



## Bilan projet AntibioEaux 2 (Session 2016)



## Projet AntibioEaux 3 (Session 2017)



## Antibiorésistance dans les eaux naturelles de la zone urbaine de Montpellier

Principaux participants :

Fabien AUJOULAT, Estelle JUMAS-BILAK, Patricia LICZNAR-FAJARDO

HSM, UMR5569, UM-CNRS-IRD, Montpellier



HydroSciences  
Montpellier



# Pourquoi s'intéresser à l'antibiorésistance environnementale ?

## Résistance aux antimicrobiens = préoccupation mondiale

« De nouveaux mécanismes de résistance apparaissent et se propagent à l'échelle mondiale, compromettant notre capacité à traiter des maladies infectieuses courantes, entraînant une prolongation de la durée des maladies, des incapacités et des décès ». (OMS 2016)

Projections 2050 => Bactéries résistantes aux antibiotiques responsables de 10 millions de morts / an (O'Neill, 2014)

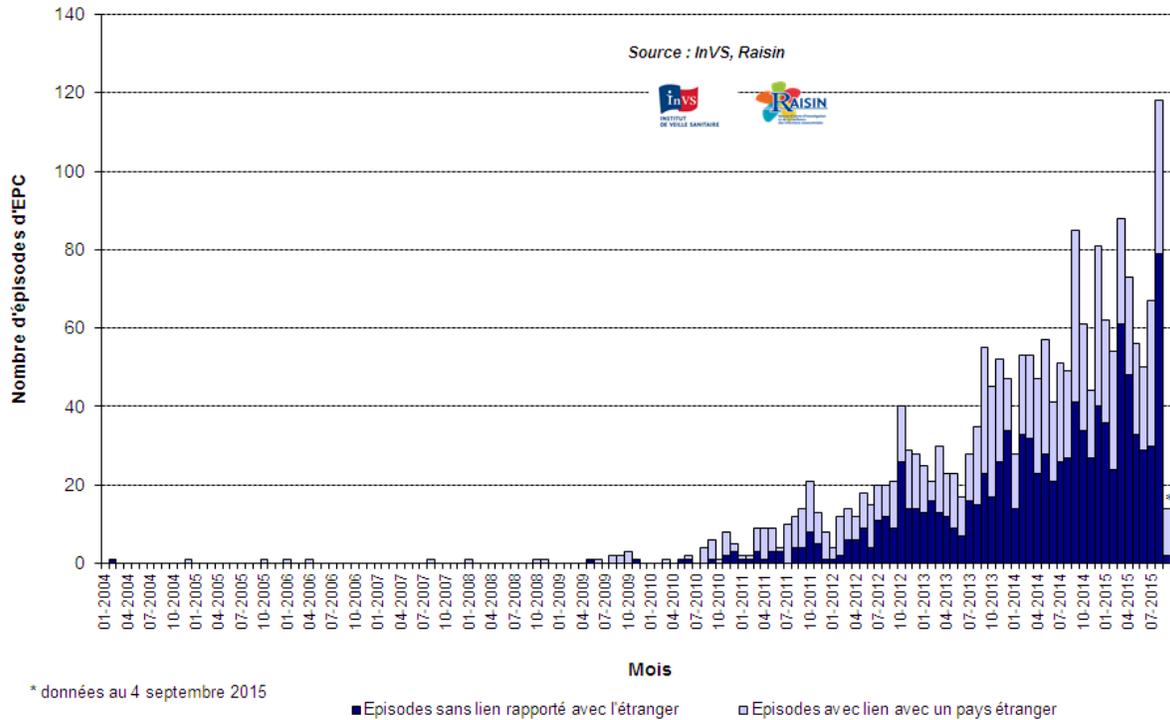
**Concept one health** : prise en compte interdisciplinaire de la santé humaine, animale et environnementale

(<http://www.onehealthinitiative.com>)



# Illustration de l'émergence et dissémination de l'antibiorésistance

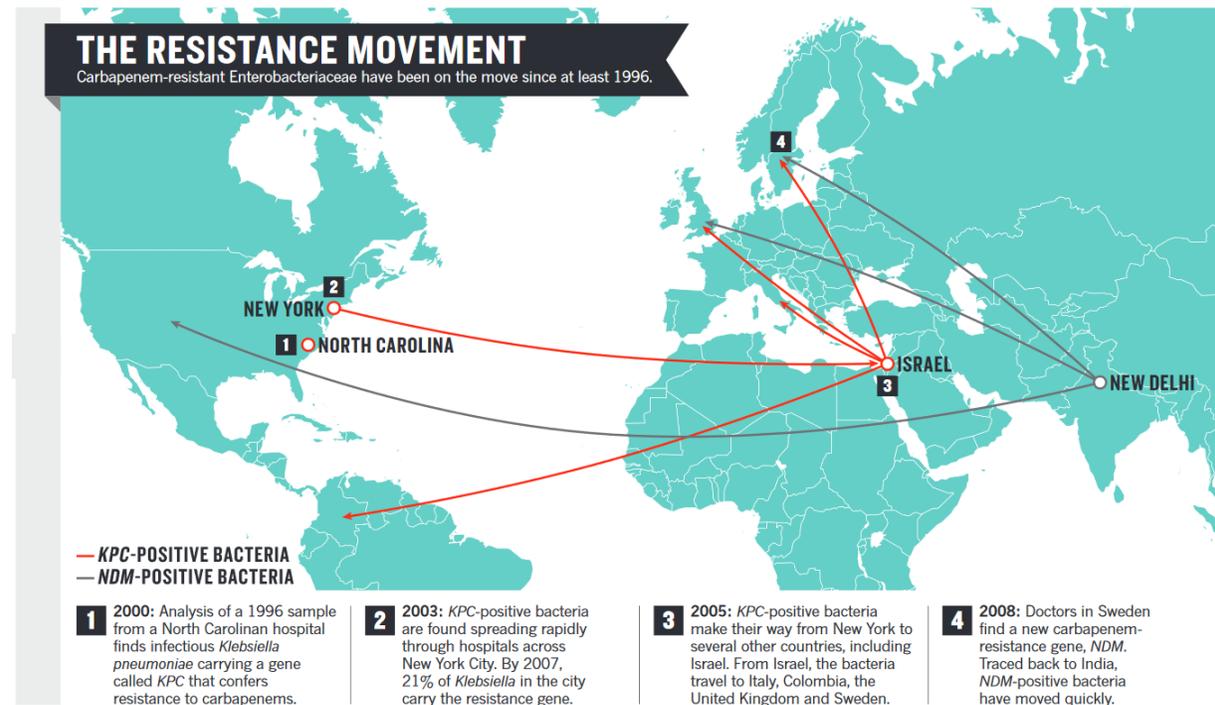
Episodes d'infection à enterobactérie productrice de carbapénémase (EPC), France, 2004 – 2014, par mois de signalement :



