

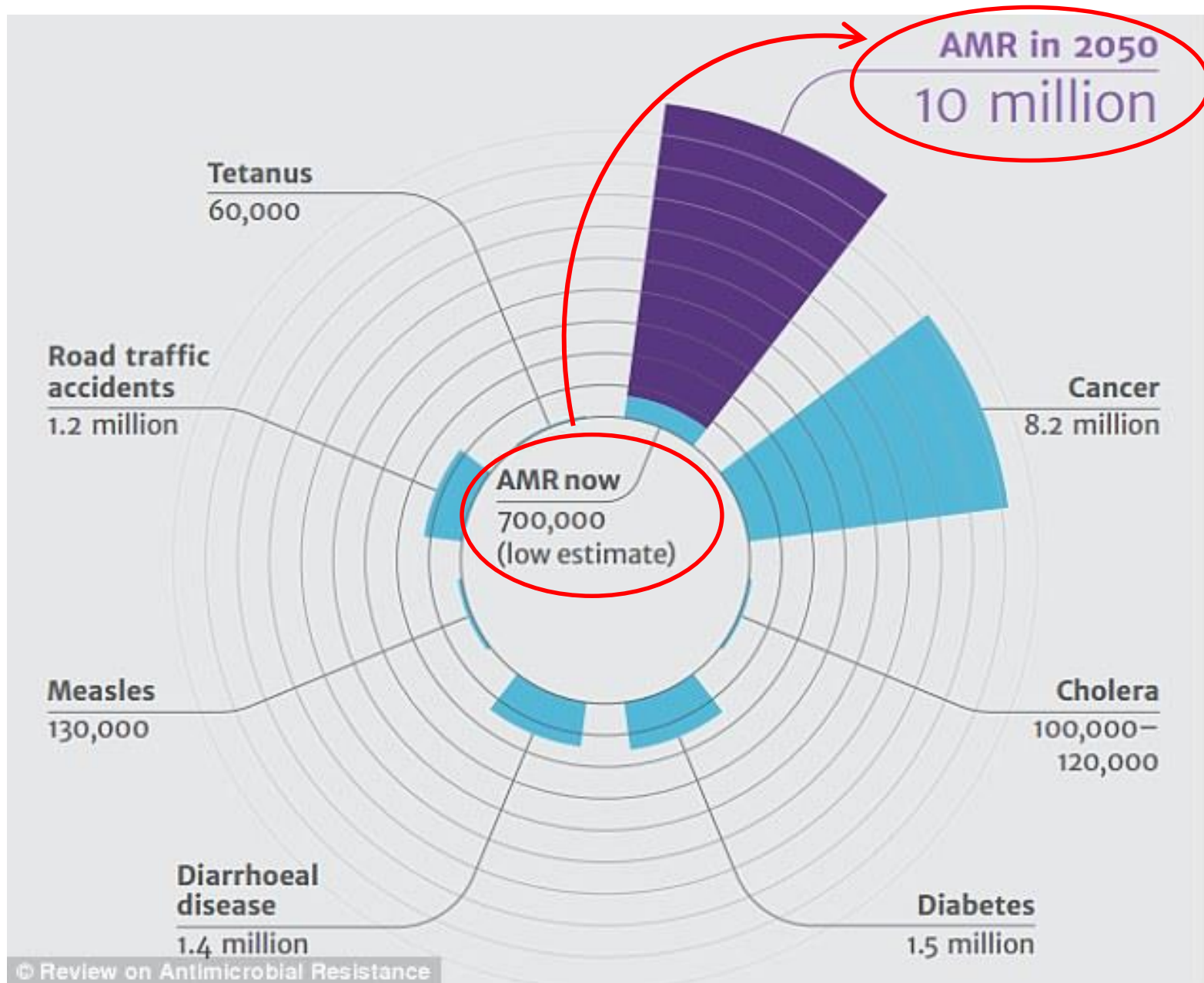
ETUDE DU RESITOME DU FILET DE TRUITE ARC EN CIEL

ETAPE 1 : FAISABILITE METHODOLOGIQUE ?

