilisateur en cas d'ingestion, d'inhalation ou de contact cutané ou oculaire dans le cadre des essais de terrain en élevage de dindes.

#### ***Innocuité pour l'environnement***

Les éléments bibliographiques disponibles indiquent une faible toxicité de la paromomycine pour l'environnement aquatique. Ainsi, les CE<sub>50</sub> 48h (concentration efficace 50 après 48h d'exposition) de la paromomycine pour *Artemia* et *Daphnia magna* sont de 2 220 mg/l et de 503 mg/l respectivement. Par ailleurs, la CL<sub>50</sub> 24h (concentration létale 50 après 24h d'exposition) de la paromomycine pour les larves de crevettes est de 125 µg/l.

L'usage du produit objet de la demande dans le cadre des essais de terrain en élevage de dindes n'est *a priori* pas susceptible de présenter un risque pour l'environnement. Il est néanmoins rappelé qu'une évaluation du risque environnemental de phase I voire de phase II serait indispensable dans le cas d'une demande d'autorisation du produit en tant qu'additif pour l'alimentation animale.

#### ***Innocuité pour l'animal cible***

La toxicité aiguë de la paromomycine par voie orale est très faible (dose minimale létale chez le rat = 10 000 mg/kg p.c.).

La toxicité à long terme de la paromomycine par voie orale est très faible (dose sans effet chez le rat = 2 000 mg/kg d'aliment ; dose sans effet chez le chien = 100 mg/kg d'aliment). Par

ailleurs, des essais de toxicité indiquent que la paromomycine n'est ni mutagène, ni cancérogène, ni reprotoxique.

### **Innocuité pour le consommateur**

La paromomycine est inscrite à l'annexe 1 du règlement 2377/90/CEE qui liste les substances pharmacologiquement actives pour lesquelles des LMR (Limites Maximales de Résidus) sont fixées dans les denrées des espèces cibles. Les LMR de la paromomycine sont, pour toutes les espèces animales de production, de 500 µg/kg dans le muscle et de 1 500 µg/kg dans le foie et le rein (EMEA/MRL/825/02-FINAL). Les LMR ont été fixées en se basant sur une DJA (Dose Journalière Acceptable) microbiologique de 25 µg/kg p.c./j.

Une étude de déplétion résiduelle est disponible chez le poulet de chair chez lequel la paromomycine a été administrée à la dose quotidienne de 280 mg/kg d'aliment pendant 5 jours, les temps d'abattage étant de 0, 2, 4, 7, 14 et 21 jours après la fin du traitement. Aucun résidu de paromomycine n'a été détecté dans le muscle et le foie à aucun des temps d'abattage (limite de détection de la méthode microbiologique de 100 µg/g). Les temps au terme desquels aucun résidu de paromomycine n'est détecté dans le rein et la graisse/peau sont de 4 et 14 jours respectivement.

Etant donné la très faible résorption par voie orale de la paromomycine et l'étude de déplétion résiduelle de la paromomycine dans les tissus du poulet, le temps de retrait de 28 jours proposé par le pétitionnaire est acceptable pour garantir l'innocuité du produit pour le consommateur vis-à-vis des résidus de la paromomycine.

### **Résistance bactérienne**

La paromomycine fait partie de l'une des familles d'antibiotiques vis-à-vis desquelles les résistances se développent le plus rapidement. Par ailleurs, des mécanismes de résistance croisée existent entre antibiotiques de la famille des aminoglycosides à cycle déoxystreptamine, tels que la néomycine, la lividomycine et la kanamycine, molécules utilisées en thérapeutique humaine et/ou animale. Parmi les antibiotiques de la famille aminoglycosides – aminocyclitols, la néomycine et la spectinomycine sont utilisées depuis des années en élevages de poulets et de dindes.

Du fait de l'absence d'absorption digestive des aminoglycosides, l'effet de sélection induit par une supplémentation orale à base de paromomycine s'exerce sur les bactéries de la flore digestive.