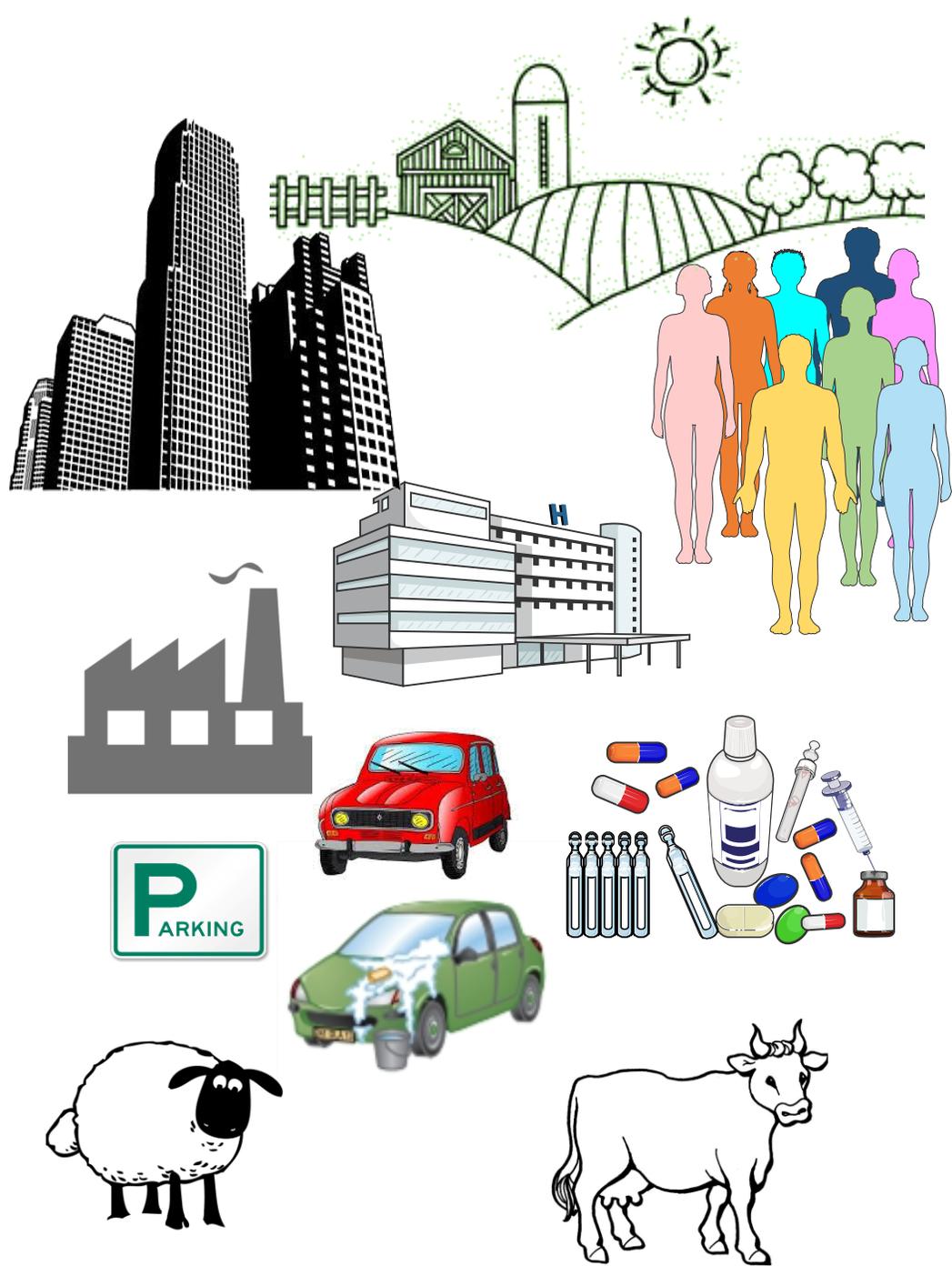
\* données au 4 septembre 2015

<http://invs.santepubliquefrance.fr/>

Mouvement des entérobactéries productrices de carbapénémases depuis 1996 :

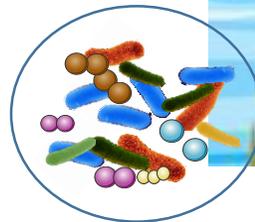


McKenna, 2013



## Pressions anthropiques

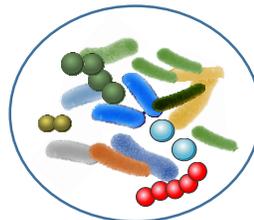
Communauté bactérienne 1



Changements au niveau de la communauté bactérienne (composition, abondance) et au niveau des bactéries :

- évolution génétique,
- niveau d'expression de protéines,
- capacité de survie,
- pouvoir épidémique,
- pathogénicité,...

Communauté bactérienne 2



=> Potentiellement émergence et dissémination de résistances

# Objectifs

- 1) Décrire les profils d'antibiorésistance de **communautés bactériennes** dans un continuum aquatique soumis à diverses pressions anthropiques :
  - pressions urbaines (traversée de Montpellier par Le Lez)
  - pressions hospitalières (CHU)
  - pressions industrielles (ancienne décharge du Thôt)
  
- 2) Recherche et caractérisation de **bactéries pathogènes humaines et/ou porteuses de résistances émergentes** avec les pressions anthropiques exercées sur les communautés
  
- 3) Identifier des marqueurs / **indicateurs biologiques** qui permettraient d'établir les relations entre apports de contaminants d'origine anthropique et résistance des communautés bactériennes d'environnements hydriques en zone urbaine