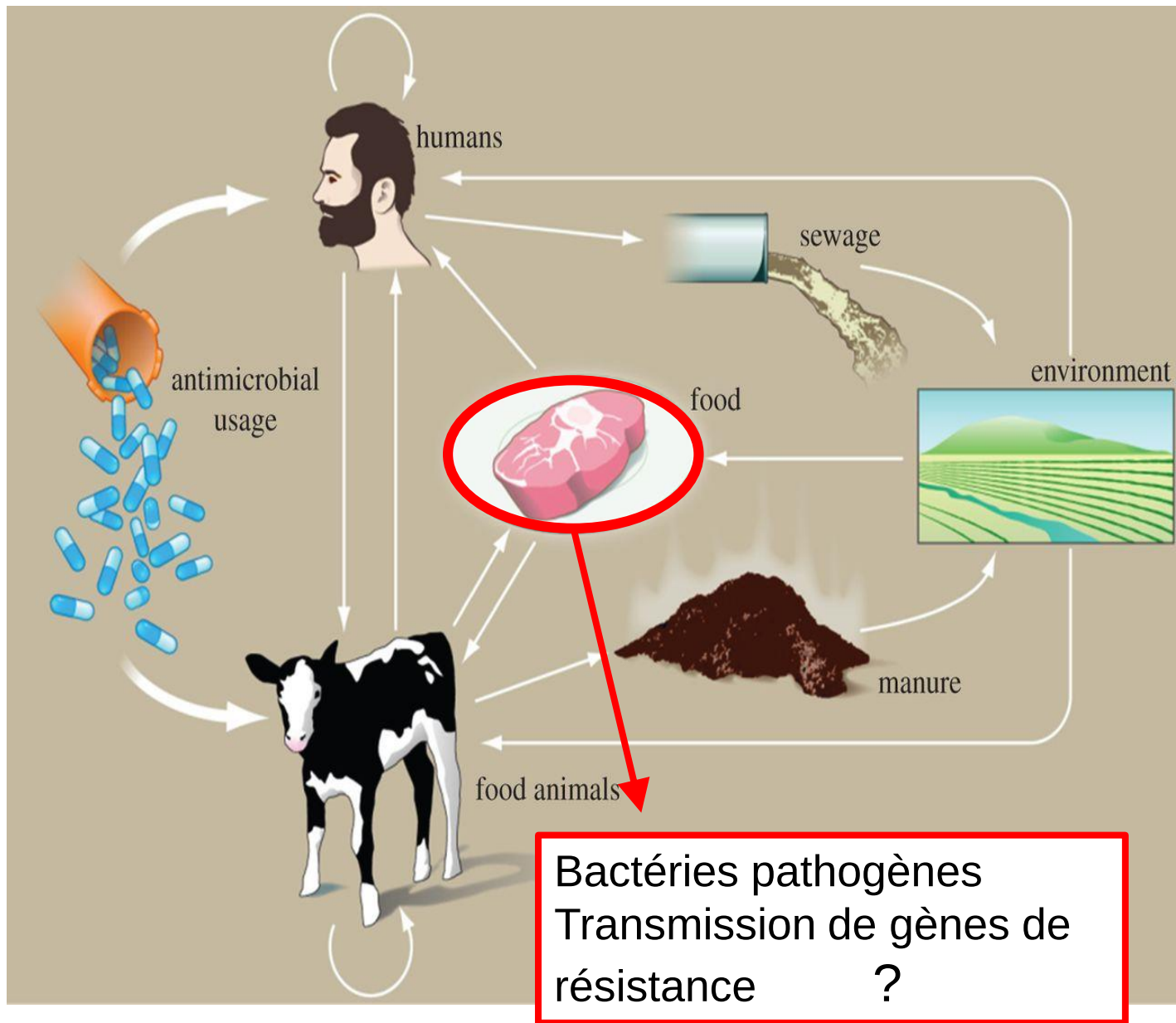
**Nicolas Helsens^{1,2}, Ségolène Calvez², Agnès Bouju-Albert¹, Albert Rossero¹,
Hervé Prévost¹, Catherine Magras¹**

¹SECALIM, INRA, Oniris, Université Bretagne Loire, 44307, Nantes, France

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

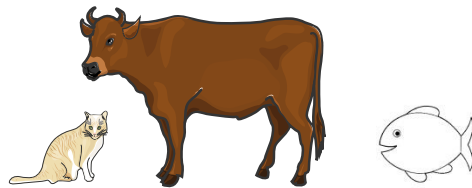


O'Neill, J., 2016. Tackling Drug-resistant Infections Globally: Final Report And Recommendations, The Review On Antimicrobial Resistance.