A l'heure actuelle, la sensibilité des bactéries sentinelles (*Escherichia coli* et Entérocoques) et zoonotiques (*Campylobacter* ou *Salmonella*) de la flore digestive des volailles, est prise en compte dans le cadre des plans de surveillance de l'antibiorésistance menés en filière avicole depuis 1999 par l'Afssa dans le cadre d'une convention avec la DGAI. Jusqu'à présent, seuls les résultats concernant les colibacilles, entérocoques et campylobacters des poulets de chair sont disponibles. Les taux de résistance vis-à-vis de différents aminoglycosides tels que publiés dans le FARM (French antimicrobial monitoring program) sont présentés dans le tableau.

### **Taux de résistance des Salmonelles (isolées du secteur santé et production animale, volailles) et des bactéries zoonotiques ou sentinelles isolées de la flore digestive de poulets (FARM)**

Espèce	gentamicine	kanamycine	apramycine	néomycine	streptomycine
<i>Salmonella</i> *	0,4%	1%			40,5%
<i>Campylobacter</i> **	0%				
<i>E. coli</i> **	1-6%		4-5%	11-14%	36-39%
<i>Enterococcus faecium</i> **	0%				

\*Données A. Brisabois, Afssa LERQAP

\*\* : données FARM

Une autre donnée issue du rapport de la convention antibiorésistance 1999 indique que près de 30% des échantillons de cæcums de poulets de chair prélevés à l'abattoir présentaient une flore colibacillaire dont au moins 1% des bactéries était résistant à la gentamicine (isolement sur milieux contenant 8 mg/l de gentamicine). Depuis 1999, la prévalence du portage d'entérobactéries résistantes à la gentamicine (ou d'autres aminosides) n'a pas été réévaluée.

Il n'existe pas de donnée concernant la résistance des souches bactériennes de la flore digestive vis-à-vis de la paromomycine, mais 11 à 14 % des souches d'*Escherichia coli* résistantes à la néomycine sont les plus susceptibles de résister aussi à la paromomycine.

→ Un protocole de surveillance, sur un nombre limité d'élevages, de la résistance des bactéries vis-à-vis de la paromomycine devrait être envisagé afin de déterminer le risque de diffusion de résistance croisée à la néomycine ou à la Kanamycine, antibiotiques utilisés en santé animale.

En médecine humaine, les données de résistance fournies par l'ONERBA (réseau REUSSIR) pour *E. faecium* ou *E. fecalis* avoisinent 10% de souches résistantes à la gentamicine (500 mg) et environ 55% pour la kanamycine (1000 mg). Pour *E. coli*, les pourcentages de souches résistantes pour 2003, sont de 2% pour la nétilmicine, et 4% pour la gentamicine ou la tobramycine.

Le danger lié à la sélection de souches résistantes à la paromomycine apparaît faible pour l'Homme au vu de la faible utilisation de l'antibiotique en médecine humaine. Par contre, une sélection des bactéries résistantes à la nétilmicine et l'amikacine, antibiotiques de la famille des aminoglycosides – aminocyclitols et utilisées depuis des années en médecine humaine, peut présenter un réel danger de santé publique.

→ Un protocole de surveillance de la résistance des bactéries vis-à-vis de la nétilmicine et amikacine devrait être envisagé, en complément de la surveillance de la résistance induite par la paromomycine, pour garantir l'innocuité du produit vis-à-vis du consommateur.

L'examen du protocole de surveillance de l'antibiorésistance joint avec le dossier soumis, a soulevé les commentaires suivants :

- L'histomonose est une maladie à faible occurrence : 50 à 60 foyers ont été déclarés sur l'année 2006. Cette maladie semble toucher majoritairement les dindes futures reproductrices pour lesquelles la mortalité et les conséquences économiques sont importantes.
- Les risques de sélection de résistance à la paromomycine et aux autres antibiotiques de la famille des aminoglycosides sont importants et il est donc essentiel de réaliser préalablement à tout essai d'efficacité (station ou terrain), une étude expérimentale sur un nombre limité de lots de dindes, destinée à déterminer les taux de résistances des bactéries vis-à-vis des molécules appartenant à la famille de la paromomycine et utilisées en santé animale et médecine humaine.
- Compte tenu du fait que l'histomonose semble toucher majoritairement les dindes futures reproductrices, l'essai d'antibiorésistance devrait se limiter uniquement à cette catégorie d'animaux.
- Il existe un risque important d'augmentation des salmonelles par le phénomène de résistance bactérienne sur les lots traités avec la paromomycine. Les lots traités devraient suivre un dépistage mensuel salmonelle afin d'analyser leur sensibilité aux aminosides.
- Le risque lié aux résidus de paromomycine dans la viande de dindes issues des futurs reproducteurs est nul la période de retrait du produit correspond à la phase de ponte des reproducteurs, soit environ 30 semaines (un délai d'attente de 28 jours est acceptable pour garantir l'innocuité du produit). En ce qui concerne les animaux de tri

