

LA FRACTION DE PAROI DE LEVURE RICHE EN MANNANE RÉDUIT LA PRÉVALENCE DES ENTÉROBACTÉRIES RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES CHEZ LA POULE PONDEUSE

Smith Helen*, Murphy Richard

ALLTECH European Bioscience Centre, Summerhill Road, Dunboyne, Co. Meath, Ireland

*hsmith@alltech.com

RÉSUMÉ

L'inquiétude croissante causée par l'antibiorésistance a généré des limitations de plus en plus strictes sur l'utilisation des antibiotiques, ce qui incite le monde de l'élevage à développer des stratégies nutritionnelles permettant de réduire l'utilisation d'antibiotiques tout en améliorant les performances et en maintenant la rentabilité. L'objectif principal de cette recherche était d'évaluer l'effet de la complémentation en fraction riche en mannane (MRF) issu de paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* sur la réduction des niveaux de population d'entérobactéries multirésistantes aux médicaments chez les poules pondeuses. La prévalence de la résistance aux antibiotiques a été évaluée en isolant les *E. coli* du contenu cæcal des poules pondeuses du groupe témoin et du groupe expérimental 64 jours après le début de la complémentation en MRF. Les colonies ont été isolées à partir d'échantillons cæcaux sur gélose MacConkey et transférées sur des plaques de gélose chromogène sélective pour différencier les isolats d'*E. coli* des isolats d'entérobactéries fermentant le lactose. Des tests de sensibilité aux antibiotiques de ces isolats ont été effectués sur une gélose Mueller-Hinton contenant des antibiotiques pertinents. La supplémentation en MRF dans l'alimentation des poules pondeuses a réduit le nombre d'isolats résistants aux antibiotiques dans le contenu cæcal par rapport à au groupe témoin. Les niveaux de population d'*E. coli* isolés résistants aux antibiotiques ont diminué jusqu'à 58,5% et la population d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques a été réduite jusqu'à 68,4%. Nos résultats démontrent l'effet potentiel de la complémentation en MRF sur la prévalence des bactéries *E. coli* résistante aux antibiotiques, qui constitue une stratégie potentielle pour atténuer la résistance aux antibiotiques chez les agents pathogènes préoccupants en matière de sécurité alimentaire.

ABSTRACT

Yeast Cell Wall Mannan-Rich Fraction Reduces the Prevalence of Antibiotic Resistant Enterobacteriaceae in Layer Chickens

The ever-growing concern of antibiotic resistance has resulted in increasingly strict limitations on antibiotic use. Animal producers increasingly focus on dietary supplementation strategies to reduce antibiotic usage whilst enhancing performance and maintaining profitability. The primary focus of this research was to assess the effect that dietary supplementation with mannan-rich fraction (MRF) from the cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* has on lowering population levels of multi drug resistant Enterobacteriaceae within layer chickens. The prevalence of antibiotic resistance was assessed through isolation of *E. coli* from the cecal contents on day 64 post supplementation with MRF, or in control layers not supplemented with MRF. Colonies were isolated from cecal samples on MacConkey agar and transferred to selective chromogenic agar plates to differentiate *E. coli* isolates from lactose fermenting Enterobacteriaceae isolates. Antibiotic susceptibility testing of these isolates was carried out on Mueller-Hinton agar containing relevant antibiotics of interest. The results showed that supplementation of MRF in the diet of layers lowered the number of antibiotic resistant *E. coli* isolates in cecal contents by up to 58.5%, respectively, compared to those fed the control diet. The population of antibiotic resistant Enterobacteria was also lowered by up to 68.4%, respectively. Our results demonstrate the potential effect that dietary supplementation with MRF has on the prevalence of antibiotic resistant *E. coli* and represents a potential strategy to mitigate antibiotic resistance amongst pathogens of food safety concern.

INTRODUCTION

La résistance aux antibiotiques est un problème qui ne cesse de s'aggraver et qui suscite des inquiétudes dans le monde entier. Il entraîne des limitations et des restrictions de plus en plus strictes sur l'utilisation des antibiotiques comme facteurs de croissance déjà interdits dans l'Union Européenne. Ces mesures réglementaires ont stimulé le développement de stratégies nutritionnelles permettant aux éleveurs de s'orienter vers des rations sans ou avec peu d'antibiotiques et d'améliorer les performances de l'animal tout en maintenant la rentabilité.

Les produits de paroi cellulaire de levure, tels que les fractions riches en mannane (MRF), sont couramment utilisés en nutrition animale et il a été démontré qu'ils améliorent les performances des animaux et ont été suggérés comme ingrédient fonctionnel pour le contrôle microbien. Des recherches récentes ont démontré leur potentiel en tant qu'alternative aux antibiotiques (Smith et al., 2020, Smith et al., 2022).

