

ANALYSE DE L'ANTIBIORÉSISTANCE DE LA FLORE COMMENSALE DE POISSON D'ÉLEVAGE ASIATIQUE

Samira Sarter*, Nguyen hoang nam Kha, Ratanaporn Leasing, Gérard Loiseau, Thierry Legavre, Thierry Goli, Didier Montet
 CIRAD - Département Amélioration des Méthodes pour l'Innovation Scientifique, TA40/16
 73 rue JF Breton - 34398 Montpellier cedex 5. France - E-mail : samira.sarter@cirad.fr

INTRODUCTION

La contribution de l'aquaculture à l'offre mondiale de poisson, de crustacés et de mollusques n'a cessé d'augmenter au cours des 30 dernières années, passant de 3,9% de la production totale en poids en 1970 à 27,3% en 2000 (FAO). L'utilisation des antibiotiques à des fins prophylactiques ou thérapeutiques a favorisé l'émergence de bactéries résistantes. Cette antibiorésistance peut affecter l'environnement aquacole et l'efficacité des traitements dans les élevages, mais aussi la santé humaine si la résistance est conférée à des bactéries pathogènes pour l'homme. Nous avons analysé l'antibiorésistance de la microflore commensale de poisson d'élevage asiatique. Ces premiers résultats sont actuellement approfondis à plus grande échelle sur les sites de production.

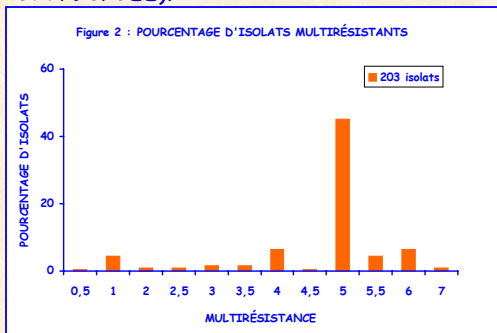
MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les échantillons de poisson (2 individus de 1,5 kg chacun) sont prélevés d'une ferme d'élevage de poissons asiatique. 203 isolats bactériens sont isolés au hasard à partir des mixtures d'ouïes et d'estomac. 10 antibiotiques sont testés : oxytétracycline OTC/30UI, acide oxolinique OA/10µg, chloramphénicol C/30µg, streptomycine S/10UI, triméthoprim-sulphaméthoxazole SXT/1,25µg-23,75µg, furanes FT/300µg, sulfamides SSS/200µg, acide nalidixique NA/30µg, fluméquine UB/30µg, ampicilline AM/10UI (disques de diffusion Comité de l'Antibiogramme de la SFM).

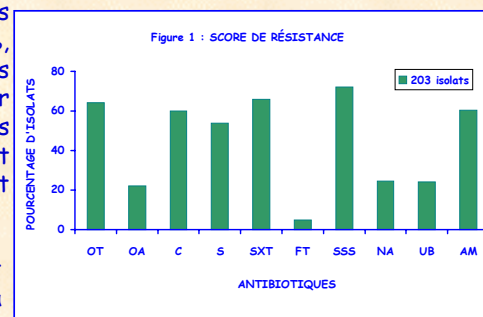
Les isolats sont caractérisés (Gram, oxydase, catalase, métabolisme du glucose, mobilité), et identifiés par l'intermédiaire des galeries biochimiques API System.

RÉSULTATS

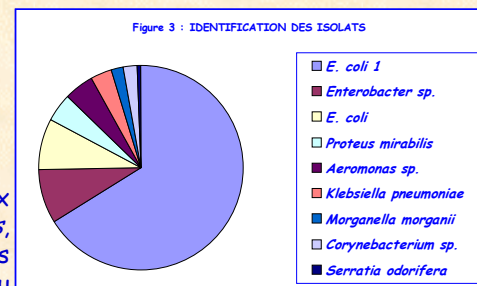
Sur 203 isolats, 53 sont sensibles et 150 résistent à au moins un antibiotique. Les fréquences de résistance les plus importantes ont été observées pour SSS 72%, S 66%, OTC 64%, C 60%, AM 60% et SXT 54%. Elles sont plus élevées que celles relatives aux quinolones (NA 25%, UB 24% et OA 23%). L'unique antibiotique pour lequel la quasi-majorité des souches est sensible est FT (9 souches sont résistantes et une est intermédiaire). Celui-ci, comme le Chloramphénicol est interdit d'utilisation chez les espèces animales alimentaires (Annexe IV du Règlement 2377/90/CEE).



Les isolats résistants peuvent présenter des résistances à plusieurs familles d'antibiotiques simultanément. La Figure 2 montre un pic correspondant à 45% des isolats qui résistent à 5 familles d'antibiotiques. 64% des isolats ont une multirésistance qui va de 4 aux 7 familles d'antibiotiques testées.