Contexte

Medecine
humaine -
Veterinaire



Concentration antibiotique
dans l'aliment

LMR



Antibiotique

Prescription

Animaux de
rente

AMM -
cascade

Temps
d'attente

Aliment

Conditions

Autorisés uniquement en thérapeutique

Facteur de croissance: Directive (UE) 96/22/CE; 2003/74/CE et 2008/97/CE

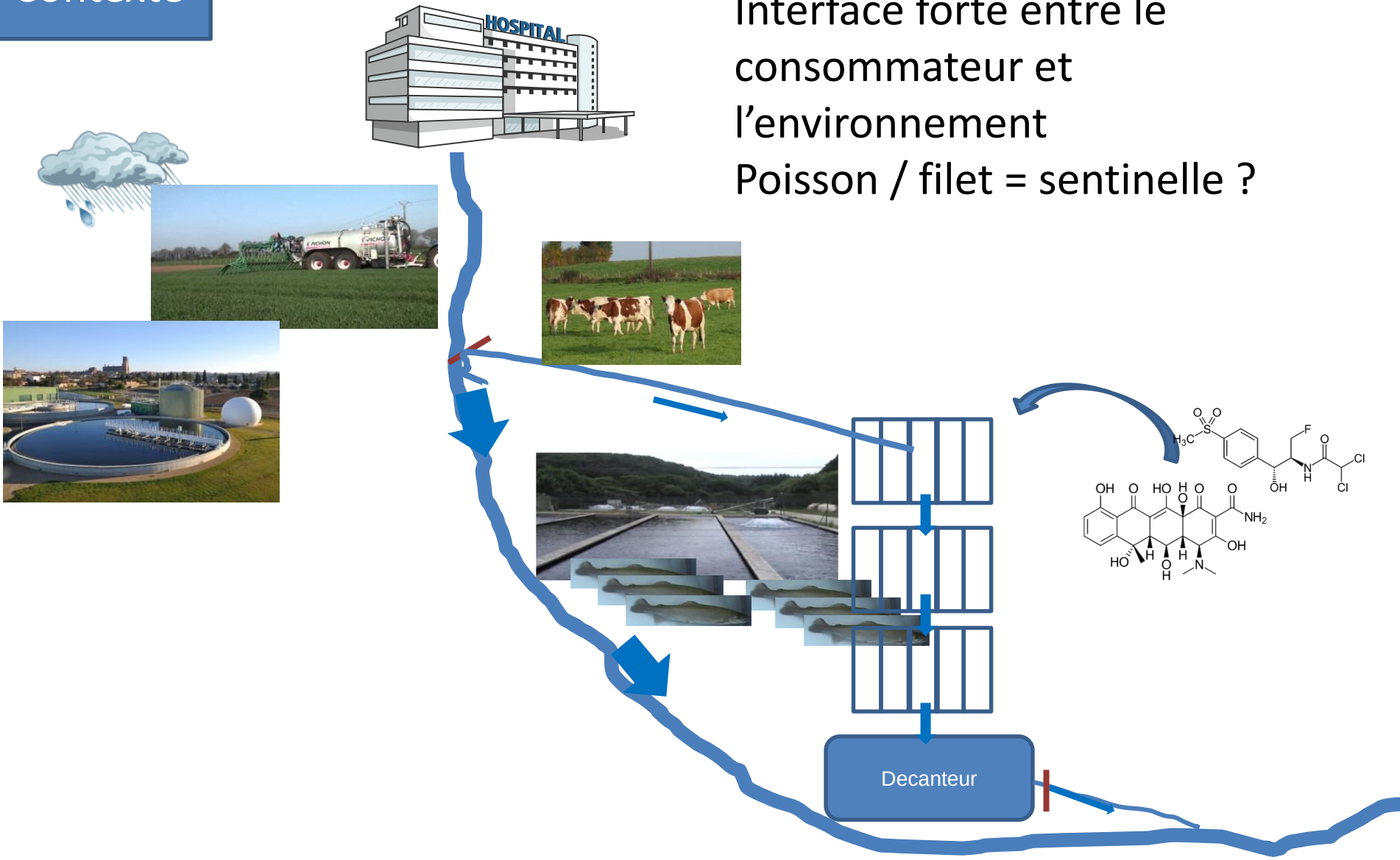
→ Interdit depuis 2006

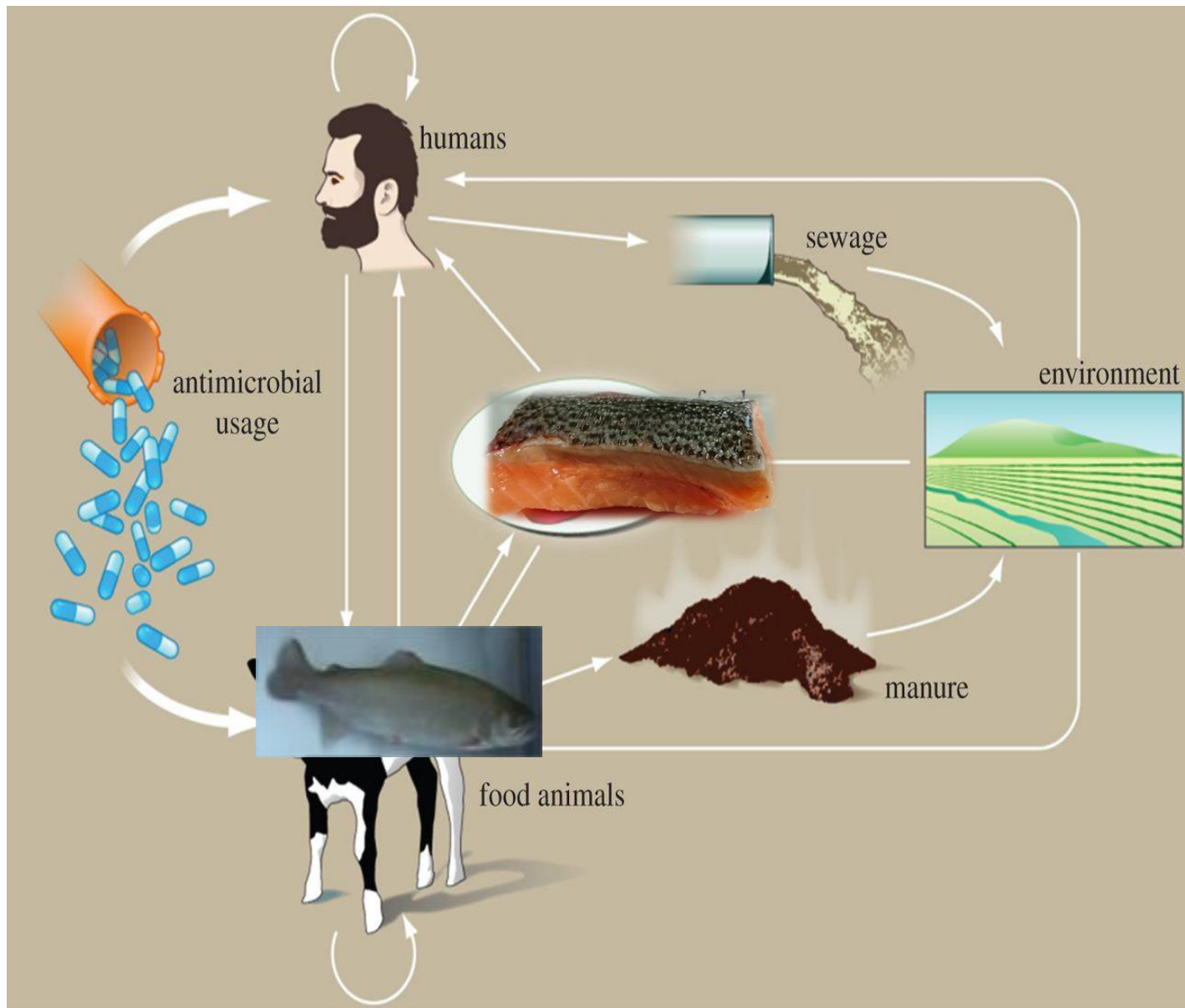
