



**HAL**  
open science

## Résistance à la colistine chez la volaille française : impact positif des efforts de maîtrise

Agnes Perrin-Guyomard, Paméla Houée, Pierrick Lucas, Arnaud Felten,  
Laetitia Le Devendec, Claire Chauvin, Isabelle Kempf

### ► To cite this version:

Agnes Perrin-Guyomard, Paméla Houée, Pierrick Lucas, Arnaud Felten, Laetitia Le Devendec, et al..  
Résistance à la colistine chez la volaille française : impact positif des efforts de maîtrise. Quinzièmes  
Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, JRA, Mar 2024, Tours, France. pp.662-  
666. anses-04574719

**HAL Id: anses-04574719**

<https://anses.hal.science/anses-04574719v1>

Submitted on 29 May 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

# RÉSISTANCE À LA COLISTINE CHEZ LA VOLAILLE FRANÇAISE : IMPACT POSITIF DES EFFORTS DE MAÎTRISE

Perrin-Guyomard Agnès<sup>1</sup>, Houée Pamela<sup>1</sup>, Lucas Pierrick<sup>2</sup>, Felten Arnaud<sup>2</sup>, Le  
Devendec Laetitia<sup>2</sup>, Chauvin Claire<sup>2</sup>, Kempf Isabelle<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ANSES, Laboratoire de Fougères, 10B rue Claude Bourgelat, 35306 FOUGERES,

<sup>2</sup> ANSES, Laboratoire de Ploufragan-Plouzané-Niort, 22440 PLOUFRAGAN

[agnes.perrin-guyomard@anses.fr](mailto:agnes.perrin-guyomard@anses.fr)

## RÉSUMÉ

L'objectif de notre projet était de faire un état des lieux de la prévalence et de l'épidémiologie de la résistance à la colistine chez la volaille en France, après la mise en place du plan Ecoantibio2 et de corréler ces résultats avec les données d'utilisation. La sensibilité à la colistine a été mesurée par micro-dilution en milieu liquide chez 2259 *E. coli* isolés de contenu caecal de poulets de chair et de dindes prélevés à l'abattoir entre 2011 et 2020. Les gènes *mcr*, impliqués dans la résistance transférable à la colistine, ont été recherchés par PCR chez les souches résistantes et le séquençage du génome entier a permis d'étudier la diversité génétique des isolats. Les données d'usage de colistine (polymyxines) provenaient de l'Agence du médicament vétérinaire et des professionnels de la filière avicole. La corrélation de rang de Spearman a été utilisée pour évaluer la relation entre l'exposition à la colistine et la prévalence de la résistance. En 2020, la prévalence de la résistance à la colistine chez les *E. coli* isolés de manière aléatoire et non ciblée dans les contenus caecaux de volaille depuis 2011, a diminué, sans que ce soit significatif, pour atteindre 3% chez la dinde et 1% chez le poulet de chair. Cette diminution est fortement corrélée avec la réduction de -68 % de l'exposition des volailles à la colistine depuis 2014. Seul le gène *mcr-1* a été détecté parmi les 48 *E. coli* résistants à la colistine. La plupart des souches n'avaient pas de relation clonale. Le gène *mcr* était situé dans différents types de plasmides, porteurs de divers autres gènes de résistance aux antibiotiques. La diminution de la résistance à la colistine chez les volailles en France peut être considérée comme un résultat positif des différents plans d'action et efforts de maîtrise visant à réduire l'utilisation de la colistine en élevage.

## ABSTRACT

### **Colistin resistance in French poultry: positive impact of control efforts**

The aim of our project was to take stock of the prevalence and epidemiology of colistin resistance in French poultry, following the implementation of the Ecoantibio2 plan, and to correlate these results with usage data. Colistin susceptibility was performed by broth micro-dilution in 2,259 *E. coli* isolated from the caecal contents of broilers and turkeys sampled at slaughter between 2011 and 2020. The *mcr* genes involved in transferable colistin resistance were screened by PCR in the 48 resistant strains, and whole-genome sequencing was used to study the genetic diversity of the isolates. Data on colistin use were sourced from the French Veterinary Medicines Agency and poultry industry. Spearman's rank correlation was used to assess the relationship between exposure to colistin (polymyxins) and prevalence resistance. In 2020, the prevalence of colistin resistance in *E. coli* isolated randomly and non-targeted from poultry caecal contents since 2011 decreased, although not significantly, to 3% in turkey and 1% in broiler. This decrease correlates strongly with the -68% reduction in poultry exposure to colistin since 2014. Only the *mcr-1* gene was detected among the 48 colistin-resistant *E. coli*. Most strains were not clonally related. The *mcr* gene was located in different types of plasmids carrying various other antibiotic resistance genes. The reduction in colistin resistance in poultry in France reflect a positive result of different action plans and control efforts to reduce the use of colistin in livestock.

