

ETUDE DU RESISTOME DU FILET DE TRUITE ARC EN CIEL – ETAPE 1 : FAISABILITE METHODOLOGIQUE ?

Helsens Nicolas ^{1,2}, **Calvez Ségolène** ², **Bouju-Albert Agnès** ¹, **Rossero Albert** ¹, **Prévost Hervé** ¹, **Magras Catherine** ¹

¹SECALIM, INRA, Oniris, 44307, Nantes, France

²BIOEPAR, INRA, Oniris, 44307, Nantes, France

Le rôle de l'alimentation dans les voies de la transmission de bactéries ou de gènes de résistance (ARG) est suspecté depuis quelques temps (Woolhouse et al., 2015).

Dans ce contexte, la denrée « filet de poisson frais truite arc en ciel » présente un intérêt. En effet, c'est un produit primaire pouvant être exposé à une contamination dès l'élevage par des antibiotiques en cas de maladies nécessitant traitement chez le poisson, par son environnement aquatique de type rivière, réservoir potentiel de gènes de résistances du fait d'expositions aux activités agricoles et urbaines voisines (autres élevages, STEP, hôpitaux, ...) et des équipements dans l'environnement des ateliers de transformation. Ces différents environnements de la denrée « filet de poisson frais truite arc en ciel » sont potentiellement générateurs de bactéries résistantes et/ou de résidus d'antibiotiques au sein du microbiote du filet.

Le premier verrou méthodologique est la quantité de bactéries et donc la quantité d'ADN bactérien récupérable à partir d'une matrice alimentaire fraîche et complexe comme le filet (peau plus chair) de poisson. En effet, nous souhaitons nous affranchir le plus possible de l'ADN d'origine poisson pour avoir suffisamment d'ADN de type bactérien. De plus les matrices alimentaires « grasses » complexifient l'extraction par la présence d'inhibiteurs et par le colmatage des filtres. Deux techniques d'extraction d'ADN à partir de 30g de filet ont été éprouvées suite au stomachage ou au rinçage des filets pour arriver à une estimation de la présence de 3.5 log CFU / g de bactéries. Le second verrou était l'analyse haut-débit des gènes de résistance. Nous avons fait le choix d'utiliser la technique Smartchip Real Time PCR (Muzasiari et al., 2017) avec 248 couples d'amorces pour amplifier un large spectre de gènes décrits comme participant à la résistance aux antibiotiques.

Pour valider la combinaison des méthodes, de l'extraction du microbiote et de son ADN à la détection par Smartchip Real Time PCR, une contamination expérimentale de filets à partir de concentrations connues de bactéries qui chacune possède un gène de résistance caractérisé a été conduite, avec des concentrations allant de 10⁸ à 10⁴ cfu/ml comme par exemple avec *Enterococcus faecalis* portant le gène de résistance à la vancomycine *vanA*.

Les résultats obtenus valident l'extraction d'ADN à partir des filets rincés et la technique Smartchip montre un intérêt majeur pour analyser le resistome de filets de poissons. Des analyses d'un plus grand effectif de filets permettront d'avoir une première description du resistome du filet de poisson.

Muzasiari et al., 2017 The Resistome of Farmed Fish Feces Contributes to the Enrichment of Antibiotic Resistance Genes in Sediments below Baltic Sea Fish Farms