Decontamination

→ Interdit depuis European Regulation CE 853/2004

Contexte

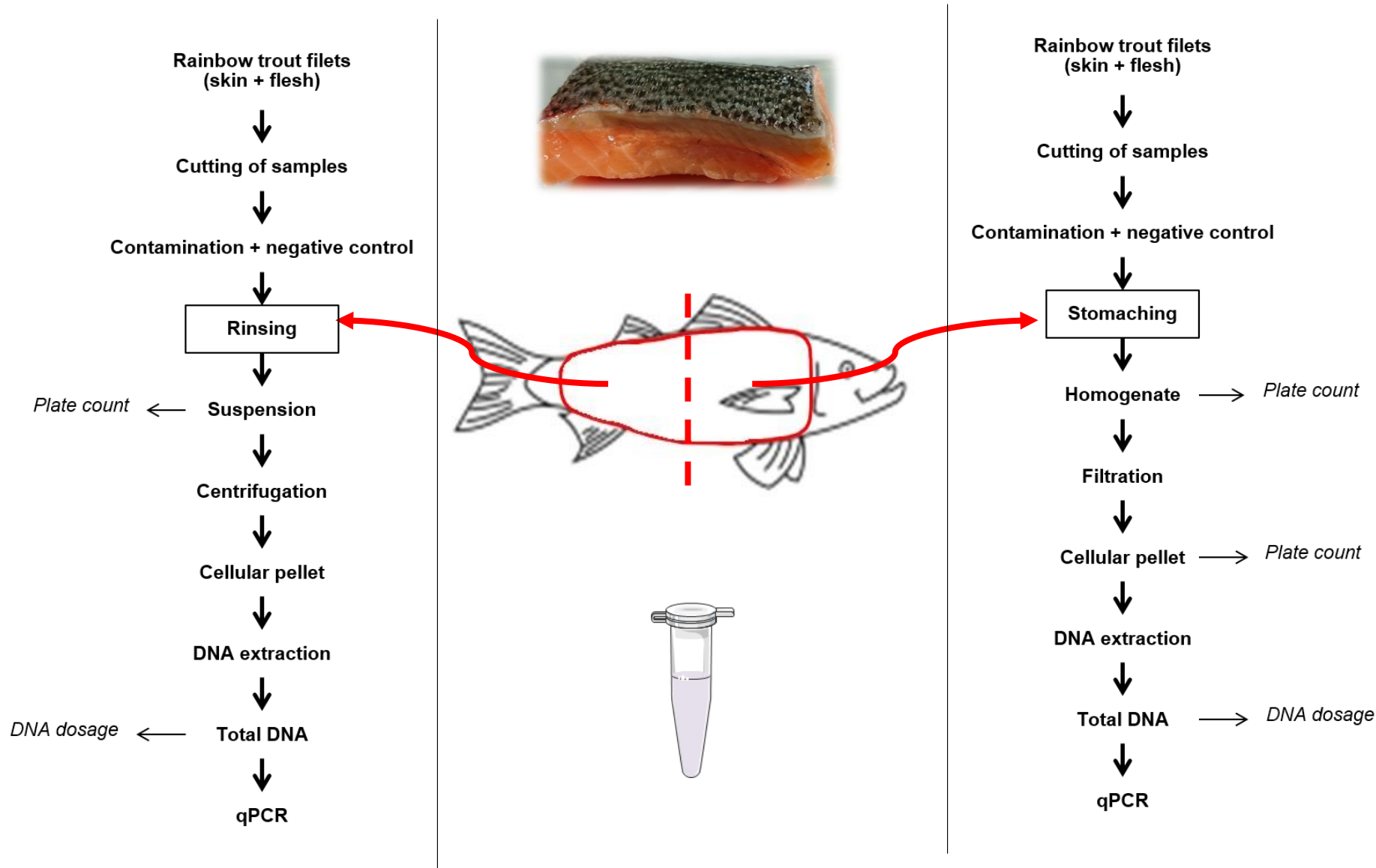
Interface forte entre le
consommateur et
l'environnement
Poisson / filet = sentinelle ?