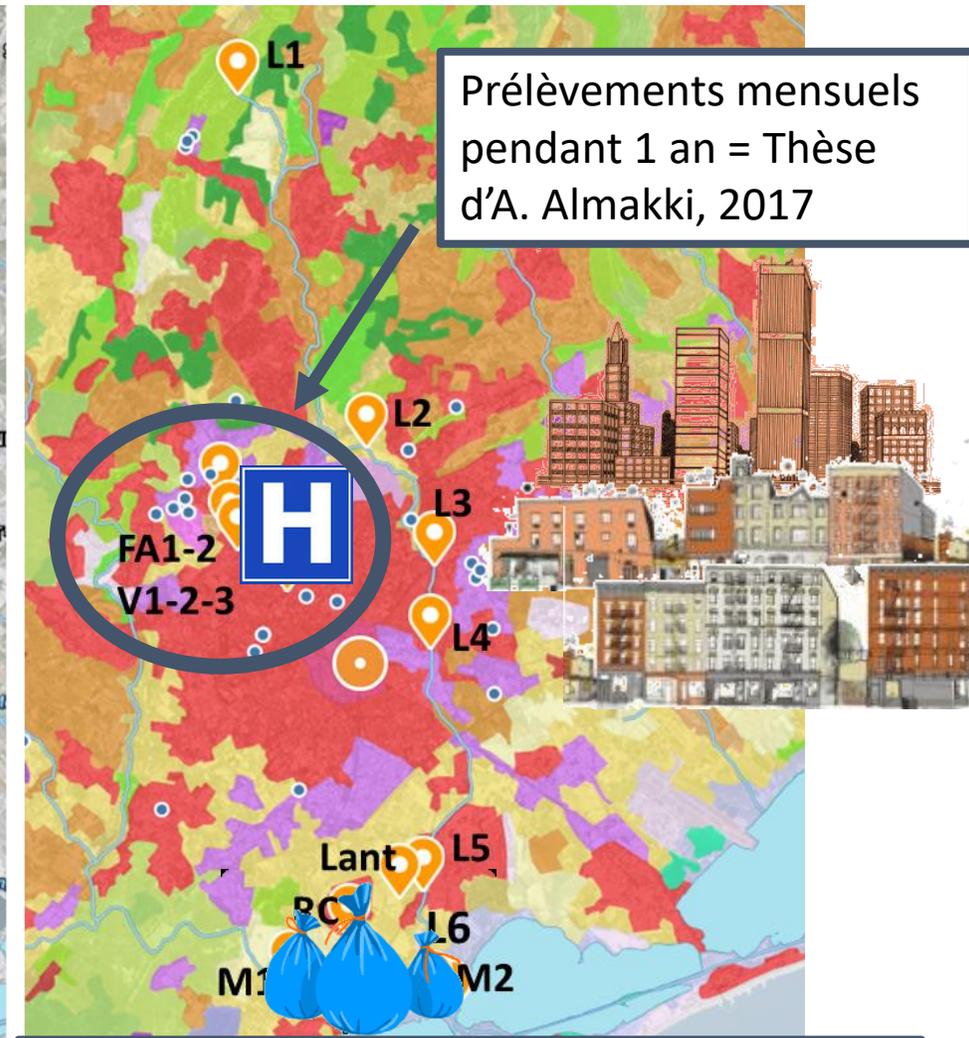
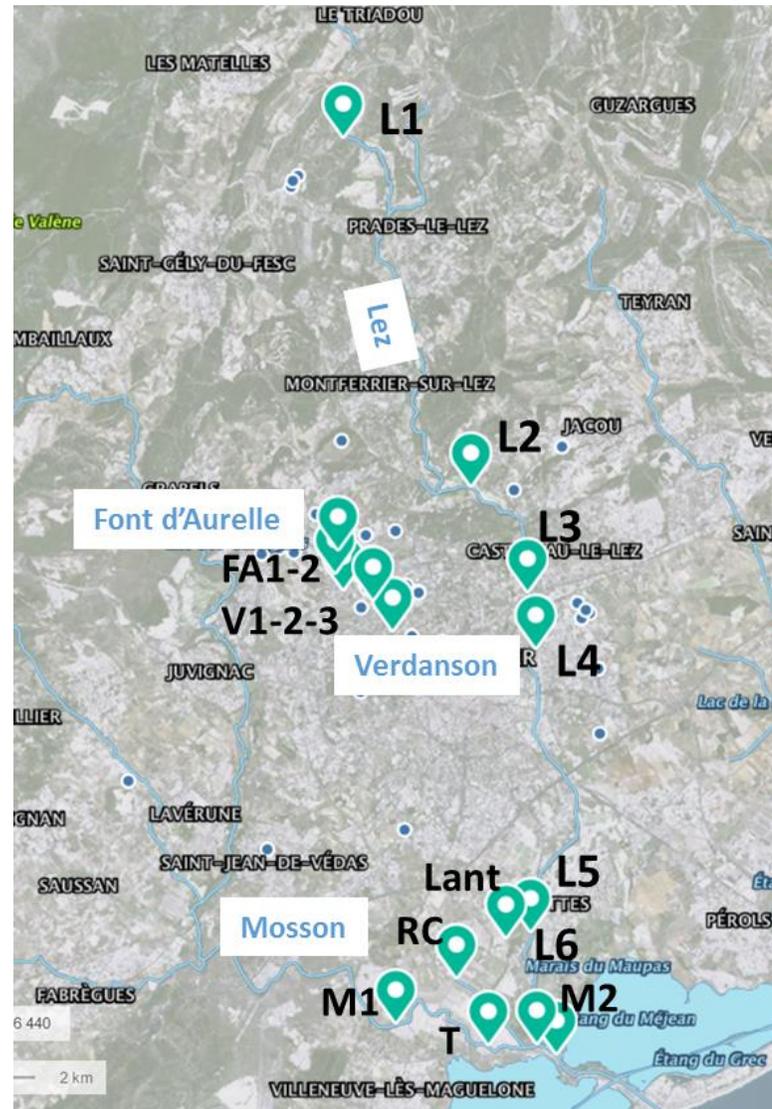
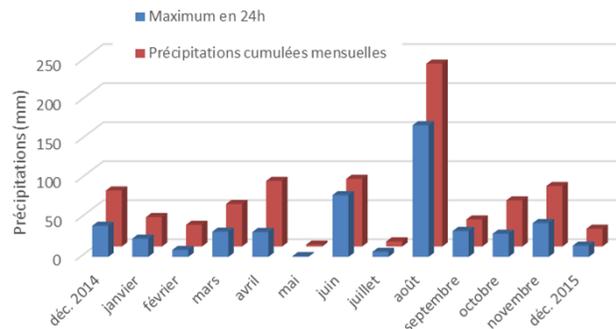
# Terrain d'étude : région montpelliéraine

## Montpellier Méditerranée Métropole :

- Forte croissance démographique (*INEE, 2012*)

	2007	2030
Nombre d'habitant	409 000	472 000
Age moyen des habitants	37 ans	40 ans
Nombre d'habitant ≥ 75 ans	29 000	50 000
Pourcentage de la population ≥ 75 ans	7%	11%