(futurs reproducteurs qui, à l'issue de la période d'élevage n'entrent pas en production et sont abattus), le délai de retrait de 28 jours doit être observé avant abattage.

- Concernant le risque lié à la diffusion de bactéries résistantes dans la chaîne alimentaire, le temps de production des animaux traités (30 semaines) est suffisamment long pour permettre d'obtenir les résultats de l'essai avant que les animaux soient abattus. Si un problème de santé publique était mis en évidence (résistance croisée aux antibiotiques utilisés en médecine humaine), les animaux ne devraient pas entrer dans la chaîne alimentaire.

### Conclusions et recommandations

L'Afssa recommande d'effectuer un essai de suivi des antibiorésistances avant de réaliser tout essai d'efficacité concernant l'utilisation du sulfate de paromomycine dans l'alimentation des dindes. Elle émet en conséquence un avis défavorable à la demande d'autorisation d'essais avec ce produit de la catégorie des histomonostatiques à base de sulfate de paromomycine chez les dindes dans l'attente des résultats d'un essai antibiorésistance réalisé selon le protocole joint en annexe.

Dans la perspective d'un dépôt de demande d'autorisation d'essai d'efficacité sur la prévention de l'histomonose avec cette molécule, il est observé que la taille de l'effectif des lots traités devrait être limitée à ce qui est strictement nécessaire pour observer l'efficacité de la molécule vis-à-vis de l'histomonose.

**Mots clés** : alimentation animale, paromomycine, histomonostatique, dinde, essais, antibiorésistance

La Directrice générale de l'Agence française  
de sécurité sanitaire des aliments

Pascale BRIAND

## Annexe

**Protocole de suivi des antibiorésistances**

Le protocole modifié est réduit à une phase au cours de la quelle seront effectués :

- 1) Une étude préliminaire.
- 2) Un suivi mensuel de dix troupeaux de futurs reproducteurs traités (comparés à dix lots non traités.)
- 3) L'analyse en fin de traitement de 40 lots de futurs reproducteurs traités (comparés à 40 lots non traités.)

**1 - Etude préliminaire : étude des résistances aux aminoglycosides dans des populations bactériennes de la flore digestive de dindes reproductrices à partir de prélèvements disponibles à l'Afssa site de Ploufragan au début de l'étude (lots de dindes non supplémentées).**

L'objet de l'étude est de construire l'histogramme de distribution des niveaux de sensibilités (CMI ou diamètres d'inhibition) vis-à-vis de la paromomycine, de la nétilmicine et de l'amikacine des populations bactériennes de *E. coli*, *Campylobacter*, Entérocoques et Staphylocoques à partir des souches isolées des prélèvements issus de l'enquête communautaire « Salmonelles – dindes » et effectués fin 2006-début 2007.

Une recherche de sous populations résistantes déjà présentes pour chacun des germes cités par isolement sur milieux contenant ces antibiotiques sera de plus effectuée.

Il est également prévu lors de cette première phase de déterminer pour chaque espèce bactérienne et chacun des antibiotiques, la fréquence de mutation par passage sur milieux contenant les aminoglycosides cités.

Cette première phase permettra de connaître la situation avant la supplémentation des dindes futures reproductrices et servira à définir les concentrations de chacun des aminoglycosides à incorporer dans les milieux de cultures pour l'isolement de sous-populations résistantes pour le suivi des lots traités.

**2 - Suivi mensuel de dix lots de futurs reproducteurs traités ou non traités**

Il est prévu de réaliser le suivi mensuel de 10 lots de futurs reproducteurs supplémentés (pool de 5 à 10 fientes fraîches par lot et par date de prélèvement, prélèvements mensuels) et le suivi de 10 lots de futurs reproducteurs non supplémentés à titre de comparaison. Les lots seront suivis pendant toute la durée du traitement (17 semaines), à la fin de la période de retrait chez les dindes de tri et en fin de période d'élevage.