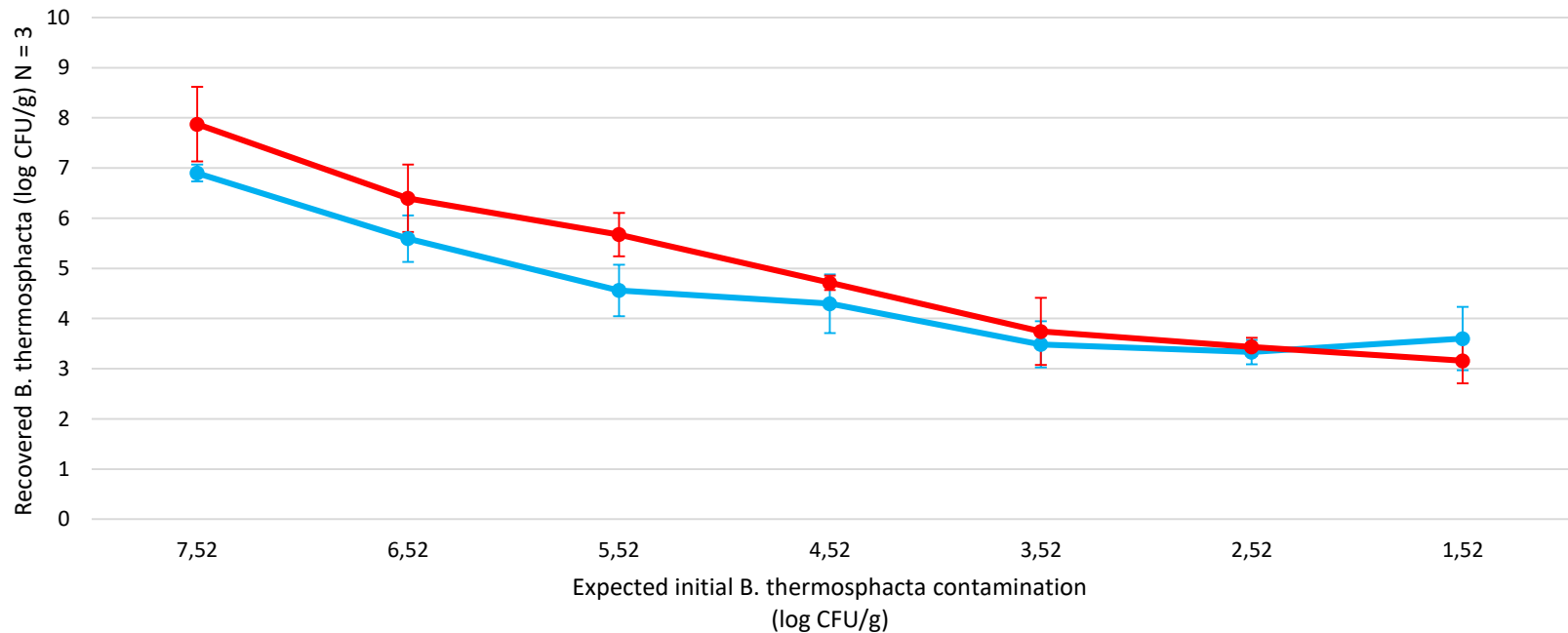
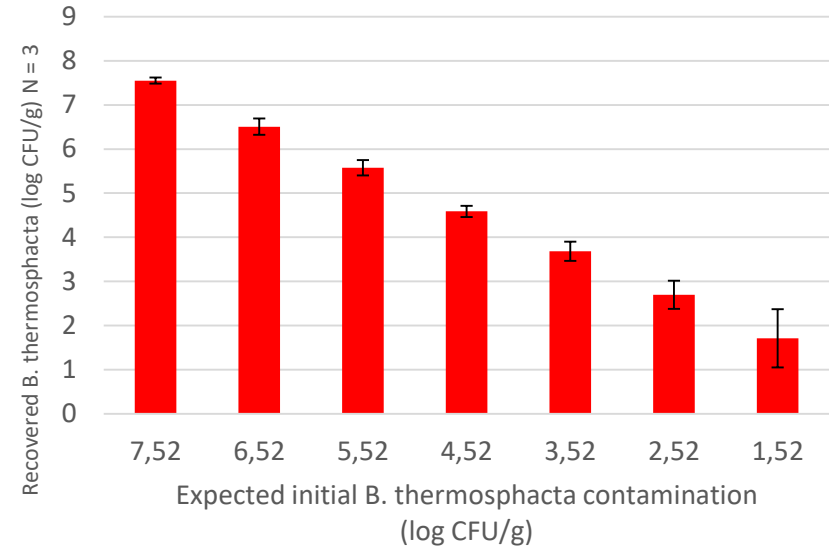
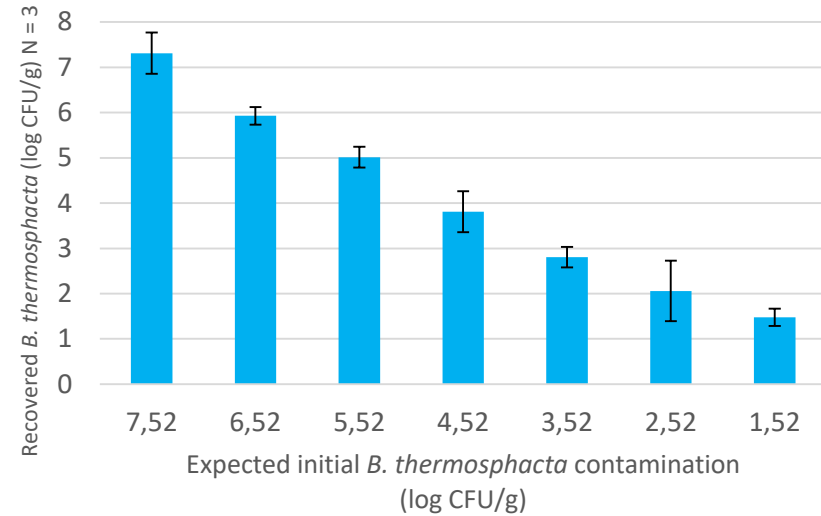


- Pas de recommandations par rapport à l'échantillonnage (quand, combien, fréquence, ...)
- Pas de méthodes de référence pour traiter les échantillons (matrice, extraction ADN, extraction bactérie,...)