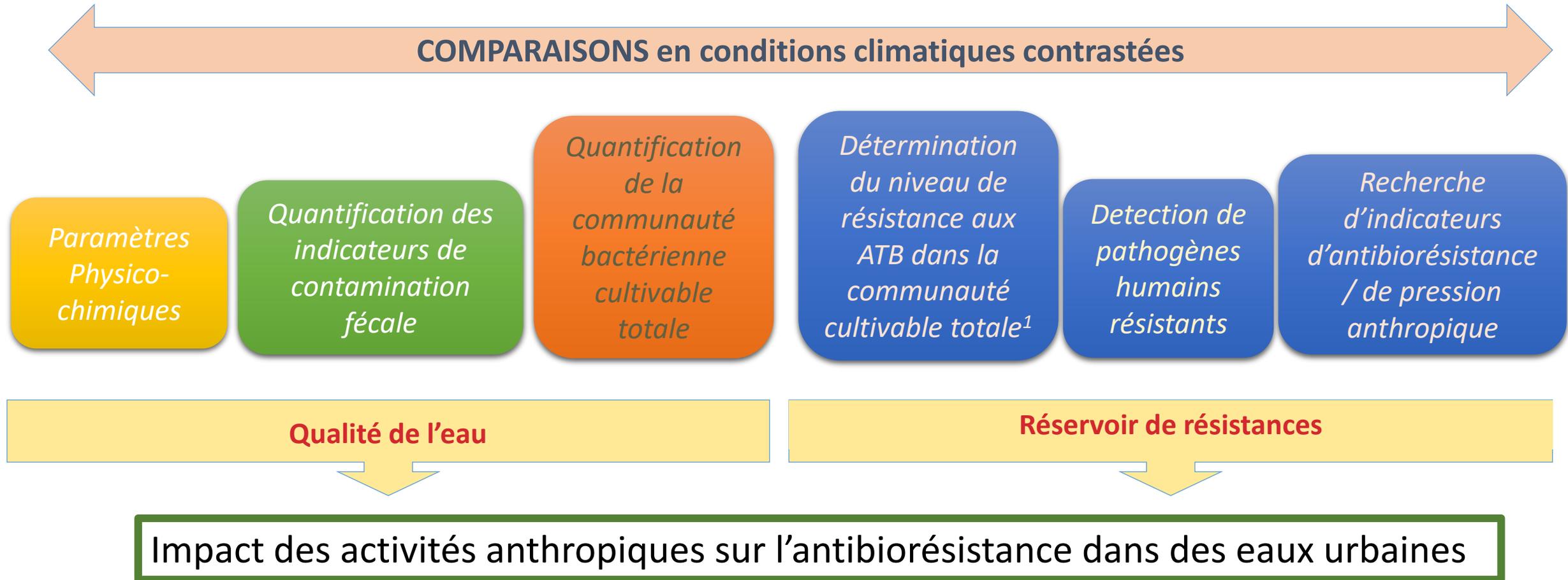
- Episodes climatiques contrastés



Prélèvements mensuels pendant 1 an = Thèse d'A. Almakki, 2017

2 campagnes de prélèvement (antibiEaux 2), observation poursuivie (AntibiEaux 3)

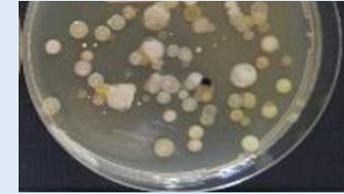
# Méthologie



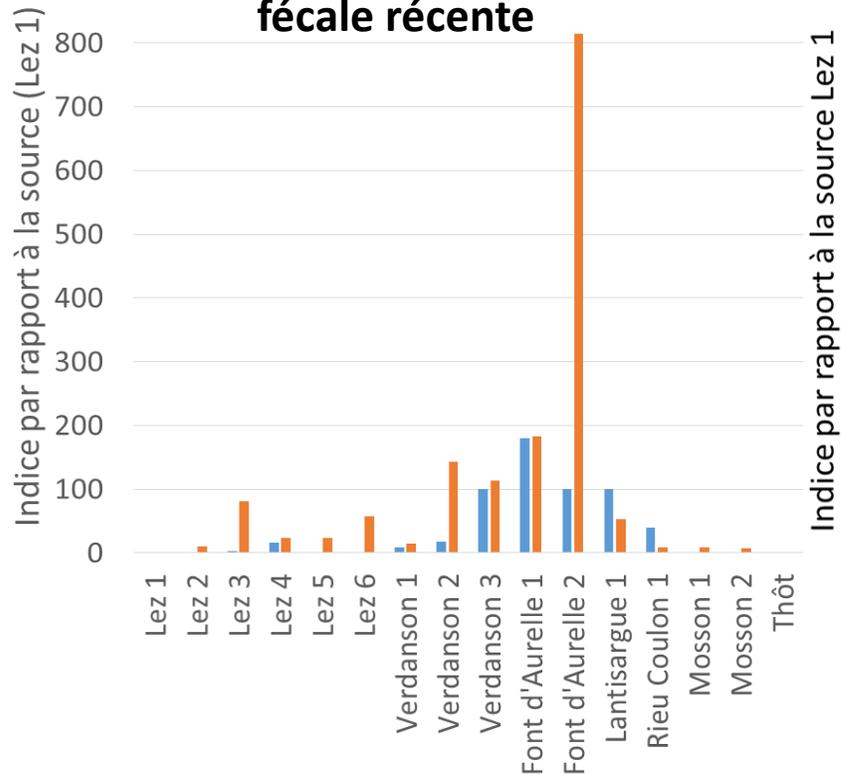
<sup>1</sup> A. Almakki *et al.*, Effects of antibiotics on abundance and richness of cultivable bacterial communities from surface waters, submission in process (Etude financée par OHM, projet AntibioEaux 2014)

■ 09/05/2016  
 ■ 12/12/2016

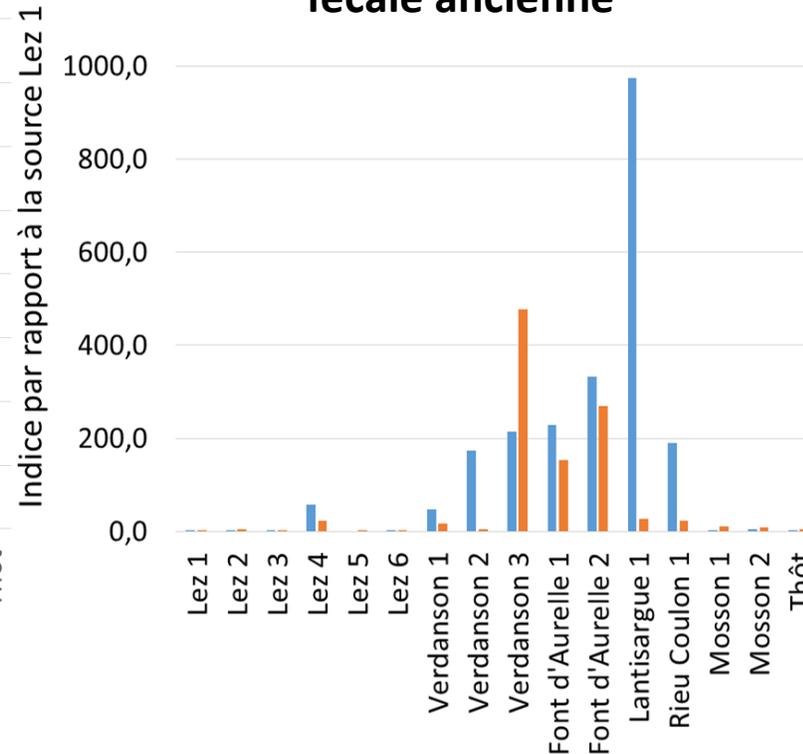
# Résultats AntibiEaux 2 « qualité de l'eau »