## INTRODUCTION

Après la découverte en 2015 du 1<sup>er</sup> gène mobile de résistance à la colistine *mcr*, une étude rétrospective a montré qu'en France, 5,9% et 1,8% des *E. coli* commensaux isolés chez la dinde et chez le poulet entre 2007 et 2014 étaient porteurs de ce gène transférable (Perrin-Guyomard et al., 2016). Vu les capacités de dissémination du gène *mcr*, l'importance critique de la colistine en médecine humaine et l'usage répandu de cet antibiotique en médecine vétérinaire, le plan Ecoantibio2 lancé en 2017, prévoyait dans ses objectifs, une réduction de 50 % en 5 ans de l'exposition à la colistine en filières bovine, porcine et avicole par rapport à 2014-2015. L'objectif de notre étude était donc de faire un état des lieux de la prévalence et de l'épidémiologie de la résistance à la colistine chez la volaille en France, après la mise en place de ce plan national, et de corréler les résultats avec les données d'utilisation pour évaluer l'efficacité de ce plan.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Souches bactériennes

Les *E. coli* ont été isolés dans le cadre réglementaire de la surveillance européenne de la résistance aux antibiotiques chez les animaux d'élevage (Décision 2013/652/UE). Chaque année de 2011 à 2014 (poulets de chair uniquement), puis tous les deux ans de 2014 à 2020 (poulets de chair et dindes), des échantillons cœcaux de volailles collectés dans les abattoirs français ont été ensemencés sur un milieu chromogénique pour permettre l'isolement sélectif d'*E. coli*.

### 1.2. Sensibilité aux antibiotiques

Un isolat d'*E. coli* de chaque échantillon a été testé pour sa sensibilité aux antibiotiques par micro-dilution en milieu liquide (microplaques EUVSEC, Thermo Scientific™ Sensititre™). Les isolats dont la concentration minimale inhibitrice (CMI) de colistine était supérieure à la valeur seuil épidémiologique (Ecoff, 2 mg/L) ont été sélectionnés pour des analyses génomiques complémentaires.

### 1.3. Résistance transférable à la colistine et support plasmidique

Les gènes *mcr-1* à *mcr-9* ont été recherchés par PCR chez les souches résistantes à la colistine. Les plasmides de 22 isolats *mcr*-positifs ont été extraits et utilisés pour des expériences de transformation par électroporation de cellules *E. coli* DH10B (Thermo Scientific). La résistance à la colistine et la présence du gène *mcr* ont été confirmées par micro-dilution en milieu liquide et par PCR chez les *E. coli* DH10B

sélectionnés sur gélose Mueller Hinton + colistine sulfate (2 mg/L). Le groupe d'incompatibilité de plasmide a ensuite été déterminé.

### 1.4. Séquençage total (WGS)

L'ADN génomique de tous les isolats résistants à la colistine a été extrait et séquencé (NovaSeq 6000, Illumina). A partir des assemblages de génomes, les Sequence Type (ST), les sérotypes, les gènes/mutations pour la résistance aux antibiotiques et les gènes de virulence ont été recherchés. Un arbre phylogénétique a été construit et les souches ont été assignées à l'un des principaux phylo-groupes d'*E. coli*.

### 1.5. Corrélation entre résistance et ventes

Les données sur les ventes et l'exposition aux polymyxines (ALEA) sont issues du suivi annuel des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France de 2011 à 2020 (Anses, 2022). La résistance bactérienne dans la production de volailles a été estimée en pondérant les données de résistance des dindes et des poulets de chair depuis 2014 par leurs biomasses annuelles respectives (Anses, 2022).

### 1.6. Statistiques

L'évolution de la résistance à la colistine au cours du temps a été évaluée à l'aide du test de Cochran-Armitage ( $p < 0,05$ ). La corrélation de rang de Spearman a été utilisée pour évaluer la relation entre l'exposition à la colistine et la prévalence de la résistance (test bilatéral,  $p < 0,05$ ).