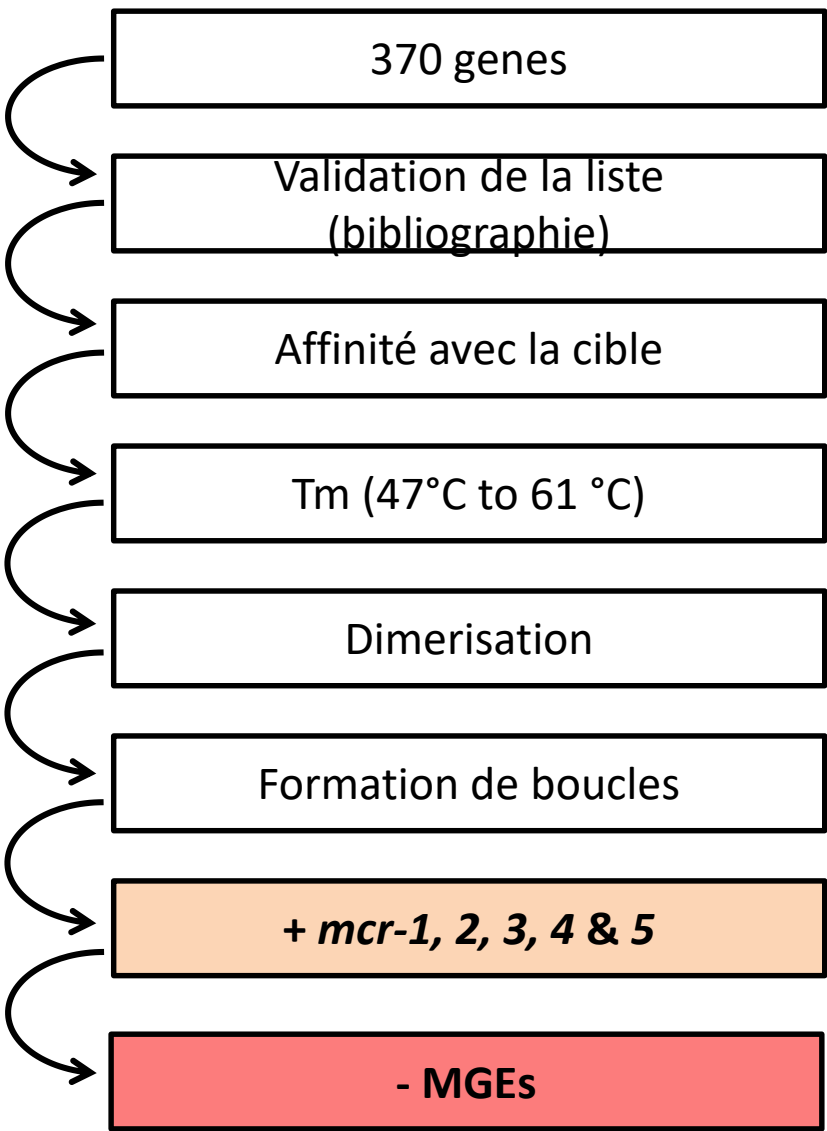
Extraction ADN bactérien à partir du filet frais



Rinçage vs stomachage



Conception du jeu d'amorces



Muziasari *et al.*, 2016

Looft *et al.*, 2012;
Zhu *et al.*, 2013;
Muziasari *et al.*, 2014;

Tamminen *et al.*, 2011

**The Resistome of Farmed Fish Feces
Contributes to the Enrichment of
Antibiotic Resistance Genes in
Sediments below Baltic Sea Fish
Farms**

*Windi I. Muziasari^{1*}, Leena K. Pitkänen¹, Henning Sørum², Robert D. Stedtfeld³,
James M. Tiedje³ and Marko Virta^{1*}*