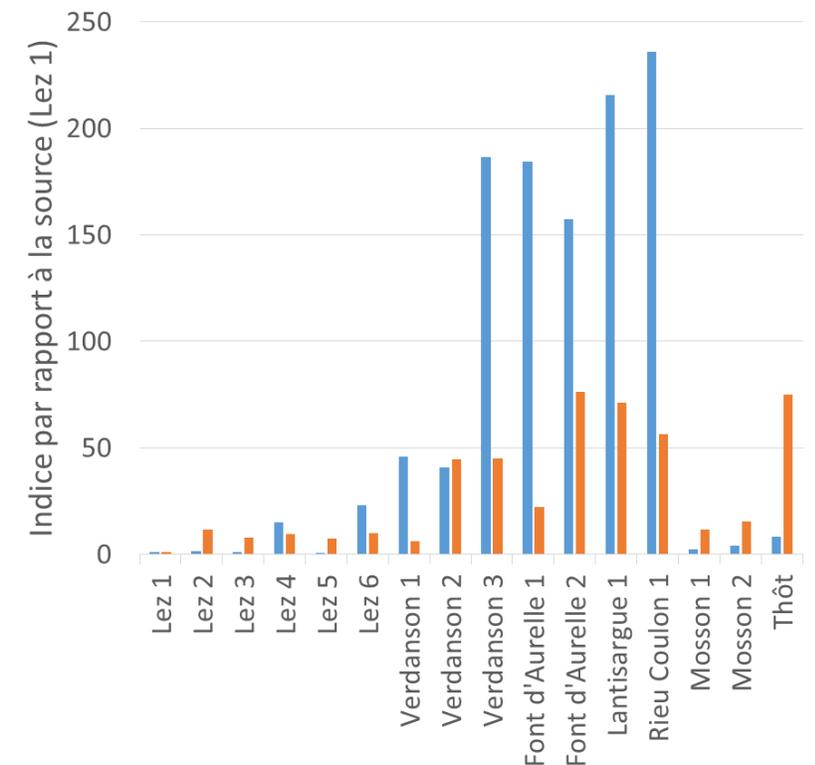
**Coliformes thermotolérants**  
 Témoin de contamination  
 fécale récente



**Entérocoques**  
 Témoins de contamination  
 fécale ancienne



**Bactéries totales cultivables**



Valeurs absolues (UFC/100mL)	09/05/2016	12/12/2016	Rapport mai/déc
Coliformes thermotolérants	500	21	24
Entérocoques	100	30	3
Bactéries totales cultivables	1 0 000	17 000	11

⇒ Grande variabilité temporelle  
 ⇒ +++ au niveau des sites urbains ++  
 et cours d'eau à faible débit

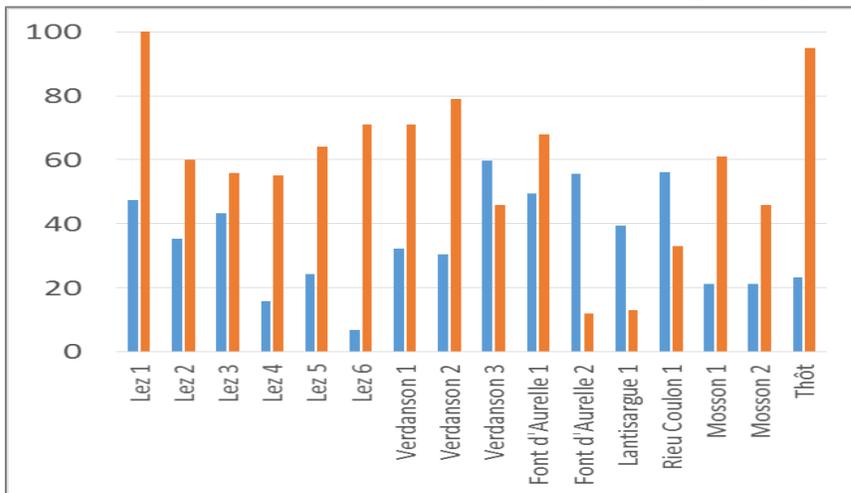
09/05/2016

12/12/2016

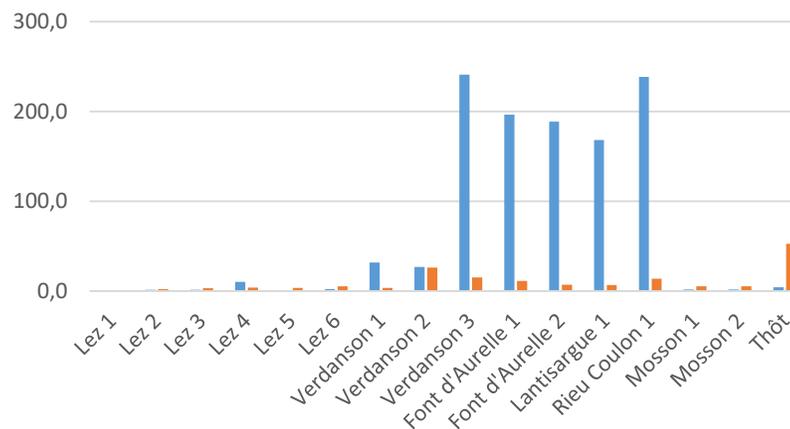
# Résultats AntibiEaux 2 « réservoir de résistances »

## Détermination des pourcentage de résistance au sein des communautés

Résistance Ceftazidime (CAZ) 4mg/L (%)

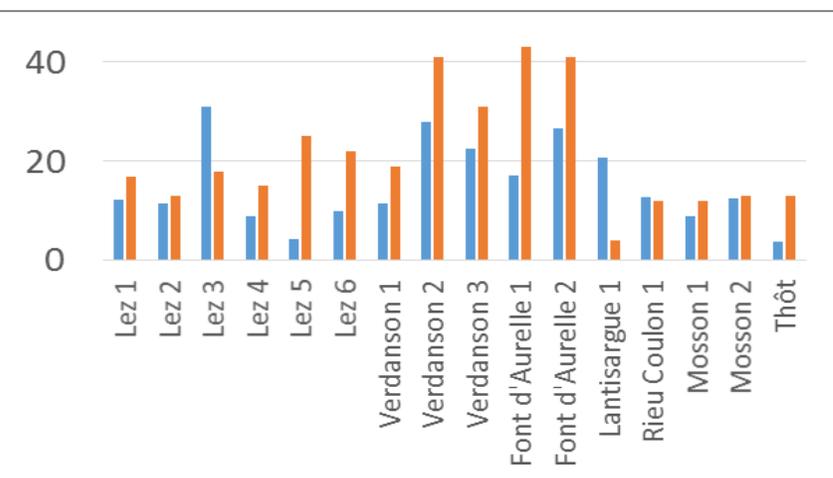


résistance TSA CAZ (4mg/L) normalisée

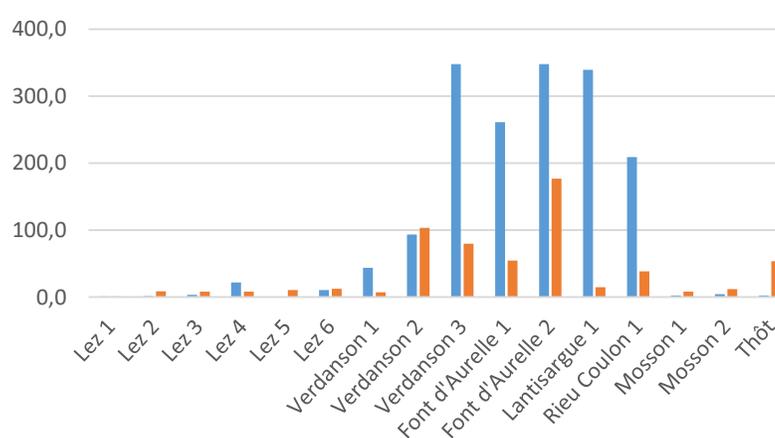


Ceftazidime = antibiotique de la famille des  $\beta$ -lactamines, dérivé d'ATB naturel  
⇒ Grandes variations spatiales et temporelle (saisonnière ?)  
⇒ Jusqu'à quasiment 100% de la communauté cultivable peut être résistante.