Les prélèvements seront traités de manière à évaluer la sensibilité d'un isolat (population dominante) de *E. coli*, *Campylobacter*, Entérocoques et Staphylocoques par pool et déterminer la sensibilité de ces isolats soit par antibiogramme (*E. coli*, Entérocoques et Staphylocoques) soit par détermination des CMI (*Campylobacter*) vis-à-vis des principaux aminoglycosides d'intérêt en médecine humaine ou vétérinaire et d'autres familles d'antibiotiques couramment étudiés.

Les prélèvements de fientes seront également ensemencés sur milieux supplémentés en paromomycine, nétilmicine ou amikacine pour la recherche de sous-populations résistantes vis-à-vis de la paromomycine, de la nétilmicine ou de l'amikacine. La sensibilité des isolats obtenus sera également analysée (antibiogramme ou CMI comme indiqué précédemment.)

### 3 - Recherche ponctuelle sur 40 lots de futurs reproducteurs traités

Des analyses identiques à celles portant sur les lots étudiés mensuellement seront effectuées sur 40 lots de futurs reproducteurs traités, mis en place progressivement au cours de la période, et sur 40 lots non traités (mis en place avant mai 2007). Les analyses seront effectuées uniquement en fin de période de traitement (vers 17 semaines) et après une période correspondant à la période de retrait des animaux de tri.

### 4 - Analyse des Salmonelles

Si des lots de futurs reproducteurs traités sont trouvés porteurs de Salmonelles lors des contrôles officiels effectués pour ce dépistage, la souche sera envoyée à l'Afssa (Ploufragan ou Maisons Alfort) pour analyse de sa sensibilité (aminoglycosides et autres familles d'antibiotiques.)

**Le suivi mensuel des dix premiers lots est prévu afin de permettre de suspendre l'essai terrain en cas de détection de problème (émergence rapide et/ou massive de germes antibiorésistants vis-à-vis de la nétilmicine ou de l'amikacine). En absence de détection de problème majeur, la première phase est effectuée en totalité. Un rapport des résultats obtenus sur les lots traités et non traités sera rédigé et soumis au comité de pilotage de l'étude, dont la composition sera arrêté en concertation avec l'Afssa-Derns.**

**Le comité se prononcera alors sur la possibilité de mettre en place une étude sur les lots de chair en 2008.**

Cette première phase d'étude aboutira également à la publication de protocoles d'analyses susceptibles d'être transférés aux laboratoires d'analyses vétérinaires pour la deuxième phase.

**Tableau 1:** Nombre de lots traités ou non traités mis en place et suivis au cours de la phase 1 du protocole Afssa de surveillance des éventuelles antibiorésistances induites par l'usage de sulfate de paromomycine.

Statut des futurs reproducteurs	
non supplémenté	supplémenté
<p><b>10</b> lots de futurs reproducteurs : suivi mensuel pendant 17 semaines, en fin de la période de retrait des dindes de tri, puis à 27 semaines (fin de la période d'élevage)</p> <p><b>40</b> lots de futurs reproducteurs (analyse ponctuelle à 17 semaines et en fin de période de retrait des dindes de tri)</p>	<p><b>10</b> lots de futurs reproducteurs : suivi mensuel pendant 17 semaines, en fin de la période de retrait des dindes de tri, puis à 27 semaines (fin de la période d'élevage)</p> <p><b>40</b> lots de futurs reproducteurs (analyse ponctuelle à 17 semaines et en fin de période de retrait des dindes de tri)</p>

**Le nombre total de lots de futurs reproducteurs traités à mettre en place pour la surveillance des éventuelles antibiorésistances induites par l'usage de sulfate de paromomycine est donc de 50 lots de futurs reproducteurs, ce qui correspond en pratique à l'ensemble des lots mis en place sur une période de 10 semaines.**

La mise en place de lots de dindonneaux de chair traités ne pourra être faite qu'en 2008, après l'obtention de résultats satisfaisants sur les lots de futurs reproducteurs.