

Résistance à la tétracycline et diversité génétique d'*Escherichia coli* isolés de porcs biologiques et de porcs conventionnels

Annaëlle KEROUANTON (1,3), Valérie ROSE (1,3), Bérengère CHIDAINE (1,3), Isabelle KEMPF (2,3), Martine DENIS (1,3)

(1) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Hygiène et Qualité des Produits Avicoles et Porcins,
BP 53, 22440 Ploufragan, France

(2) Anses, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Unité Mycoplasme/bactériologie, BP 53, 22440 Ploufragan, France

(3) Université Européenne de Bretagne, France

Annaelle.KEROUANTON@anses.fr

Comparison of organic and conventional pig productions on prevalence, antibiotic resistance and genetic diversity of *Escherichia coli*.

The objectives of this study were to assess the prevalence, tetracycline resistance level and genetic diversity of *Escherichia coli* isolated from organic pigs in comparison with conventional pigs. 25 organic and 25 conventional herds were considered in one slaughterhouse from April to October 2012. Colon content of 2 pigs per herd was sampled. For each pig, *E. coli* and tetracycline resistant *E. coli* (TET+E. coli) were enumerated. Level of tetracycline resistance was then calculated. Isolates were typed by PFGE using *XbaI* enzyme.

E. coli was detected for all the organic (n=50) and conventional pigs (n=50). TET+E. coli was detected for 49 organic (98%) and 48 conventional pigs (96%). The number of *E. coli* per gram of colon content was significantly higher for conventional (6.81 log₁₀ UFC/g) than for organic pigs (6.19 log₁₀ UFC/g) as well as the number of TET+E. coli with 6.33 log₁₀ UFC/g for conventional pigs and 5.68 log₁₀ UFC/g for organic pigs. Finally, the level of tetracycline resistance was also significantly higher (p=0.0033) for conventional (57.4%) than for organic pigs (37.9%). PFGE was carried out on 374 *E. coli*; they were distributed in 275 pulsotypes. The genetic diversity was very high (Dvalue=0.997). No pulsotype was common to both organic and conventional pigs.

Results suggest that farm managements may have an impact on the amount of *E. coli* excreted and on their antibiotic resistance. However, it is difficult to estimate the impact on human health with 0.65 log₁₀ UFC/g difference between the two productions. Diversity of strains is so high that it is difficult to associate strains to a production.

INTRODUCTION

Certaines études montrent que les animaux issus d'élevage biologique sont porteurs, dans leurs fèces, de souches moins résistantes aux antibiotiques (Nulsen *et al.*, 2008). Ce phénomène est peu documenté pour la production porcine. Les différences de pratiques d'élevage entre les productions biologiques et conventionnelles (accès à l'extérieur, restriction de l'utilisation des antibiotiques) peuvent influencer la flore bactérienne, y compris la résistance aux antibiotiques de cette flore. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer la prévalence, la résistance à la tétracycline et la diversité génétique d'isolats d'*E. coli* obtenus à partir d'échantillons de colon prélevés à l'abattoir sur des porcs biologiques et conventionnels.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Echantillonnage

Les prélèvements de colon ont été réalisés dans un même abattoir, entre avril et octobre 2012, avant l'étape de

d'éviscération, sur 25 lots de porcs biologiques et 25 lots de porcs conventionnels. Deux porcs par lot ont été prélevés.

Au total, 50 prélèvements de porcs biologiques et 50 prélèvements de porcs conventionnels ont été analysés.

1.2. Dénombrements des *E. coli* totaux et des *E. coli* résistants à la tétracycline

10 à 25g de contenu fécal ont été dilués au 1/10^{ème} dans de l'eau peptonnée tamponnée puis dilués en série dans du tryptone sel. Une partie des dilutions a été complétée avec de la tétracycline jusqu'à une concentration finale de 64 mg/L (Wu *et al.* 2008).

Les dénombrements ont été réalisés sur Pétrifilm™ (3M™, Cergy-Pontoise, France).

Les colonies caractéristiques ont été dénombrées pour évaluer le nombre d'*E. coli* par gramme de contenu fécal (UFC_T/g) et le nombre d'*E. coli* résistants à la tétracycline par gramme de contenu fécal (UFC_R/g).

Le niveau de résistance à la tétracycline (%_UFRCR) a été obtenu par le rapport UFC_R/g sur UFC_T/g.