Résistance Ofloxacine 1mg/L (%)



Résistance Ofloxacine (1mg/L) normalisée



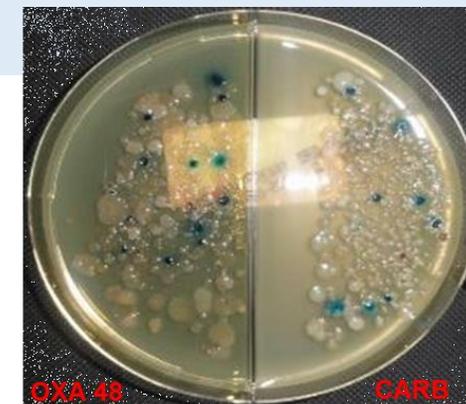
Ofloxacine = ATB de synthèse  
⇒ Niveau de résistance max. = environ 40%  
⇒ Moins de variation temporelle

⇒ +++ au niveau des sites urbains

# Résultats AntibiEaux 2 « réservoir de résistances »

## Recherche de pathogènes humains résistants

**Souches B26 et B28** : *E.coli* porteurs du gène de résistance  $bla_{NDM-5}$ , porté sur un plasmide autotransférable

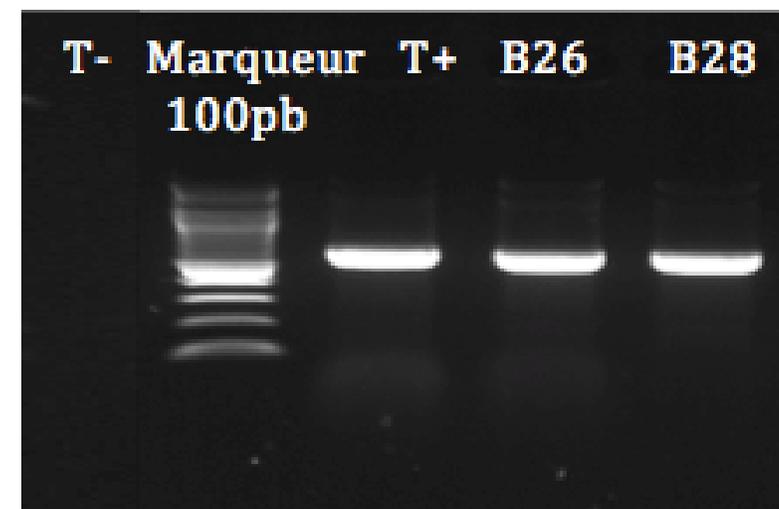


### NDM-5- producing-*Escherichia coli* in an urban river in Montpellier, France

A. Almakki, A. Maure, A. Pantel, S. Romano-Bertrand, A. Masnou, H. Marchandin, E. Jumas-Bilak, P. Licznar-Fajardo

Article soumis à *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*  
le 14 février 2017