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

En 2020, les pourcentages de résistance à la colistine des *E. coli* commensaux isolés chez le poulet étaient de 1%, après avoir atteint 3% en 2016 (diminution non significative,  $p > 0,05$ ). Chez la dinde, où les pourcentages sont plus élevés, la prévalence a été divisée par deux, passant de 6% en 2014 à 3% en 2020 ( $p > 0,05$ ). De 2014 à 2020, l'ALEA à la colistine dans la filière volaille est passée de 0,431 à 0,113 en France. La corrélation entre l'exposition aux polymyxines et la résistance à la colistine, est significative ( $r_s = 1$ ) entre 2014 et 2020. Ces résultats positifs peuvent être la conséquence des différentes mesures de gestion, nationales comme celles inscrites dans le plan Ecoantibio2, et des efforts de maîtrise des professionnels de la filière pour réduire l'usage de la colistine vétérinaire. En effet, les deux systèmes de surveillance de la consommation des antibiotiques en France en aviculture ont rapporté une baisse considérable de -70% des ventes de polymyxines entre 2011 et 2020 (Anses, 2022) et une diminution de l'exposition de -79% chez le poulet et de -57% chez la

dinde entre 2018 et 2020 (Rousset et al., 2022). L'objectif du plan Ecoantibio de -50% a largement été dépassé puisque par rapport aux années de référence 2014-2015, la réduction d'usage de la colistine fut de -68% en volailles en 2020.

Sur les 2 259 isolats d'*E. coli* isolés entre 2011 et 2020 chez la volaille, 48 étaient résistants à la colistine et porteurs du gène *mcr-1*, sauf un. Ces résultats sont en cohérence avec ceux de la littérature qui montrent que *mcr-1* est le variant prédominant du gène *mcr* dans le monde, spécialement en volaille (Bastidas-Caldes et al., 2022 ; Jiping et al., 2023). Tous les isolats *mcr+* isolés chez le poulet et 83% de ceux isolés chez la dinde étaient multi-résistants (résistants à au moins 3 familles d'antibiotiques). Le profil de résistance phénotypique le plus fréquemment retrouvé correspondait à l'association colistine-ampicilline- sulfaméthoxazole-triméthoprim pour les isolats de poulets (16,7 %) et à l'association colistine-ampicilline-ciprofloxacine/acid nalidixique-sulfaméthoxazole-tétracycline-triméthoprim pour les isolats de dinde (16,7 %) (Figure 1).

L'analyse du séquençage total du génome a confirmé l'absence de gène ou de mutation connues pour le seul isolat de dinde *mcr-*. Parmi les 20 souches présentant une résistance phénotypique aux fluoroquinolones, 13 d'entre elles présentaient une résistance clinique liées à des mutations dans le gène *gyrA*, *parC* et/ou *parE*, associées pour l'une d'entre elles à la présence du gène mobile *qnrS*. Toutes espèces de volailles confondues, la résistance clinique à la ciprofloxacine est statistiquement plus importante chez les souches résistantes à la colistine (27,1%) que chez les souches sensibles à la colistine (10,2%) (Chi 2, p=0,0002) sur la période 2011-2020. Une souche isolée chez la dinde en 2014 était co-résistante aux céphalosporines, expliqué par la présence du gène *bla<sub>CMY-2</sub>*.

Les isolats *mcr+* appartenaient à divers ST, sérotypes et phylogroupes (Figure 1). Le ST10 était le plus fréquent chez le poulet et le ST131 chez la dinde. Le phylogroupe A était le groupe le plus représenté chez 43,3% des souches de dinde et 55,6% des souches de poulet suivi par le groupe D chez la dinde (23,3%) et le groupe B1 chez le poulet (22,2%). Cette forte proportion de groupe A et cette grande diversité de phylogroupes sont habituelles des flores commensales des animaux (Smati et al., 2015). A noter que trois souches *mcr-1* positives isolées de la dinde en 2014 appartenaient au ST131, sérotype O25:H4 et phylogroupe B2. Ce type de *E. coli* est un clone pandémique mondial, connu pour des infections communautaires chez l'homme et résistant aux antibiotiques (Rogers et al., 2011). Les souches isolées dans notre étude étaient multi-résistantes, avec une résistance aux antibiotiques d'importance critique comme les fluoroquinolones et/ou les céphalosporines. Elles contenaient également des gènes de virulence comme *traT*, *ompT*, *iutA*, *fimH* et

*kpsM II* impliqués dans la survie, l'invasivité et l'adhésion, les classant comme un risque pour l'homme via la chaîne alimentaire.

Parmi les groupes de plasmides IncHI2, IncX4, IncI2, IncI1a et IncFII identifiés dans notre étude comme porteurs du gène *mcr-1*, le groupe IncHI2 était prépondérant chez les deux espèces animales, suivi du groupe IncI2 chez le poulet et IncX4 chez la dinde. D'autres études en Europe ont montré que le gène *mcr-1* identifiés chez des *E. coli* originaires de la volaille ou de leur environnement était majoritairement porté par ces mêmes types de plasmides IncHI2, IncI2 et IncX4 (Savin et al., 2020 ; Veldman et al., 2016 ; Zajac et al., 2019). Dans notre étude, les souches résistantes à la colistine ayant acquis par transformation un plasmide du groupe IncHI2 présentaient également des résistances à d'autres antibiotiques tel que l'ampicilline, la tétracycline, le triméthoprim ou le sulfaméthoxazole alors que celles ayant acquis un plasmide du groupe IncI2 ou IncX4 étaient seulement résistantes à la colistine. Même si la pression de sélection due à la colistine a diminué suite aux diminutions d'exposition, la sélection et la diffusion du gène *mcr-1* pourraient donc être maintenues par d'autres antibiotiques tel que l'ampicilline puisque la majorité des souches de notre étude hébergeaient des plasmides de type IncHI2 et portaient une résistance aux pénicillines.