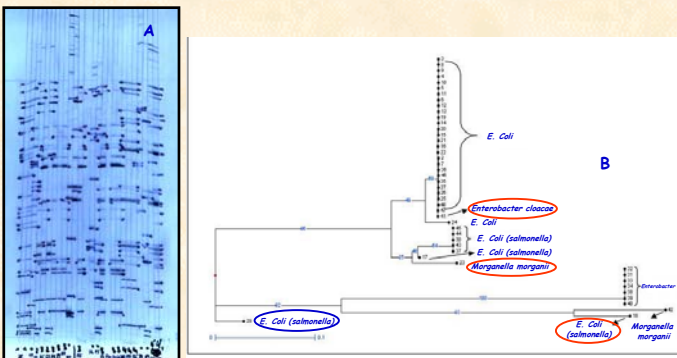


Les espèces isolées sont principalement des bacilles à Gram négatif appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae* (*E. coli* et *Enterobacter sp.*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella sp.*, *Serratia sp.*) et des *Vibrionaceae* (*Aeromonas sp.*) (Fig. 3). Les entérobactéries manifestent plus de résistance que les espèces appartenant au genre *Aeromonas*.



Caractérisation moléculaire

- A. Autoradiographie d'une expérience d'AFLP, mettant en évidence un certain nombre de niveau de bandes commun ou spécifique à chaque individu. Après codage de ces niveaux de bandes, un arbre de distance génétique est construit avec le logiciel DARwin 4.0.94.
- B. Arbre de distance génétique permettant de discriminer plus précisément les différentes souches bactériennes. La population analysée se compose d'*E. coli*, d'entérobactéries et de morganelles. Les souches 23 et 41 sont des *E. coli* tandis que la souche 18 serait une morganelle. Les *E. coli* se répartissent en 2 grands groupes composés respectivement en 2 et 3 sous-groupes. Enfin, un problème de codage de la souche 29 ne permet pas de la placer dans l'arbre.



CONCLUSION

Une meilleure connaissance de l'antibiorésistance des bactéries commensales du poisson d'élevage asiatique est essentielle pour aider les opérateurs dans ces pays à optimiser leur pratiques de traitement aux antibiotiques. Le couplage de méthodes d'identification classique, des antibiogrammes et de l'AFLP a permis de distinguer et de classer les clones bactériens en groupes et en sous-groupes.

ANALYSE DE L'ANTIBIORESISTANCE DE LA FLORE COMMENSALE DE POISSON D'ELEVAGE ASIATIQUE.

Samira Sarter*, Nguyen hoang nam Kha , Ratanaporn Leesing, Gérard Loiseau, Thierry Legavre, Thierry Goli, Didier Montet

Cirad. Département Amélioration des Méthodes pour l'Innovation Scientifique. TA40/16. 73 rue JF Breton. 34398 Montpellier cedex 5. France

*personne contact : samira.sarter@cirad.fr

RESUME :

L'étude porte sur l'analyse de la résistance bactérienne aux antibiotiques thérapeutiques majeurs utilisés en aquaculture (oxytétracycline OTC/30UI, acide oxolinique OA/10µg, chloramphénicol C/30µg, streptomycine S/10UI, triméthoprim-sulphaméthoxazoleSXT/1,25µg-23,75µg, furanes FT/300µg, sulfamides SSS/200µg, acide nalidixique NA/30µg, fluméquine UB/30µg, ampicilline AM/10UI). Les bactéries étudiées (N=203) sont isolées de poisson d'élevage d'origine asiatique à partir de l'estomac et des ouïes (flore commensale).

Les fréquences de résistance les plus importantes ont été observées pour SSS 72%, S 66%, OTC 64%, C 60%, AM 60% et SXT 54%. Elles sont plus élevées que celles relatives aux quinolones (NA 25%, UB 24% et OA 23%,). L'unique antibiotique pour lequel la quasi-majorité des souches est sensible est FT (9 souches sont résistantes et une est intermédiaire). Les profils de résistance sont différents en fonction de la ferme d'élevage, ce qui peut refléter des différences quant aux modes d'utilisation des antibiotiques.

Les espèces isolées sont principalement des bacilles à Gram négatif appartenant aux familles des *Enterobacteriaceae* (*E.coli* et *Enterobacter cloacae*) et des *Vibrionaceae* (*Aeromonas sp*). La majorité de ces bactéries sont multirésistantes (beaucoup à 6 composés simultanément et certaines jusqu'à 9). Les entérobactéries manifestent plus de résistance que les espèces appartenant au genre *Aeromonas*.

Une analyse moléculaire de type AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) a permis de caractériser l'identité de chaque clone au sein d'une même espèce bactérienne.