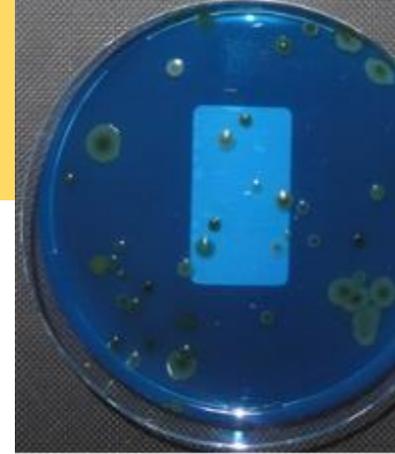
PCR NDM-spécifique



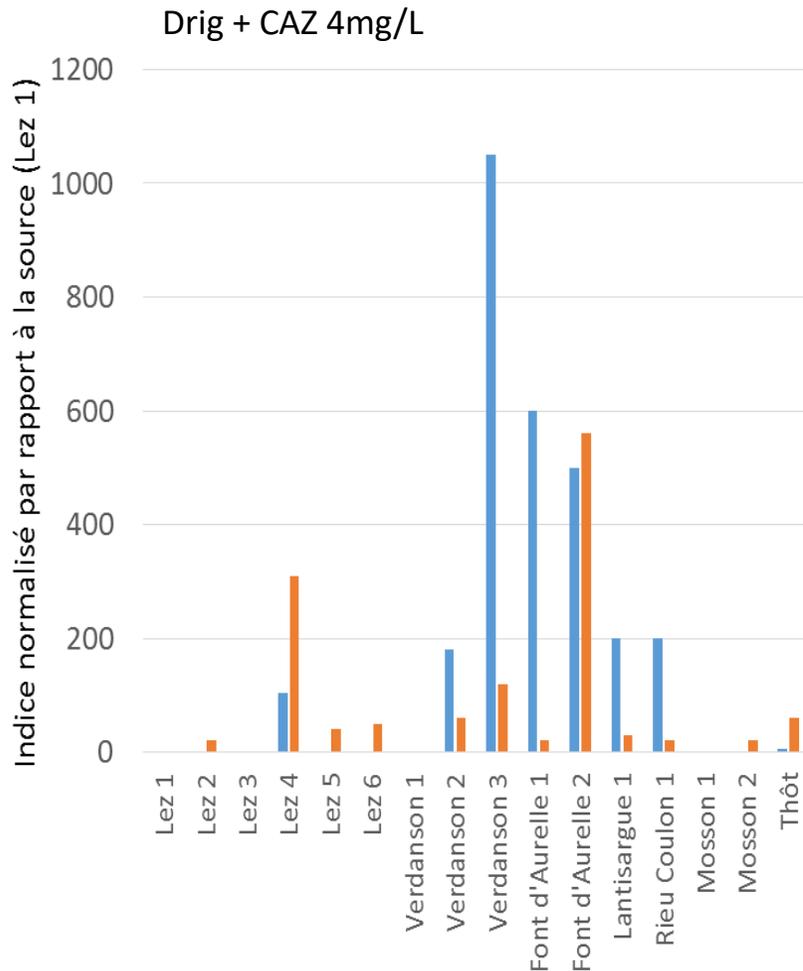
09/05/2016

12/12/2016

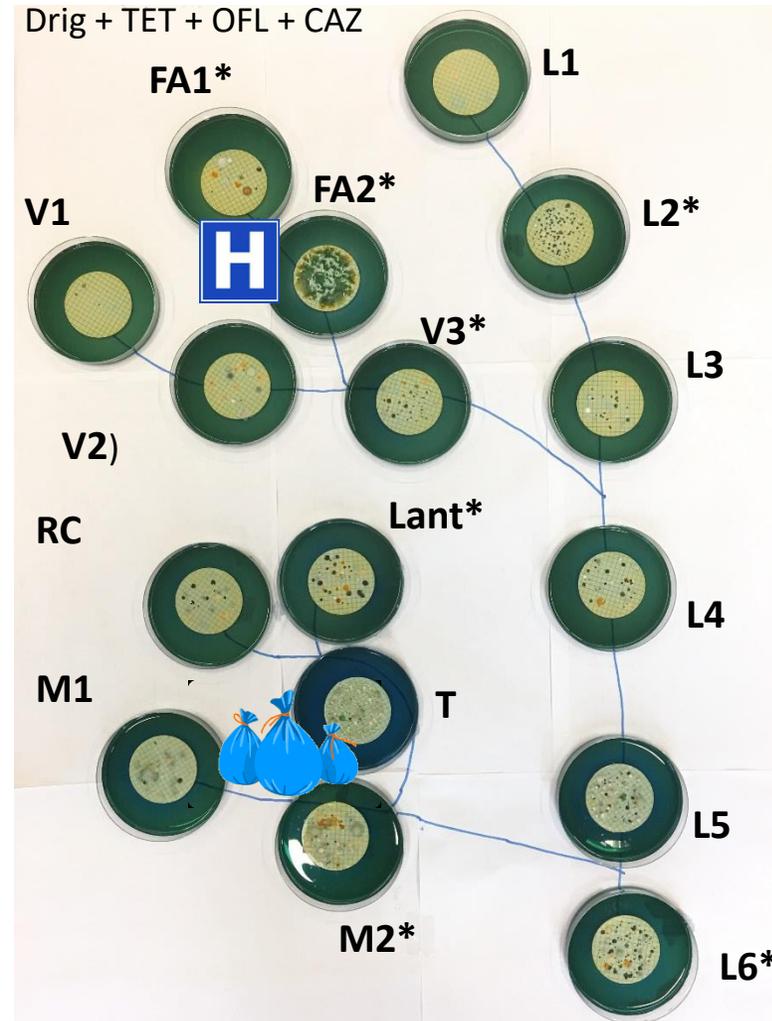
# Projet AntibiEaux 3 : Recherche d'indicateurs biologiques



**Au niveau communauté :**  
Quantification des bacilles à Gram négatif résistants à la ceftazidime



**Au niveau des souches :** caractérisation des bacilles à Gram négatif multirésistants

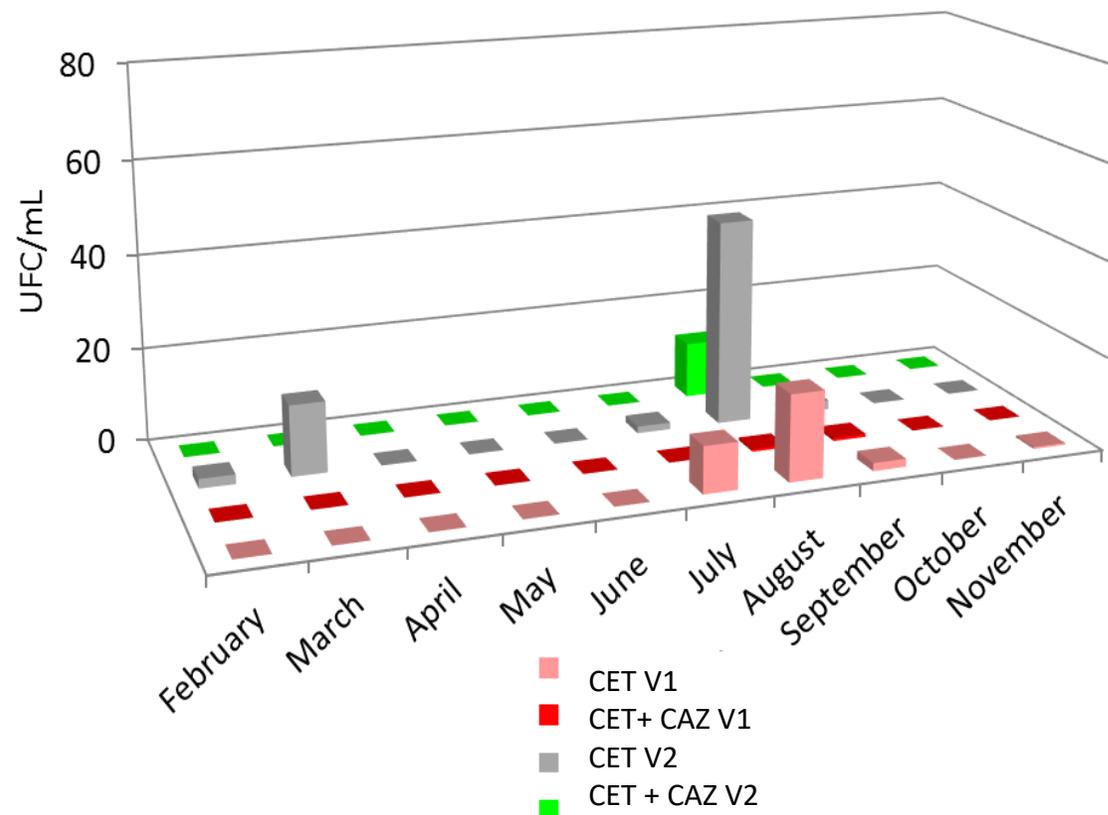
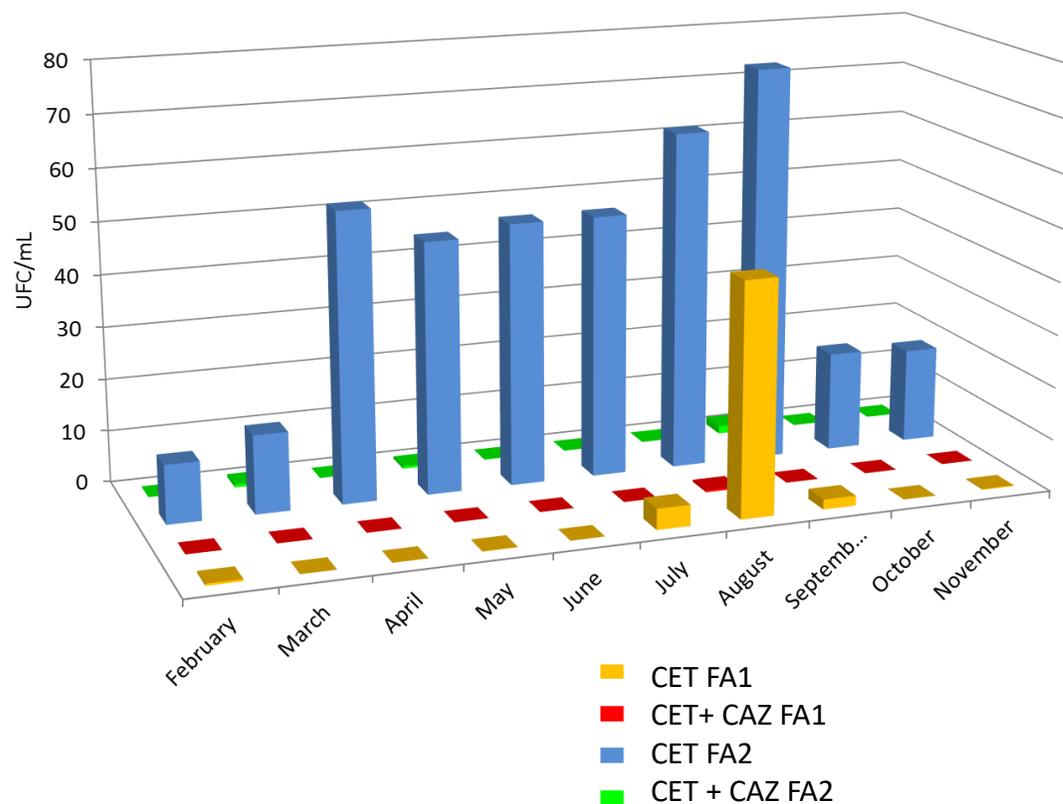