1.3. Typage et analyse des profils génétiques

Les isolats ont été caractérisés par RFLP-PFGE en utilisant l'enzyme *Xba*I (Ribot *et al.*, 2006). Les profils PFGE ont été analysés par BioNumerics et l'index de diversité de Simpson a été calculé (Hunter, 1990).

2. RESULTATS

Les contenus fécaux des 50 porcs biologiques (100%) et des 50 porcs conventionnels (100%) étaient positifs à *E. coli*. Des isolats d'*E. coli* résistants à la tétracycline ont été détectés dans le contenu fécal de 49 porcs biologiques (98%) et de 48 porcs conventionnels (96%). Le nombre d'*E. coli* par gramme de contenu fécal était significativement plus important pour les porcs conventionnels (6.81 log₁₀ UFC/g) que pour les porcs biologiques (6.19 log₁₀ UFC/g) ($p=0.0033$). Une différence significative du nombre d'*E. coli* résistant à la tétracycline par gramme de contenu fécal a également été observée entre porcs biologiques (5.68 log₁₀ UFC/g) et porcs conventionnels (6.33 log₁₀ UFC/g) ($p=0.00021$). Le niveau de résistance à la tétracycline était également significativement plus élevé pour les porcs conventionnels (57.4%) ($p=0.0033$).

Au total, 373 *E. coli* et *E. coli* résistants à la tétracycline ont été collectés à partir des contenus fécaux, 195 provenant de porcs biologiques et 178 de porcs conventionnels. Les isolats se sont divisés en 277 profils PFGE après restriction par *Xba*I : 142 pour les isolats provenant de porcs biologiques et 135 pour ceux provenant de porcs conventionnels.

Aucun profil PFGE commun aux deux types de productions, ni cluster spécifique de l'une ou l'autre des productions n'a pu être mis en évidence. L'index de diversité était très élevé ($ID \geq 0.99$) quelque soit le type de production et l'origine des souches (Pétrifilm sans ou avec tétracycline).

Les isolats présentant un profil PFGE identique provenaient du même échantillon ou du même troupeau. Seul un profil PFGE était commun à des isolats provenant d'échantillons de porcs biologiques échantillonnés à des dates différentes.

CONCLUSION

Tous les porcs analysés étaient positifs à *E. coli* et presque tous également à *E. coli* résistants à la tétracycline. Cependant, un niveau plus faible de résistance à la tétracycline a été mis en évidence pour les isolats issus de porcs biologiques. Cette différence peut être liée aux contaminations des porcs biologiques par des isolats d'*E. coli* présents naturellement dans l'environnement et se montrant plus sensibles aux antibiotiques. La restriction de l'utilisation des antibiotiques en production biologique peut également avoir impacté positivement le niveau de résistance à la tétracycline des souches d'*E. coli*. Cependant la différence de dénombrement d'isolats résistants à la tétracycline entre porcs biologiques et porcs conventionnels n'est, dans cette étude, que de 0,65 log₁₀. Cela n'est sans doute pas suffisant pour espérer un impact en santé publique.

La diversité génétique des isolats s'est montrée très élevée quelque soit les types de production. Pour une étude de caractérisation de la population totale d'*E. coli*, cette méthode n'est peut-être pas la plus adaptée.

REMERCIEMENTS :

Cette étude a été menée dans le cadre du projet Safeorganic (financement ERA NET CORE organic II). Merci à M. Even, E. Eveno and E. Boilletot pour leur aide lors des prélèvements et à S. Bougeard pour les analyses statistiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hunter P., 1990. Reproducibility and indices of discriminatory power of microbial typing methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 28, 1903-5.
- Nulsen M.F., Mor M.B., Lawton D.E.B., 2008. Antibiotic resistance among indicator bacteria isolated from healthy pigs in New Zealand. *New Zealand Vet. J.* 56, 29-35.
- Ribot E.M., Fair M.A., Gautom R., *et al.*, 2006. Standardization of pulsed-field gel electrophoresis protocols for the subtyping of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, and *Shigella* for PulseNet. *Foodborne Pathogene Disease*, 3, 59-67.
- Wu S., Chouliara E., Jensen L.B., Dalsgaard A. 2008. Evaluation of Petrifilm Select *E. coli* Count Plate medium to discriminate antimicrobial resistant *Escherichia coli*. *Acta Vet Scand* 50, 38.