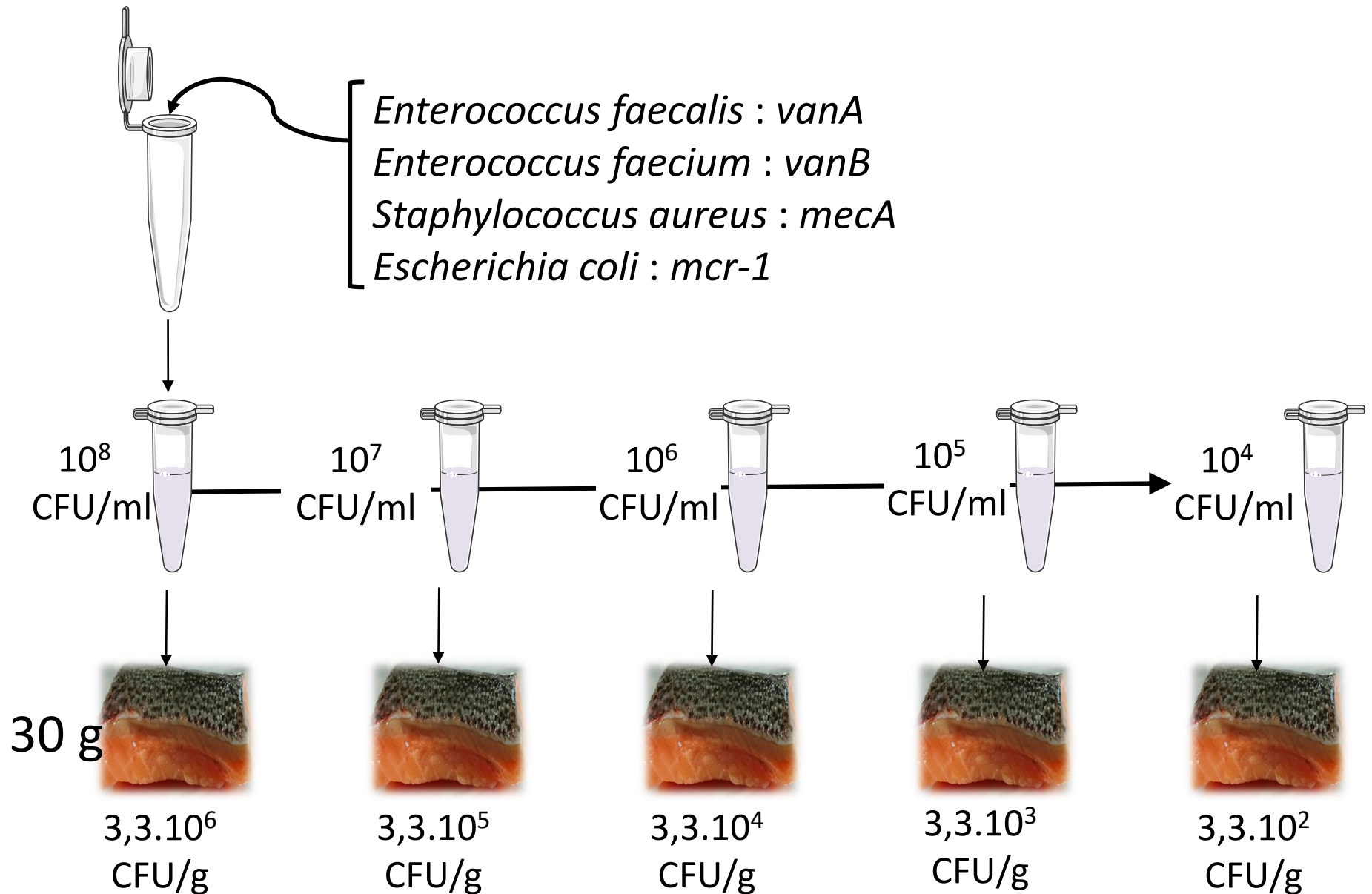
**AmplifX logiciel
(PCR
simulation)**

Choix de la température d'hybridation

Nombre d'amorces par famille d'antibiotiques

Resistance conférée	Genes
Beta lactam	44
Macrolide (MLSB)	38
Tetracycline	35
Aminoglycoside	27
Vancomycin	25
Phenicols	14
Colistin	5
Sulfonamide	3
Trimethoprim	3
Multidrug/ Efflux	33
Antiseptics	7
Other	14

**248 gènes****Smartchip Realtime PCR System**



Contamination des filets / smartchip qPCR

	10⁸	10⁷	10⁶	10⁵	10⁴
	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml	CFU/ml
mcr-1	20,4	23,3	23,09	27,9	27,26
mecA	20,42	23,31	23,2	27,87	
vanA	21,92	25,68	24,34		
vanB-01	19,86	23,64	24,02		

Gamme Cq : 19  28

Seuil de détection: le Cq et la charge initiale sont devenus non proportionnels à partir de 10⁵ bactéries résistantes par ml d'inoculum (3,3.10³ UFC/g).

Seuil de détection = charge bactérienne moyenne d'un filet frais (Austin, 2006) – ici un Cq de 27

Méthode rinçage ✓

Puce smartchip qPCR ✓

Prélèvements ✓

Analyses en cours:

- résidus antibiotiques
- flore
- gènes de résistance

Merci de votre attention