Campagne 12/12/2016 :  
20% des souches identifiées =  
entérobactéries\*  
*E. coli*  
*Enterobacter aerogenes*  
*Klebsiella pneumoniae*

72% porteuse d'une BLSE  
 $\beta$ -lactamase à spectre étendu  
0% L2 et V3  
100% FA1 FA2 lant M2 et L6

# Projet AntibiEaux 3 : Recherche d'indicateurs biologiques

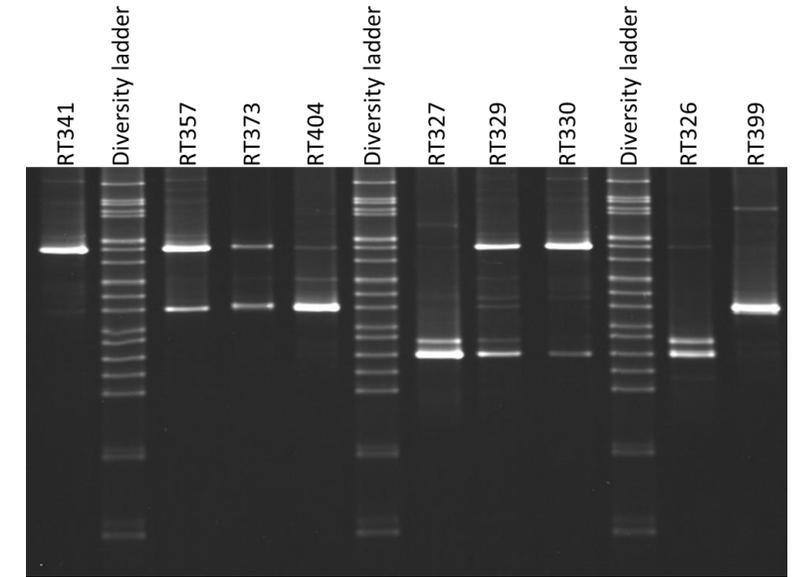
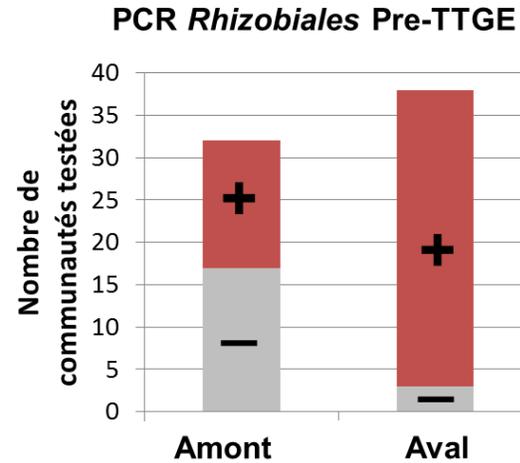
*Pseudomonas aeruginosa* like (gélose au cétrimide, 42°C)



# Projet AntibioEaux 3 : Recherche d'indicateurs biologiques

## *Ochrobactrum anthropi*

Lors d'une étude antérieure, cette espèce a été retrouvée spécifiquement dans des milieux anthropisés<sup>1</sup> => va être recherchée dans les communautés



Identification moléculaire des *Rhizobiales*

## Quantification de gènes d'intérêt

- Gènes de résistance : carbapénémases, BLSE, ...
- Intégrons (responsables de la dissémination de gènes de résistance)



Quantification par qPCR

<sup>1</sup> F. Aujoulat *et al.*, Multidrug resistant *Rhizobiales* in a urban river around an hospital in Montpellier, France, 3rd International Symposium on the Environmental Dimension of Antibiotic Resistance (EDAR3), Wernigerode, Germany, mai 2015

# Conclusions

## **Ce travail exploratoire a montré :**

- De grandes variations spatio-temporelle en termes qualitatif (niveaux de résistance) et quantitatifs (indicateurs de contamination fécale, abondance de bactéries cultivables totales)
- Une Influence d'activités humaines (en particulier hospitalières)

## **Il sera poursuivi avec :**

- Des campagnes de prélèvements supplémentaires en conditions hydrologiques contrastées
- Un couplage des données avec les données physico-chimiques mesurées en parallèle des prélèvements (projet Quali-Lez)
- Une exploration des autres compartiments :
  - biofilm (connu pour être un lieu privilégié d'échanges génétiques),
  - sédiments (ou se concentrent les contaminants)

## Attentes vis-à-vis de l'OHM

- 1) Coopération synergique entre projets soutenus par l'OHM sur ce même site territorial :
  - Projet Quali-Lez
  - Thèse de M. Rio
- 2) Accès aux actualités scientifiques et aux études/données des participants au réseau

### **Merci à tous les étudiants impliqués dans ces projets :**

Ayad Almakki (2013-2017), Thèse, financé par Campus France

Célia Roure (2014), Master 1 (Projet AntibioEaux)

Thibaut Guillou (2015), Master 1 (projet AntibioEaux)

Alexandra Maure (2016 et 2017), 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> année de Pharmacie (Projet AntibioEaux 2)

Rose Ragot (2016 et 2017), Master 1 & 2 (projet AntibioEaux 2\* & 3)

\* Financement OHM