L'objectif principal de cette étude *in vitro* était d'évaluer l'effet de la complémentation alimentaire en MRF, un prébiotique issu de paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* (Alltech, Inc. Nicolasville, KY, USA) sur la réduction des niveaux de population d'entérobactéries multirésistantes, notamment *Escherichia coli*, chez les poules pondeuses. Cette approche peut nous permettre de comprendre les problèmes associés à la résistance aux antibiotiques chez les agents pathogènes qui menacent potentiellement la sécurité alimentaire.

1. MATÉRIELS ET METHODES

1.1. Isolement d'échantillons cœcaux et enrichissement en bactéries

La prévalence de la résistance aux antibiotiques a été évaluée par l'isolement d'entérobactéries et d'*E. coli* à partir du contenu cœcal de poules âgées de 37 semaines (*Gallus gallus subsp. domesticus*) qui avaient reçu soit un régime témoin standard, soit un régime témoin complété par des MRF pendant 64 jours (800gr⁻¹ pendant les semaines 28 à 34, puis 400gr⁻¹ par la suite). Des échantillons caecaux ont été prélevés de manière aseptique auprès de trois oiseaux par groupe alimentaire puis ont été lyophilisés. Une aliquote de chaque échantillon cœcal (0,1 g) a été enrichie dans de l'eau peptone tamponnée puis les colonies ont été isolées sur gélose MacConkey avant d'être transférées dans une gélose sélective chromogène (Oxoid Brilliance™ *E.coli* / Coliform Selective Medium) pour différencier les isolats d'*E. coli* des isolats d'entérobactéries fermentant le lactose. Les plaques ont été incubées pendant une nuit à 37 °C pour faciliter la croissance des bactéries.

1.2. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Les tests de sensibilité aux antibiotiques de ces isolats ont été effectués à des niveaux de seuil de rupture résistants selon le Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) (14e édition) en utilisant la technique de placage de réplique sur gélose Mueller-Hinton (MHA) avec et sans antibiotique. Les antibiotiques examinés dans le cadre de cette étude étaient la tétracycline, la doxycycline, l'ampicilline, la lincomycine et le triméthoprim. L'abondance des colonies résistantes présentes dans le matériel cœcal a été déterminée après une nuit de culture à 37 °C.

Les colonies résistantes ont été rassemblées individuellement sur des plaques de gélose Muller Hinton (MHA) et cultivées pendant la nuit à 37 °C. Le placage de répliques par l'utilisation de carrés de velours a permis le transfert d'empreintes sur des plaques de gélose chromogènes sélectives (Oxoid Brilliance™ *E. coli* / Coliform Selective Media) pour différencier les isolats d'*E. coli* des isolats d'Enterobacteriaceae fermentant le lactose. Le placage de répliques a permis ce transfert d'isolats sur des plaques MHA contenant les antibiotiques pertinents.

Le nombre de colonies viables d'entérobactéries résistantes ou d'*E.coli* sur les plaques de gélose sélective contenant des antibiotiques a été enregistré à partir d'expériences en trois exemplaires. Cette analyse a été effectuée pour le groupe témoin et le groupe supplémenté en MRF à des fins de comparaison. Des répétitions (n = 3) ont été effectuées par traitement et par échantillon cœcal. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel de statistiques Minitab (version 20.4). Une ANOVA à un facteur avec la différence la moins significative de Fisher (LSD) a été réalisée pour tester toute différence significative entre les moyennes, avec un niveau de confiance de 95 %.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

La supplémentation en MRF a eu un effet positif à la fois pour les isolats d'*E. coli* et d'Enterobacteriaceae, avec une réduction de la prévalence de la résistance aux antibiotiques envers différentes classes d'antibiotiques. La complémentation en MRF dans l'alimentation des poules pondeuses a réduit le nombre d'isolats résistants aux antibiotiques dans le contenu cœcal du groupe MRF par rapport au groupe témoin. La population d'entérobactéries résistantes à la tétracycline était inférieure jusqu'à 68,4 % dans le groupe MRF ($p \leq 0.05$) (figure 1A). La population d'entérobactéries résistantes à la doxycycline, à l'ampicilline, à la lincomycine et au triméthoprim était inférieure de respectivement 25,2 %, 34%, 37,5 % et 22,1 % dans le groupe MRF (figure 1A). L'abondance d'*E. coli* isolée résistante à la lincomycine était inférieure jusqu'à 58,5 % dans le groupe MRF ($p \leq 0.05$) (Figure 1B). La

population d'*E. coli* résistante à la tétracycline, à la doxycycline, à l'ampicilline, à la lincomycine et au triméthoprimé était inférieure de respectivement 36,8 %, 38,7 %, 27,8 % et 6 % (figure 1B).