## CONCLUSION

En France, la prévalence de la résistance à la colistine chez les *E. coli* isolés de manière aléatoire et non ciblée dans les contenus caecaux de volaille depuis 2011, a diminué pour atteindre 3% chez la dinde et 1% chez le poulet en 2020. Cette diminution est fortement corrélée avec la réduction de -68% de l'exposition à la colistine depuis 2014. Seul le gène *mcr-1* porté principalement par des plasmides de type IncHI2, IncI2 et X4 a été identifié chez ces isolats qui n'avaient pas de relation clonale entre eux. Plus de 80% de ces isolats étaient multi-résistants, ce qui met en évidence la possible co-sélection de la résistance à la colistine par plusieurs autres antibiotiques. Néanmoins, la baisse des ventes de colistine, ainsi que celles des autres principaux antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, contribue à réduire la pression de sélection de la résistance à la colistine. Ces résultats, issus d'une étude de type écologique n'établissent pas de lien de causalité, mais reflètent néanmoins l'impact positif des différents plans d'action pour la réduction de l'utilisation des antibiotiques dans le domaine vétérinaire et l'importance des programmes de surveillance de la résistance aux antibiotiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anses, 2022. In : Rapport annuel. Anses-ANMV, pp94.
- Bastidas-Caldes, C., de Waard, J.H., Salgado, M.S., Villacís, M.J., Coral-Almeida, M., Yamamoto, Y. and Calvopiña, M., 2022. Pathogens, (11) 659-683.
- Borowiak, M., Baumann, B., Fischer, J., Thomas, K., Deneke, C., Hammerl, J.A., Szabo, I. and Malorny, B., 2020. Front. Microbiol., (11), 1-8.
- Jiping, S., Hong, Z., Chang, L., Hui, X., Chuchu, L., Xiaoli C., and Han, S., 2023. In : Front. Microbiol., (13), 1-10.
- Perrin-Guyomard, A., Bruneau, M., Houee, P., Deleurme, K., Legrandois, P., Poirier, C., Soumet, C. and Sanders, P., 2016. Euro. Surveill., (21), 1-3.
- Rebelo, A. R., Bortolaia, V., Kjeldgaard, J., Pedersen, S., Leekitcharoenphon, P., Hansen, I., Guerra, B., Malorny, B., Borowiak, M. and Hammerl, J., 2018. Euro. Surveill., (23), 1-11.
- Rogers, B. A., Sidjabat, H. E. and Paterson, D. L., 2011. J. Antimicrob., (66), 1-14.
- Rousset, N., Carré, Y. and Chauvin, C., 2022. In : 3rd AACTING conference Abstracts book, p54.
- Savin, M., Bierbaum, G., Blau, K., Parcina, M., Sib, E., Smalla, K., Schmuthausen, R., Heinemann, C., Hammerl, J.A. and Kreyenschmidt, J., 2020. Front. Microbiol., (11), 1-18.
- Smati, M., Clermont, O., Bleibtreu, A., Fourreau, F., David, A., Daubié, A.S., Hignard, C., Loison, O., Picard, B. and Denamur, E., 2015. MicrobiologyOpen, (4) 604-615.
- Veldman, K., van Essen-Zandbergen, A., Rapallini, M., Wit, B., Heymans, R. van Pelt, W. and Mevius, D., 2016. J. Antimicrob. Chemother., (71), 2340-2342.
- Zajac, M., Sztromwasser, P., Bortolaia, V., Leekitcharoenphon, P., Cavaco, L.M., Ziętek-Barszcz, A., Hendriksen, R.S. and Wasyl, D., 2019. Front. Microbiol., (10), 1-14.

**Figure 1.** Caractéristiques épidémiologiques et moléculaires des *E. coli* mcr-positif isolés du contenu caecal de poulet et de dinde entre 2011 et 2020 (WGS). AMP : ampicilline, AZM : azithromycine, CTX : céfotaxime, CAZ : ceftazidime, CHL : chloramphénicol, CIP : ciprofloxacine, COL : colistine, GEN : gentamicine, MEM : méropénème, NAL : acide nalidixique, SMX : sulfaméthoxazole, TET : tétracycline, TGC : tigécycline, TMP : triméthoprime

