

a été extrait et purifié. Le rendement et la qualité de l'ARNm ont été vérifiés par spectrophotométrie, puis 400 ng ont été transcrits en sens inverse. L'ADNc résultant a été utilisé pour l'analyse de qPCR. La spécificité de chaque réaction a été validée par une analyse de la courbe de fusion. L'expression génique a été normalisée en utilisant deux gènes de référence (*ihfB* et *rrsA*) et des changements relatifs dans l'expression génique calculés en utilisant la méthode $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Livak et Schmittgen, 2001).

1.2. Analyse statistique

Les données sont présentées sous la forme de moyenne \pm SEM (trois répliques). Elles ont été analysées avec une ANOVA unidirectionnelle, suivie d'un test post-hoc de Tukey (Graph Pad Prism 6). Les différences ont été jugées significatives à $P < 0,05$.

2. RESULTATS

2.1. Dosages CMI et CBM

E. coli K88 s'est révélé résistant à l'amoxicilline, à l'ampicilline, à la lincomycine, à la néomycine et à la pénicilline G jusqu'à 64 mg/L. Les valeurs CMI et CBM pour la doxycycline étaient respectivement de 32 mg/L et 64 mg/L, tandis que pour la colistine, les deux coïncidaient à 4 mg/L. Parmi les NIC, le thymol et le carvacrol se sont avérés les plus efficaces, avec des valeurs de MIC et de MBC à 1,87 mM, tandis que l'eugénol a inhibé la croissance bactérienne à 3,75 mM (tableau 1).

Tableau 1 – Valeurs CMI et CBM pour tous les AB et NIC¹ testés

AB			NIC		
Substance	CMI	CBM	Substance	CMI	CBM
Amoxicilline	>64	>64	Carvacrol	1,87	1,87
Ampicilline	>64	>64	Eugénol	3,75	3,75
Colistine	4	4	Thymol	1,87	1,87
Doxycycline	32	64			
Lincomycine	>64	>64			
Néomycine	>64	>64			
Pénicilline G	>64	>64			

¹Concentrations en mg/L pour AB ; concentrations en mM pour NIC

2.1. Analyse de l'expression génique

La doxycycline et la colistine ont régulé à la baisse tous les gènes analysés, à la seule exception de *luxS*, dont le niveau n'a pas été affecté par la doxycycline. Tous les NIC testés ont réduit de manière significative les niveaux d'ARNm des gènes de virulence d'*E. coli* K88, à la seule exception de la *faeG* pour l'eugénol ($P > 0,05$) (figure 1).

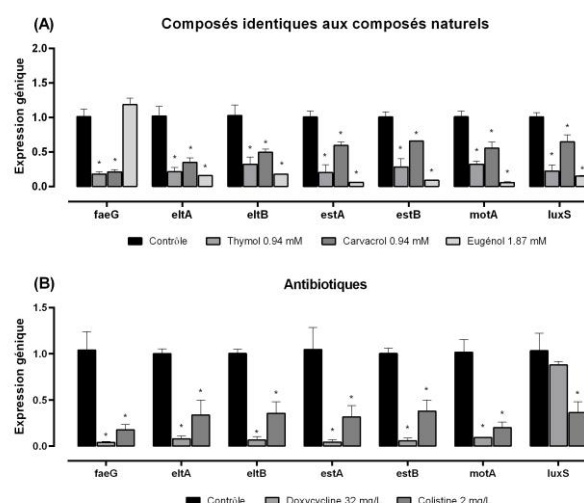


Figure 1 – Effet de AB et NIC sur les niveaux d'expression relatifs des gènes de virulence d'*E. coli* K88 impliqués dans l'adhésion cellulaire (*faeG*), la toxine thermolabile (*eltA* et *eltB*), les toxines thermostables (*estA* et *estB*), la motilité (*motA*), et le quorum détection (*luxS*). Les données sont exprimées sous forme de moyennes ($n = 3$) et SEM représentées par des barres verticales. Entre chaque substance les colonnes avec des astérisques étaient significativement différentes ($P < 0,05$).

3. DISCUSSION ET CONCLUSION

Alors que les antibiotiques représentent toujours une stratégie majeure dans la gestion des infections, notre souche de terrain *E. coli* K88 a montré un large spectre de résistance à de nombreux antimicrobiens. La souche n'était sensible qu'à la colistine et à la doxycycline, qui pouvaient également réprimer la virulence de la bactérie, en particulier sa motilité, ses fonctions adhésives et la production de toxines.

De nombreuses études signalent en permanence des profils de résistance croissants chez les espèces pathogènes d'*E. coli* isolées chez les porcs, ce qui indique que de nouvelles stratégies pour gérer les infections bactériennes sont nécessaires. Notre étude a prouvé que des NIC sélectionnés tels que le thymol, le carvacrol et l'eugénol peuvent contrôler efficacement la croissance d'*E. coli* K88.

Les NIC peuvent également moduler avec succès la virulence d'*E. coli* K88 : les niveaux d'expression de tous les gènes de virulence étudiés ont été considérablement réduits par les NIC, le thymol et le carvacrol étant les plus efficaces. La structure similaire du thymol, du carvacrol et de l'eugénol à celle des antibiotiques comme la colistine et la doxycycline pourrait suggérer un mécanisme d'action partagé qui entraîne une altération du métabolisme bactérien et des fonctions de virulence (Giovagnoni *et al.*, 2019).

Nos données proposent la virulence bactérienne comme cible pionnière contre l'infection à l'*E. coli* K88 et suggèrent les NIC comme une nouvelle approche thérapeutique pour gérer la PWD chez les porcelets.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Dubreuil J.D., Isaacson R.E., Schifferli D.M., 2016. Animal Enterotoxigenic Escherichia coli. *EcoSal Plus*, 7, 1-47.
- Giovagnoni G., Tugnoli B., Piva A., Grilli E., 2019. Organic Acids and Nature Identical Compounds Can Increase the Activity of Conventional Antibiotics Against Clostridium Perfringens and Enterococcus Cecorum In Vitro. *J. Appl. Poult. Res.*, 28, 1398-1407.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 25, 402-408.
- Rossi B., Toschi A., Piva A., Grilli E., 2020. Single components of botanicals and nature-identical compounds as a non-antibiotic strategy to ameliorate health status and improve performance in poultry and pigs. *Nutr. Res. Rev.*, 1-17.