Des recherches récentes ont démontré que les MRF de la paroi cellulaire de *Saccharomyces cerevisiae* peuvent moduler la croissance d'*E. coli* sensibles et résistantes aux antibiotiques et potentialise l'efficacité des antibiotiques en modulant la respiration cellulaire bactérienne (Smith et al., 2020). Cette étude est la première démonstration de l'inclusion des MRF de levure dans l'alimentation, ce qui entraîne une réduction de la population d'entérobactéries résistantes aux antibiotiques et d'*E. coli* dans le contenu cæcal des poules. La surutilisation ou la mauvaise utilisation traditionnelle des antibiotiques a conduit à l'évolution d'une résistance généralisée aux antibiotiques dans le monde entier. Par conséquent, d'autres stratégies sont nécessaires pour soutenir la restriction de l'utilisation des antibiotiques à usage thérapeutique en élevage. En améliorant nos connaissances sur l'interaction entre l'alimentation, les MRF et les antibiotiques, il pourrait être possible de réduire stratégiquement l'utilisation d'antibiotiques naturellement.

CONCLUSION

Nos résultats démontrent l'effet potentiel de la complémentation alimentaire en MRF sur la prévalence des bactéries *E. coli* résistantes aux antibiotiques ce qui peut représenter une stratégie nutritionnelle permettant d'atténuer la résistance aux antibiotiques chez les agents pathogènes qui menacent la sécurité alimentaire.

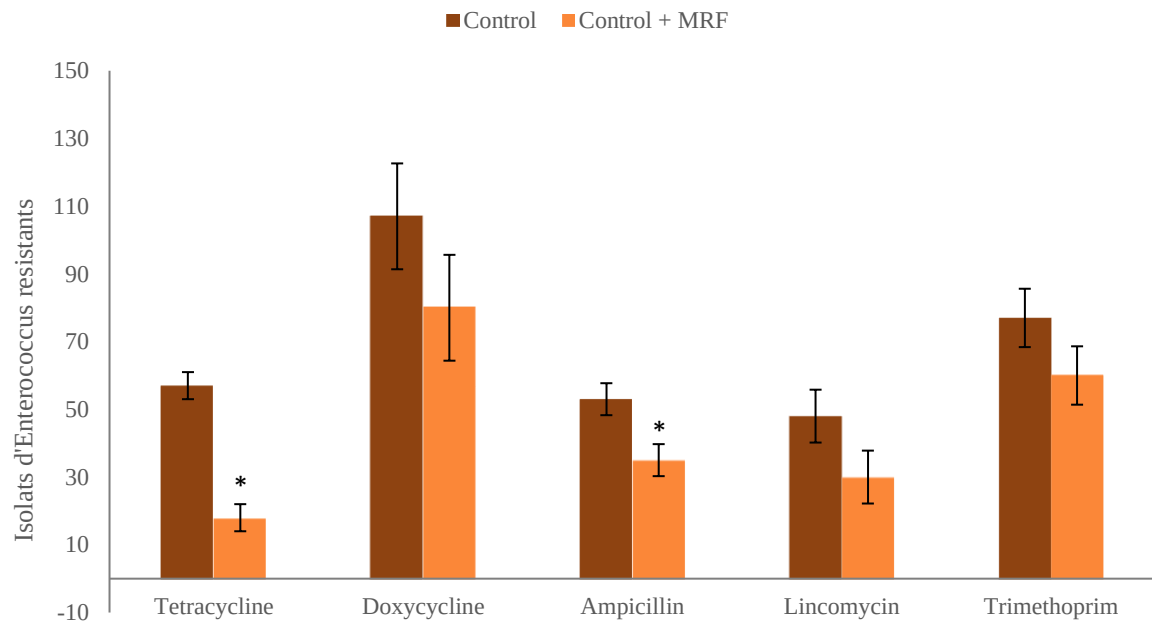
Ces travaux soutiennent la recherche de stratégies alternatives pour promouvoir la santé animale sans contribuer au problème croissant de la résistance aux antimicrobiens.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Smith, H., Grant, S., Parker, J., 2020. Yeast cell wall mannan rich fraction modulates bacterial cellular respiration potentiating antibiotic efficacy. In: Scientific Reports, 10 (21880).
- Smith, H., Grant, S., Meleady, P., Henry, M., O'Gorman, D., Clynes, M., & Murphy, R., 2022. Yeast Mannan-Rich Fraction modulates endogenous reactive oxygen species generation and antibiotic sensitivity in resistant *E.coli*. In: International Journal of Molecular Science, 24 (1).

Figure 1. Réduction des entérobactéries [A] et des *E.coli* [B] résistantes aux antibiotiques dans les échantillons caecaux isolés des poules complémentées en MRF.

[A]



[B]

