



Bilan projet AntibioEaux 3 (Session 2017)

Antibiorésistance (ATBR) dans les eaux naturelles de la zone urbaine de Montpellier

Principaux participants :

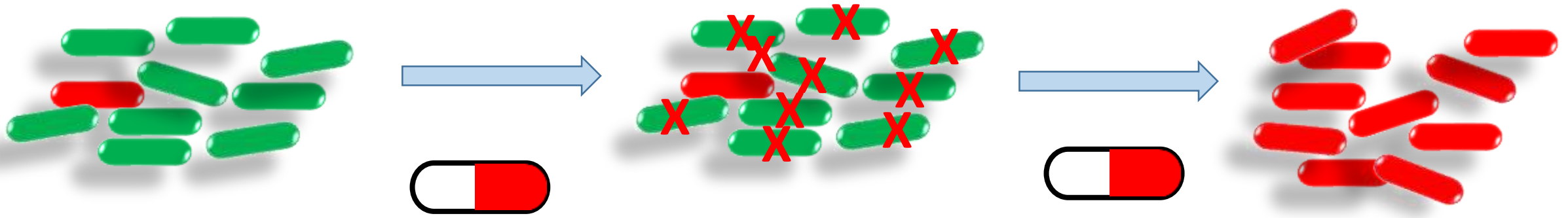
Fabien AUJOULAT, Estelle JUMAS-BILAK, Patricia LICZNAR-FAJARDO

HSM, UMR5569, UM-CNRS-IRD, Montpellier





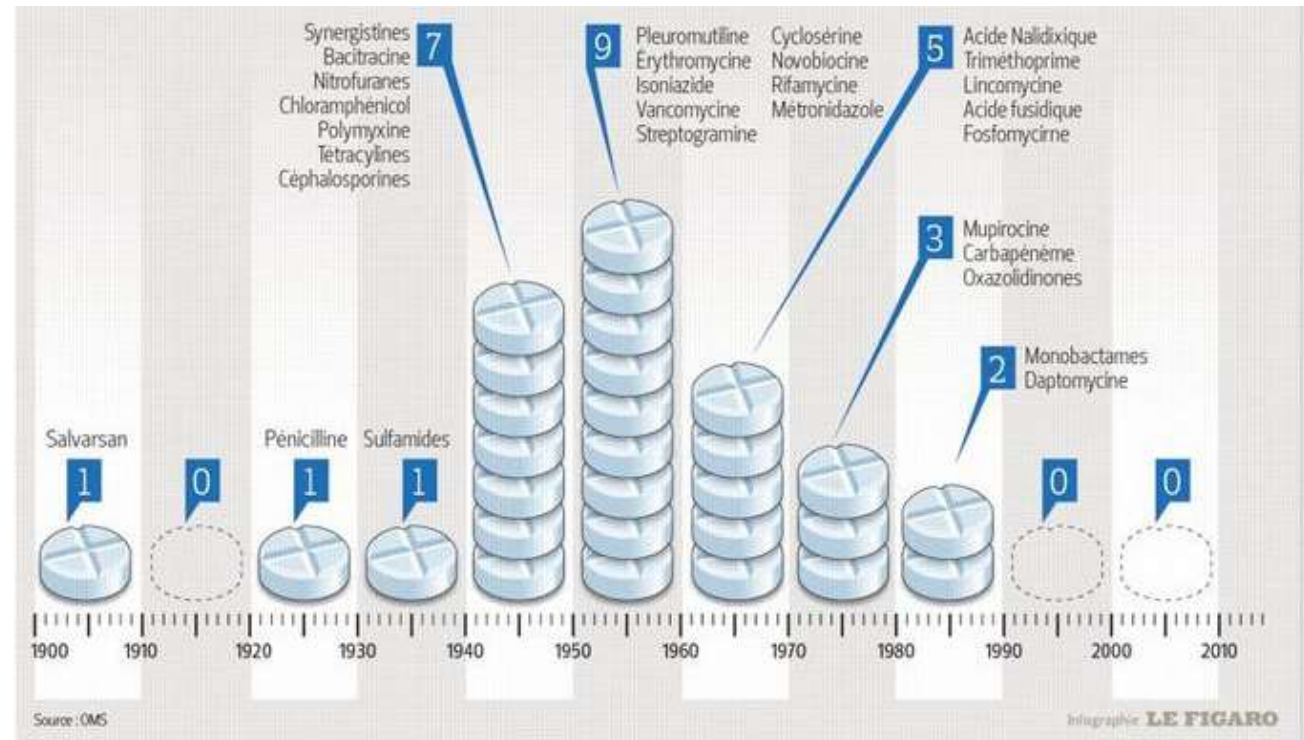
HydroSciences
Montpellier

Problématique générale de l'antibiorésistance



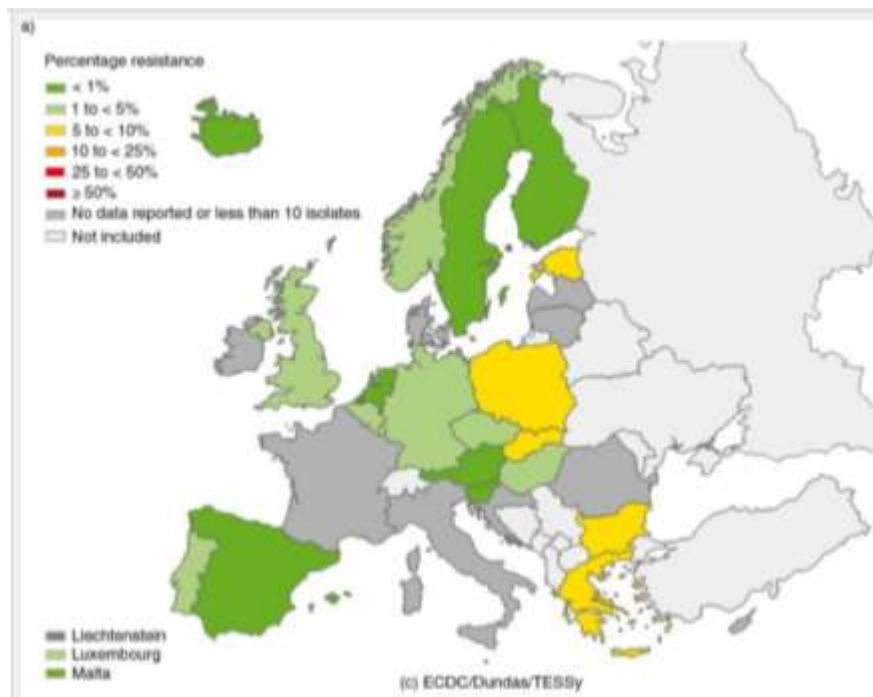
Pression de sélection
(antibiotiques)

 Bactérie sensible
 Bactérie résistante

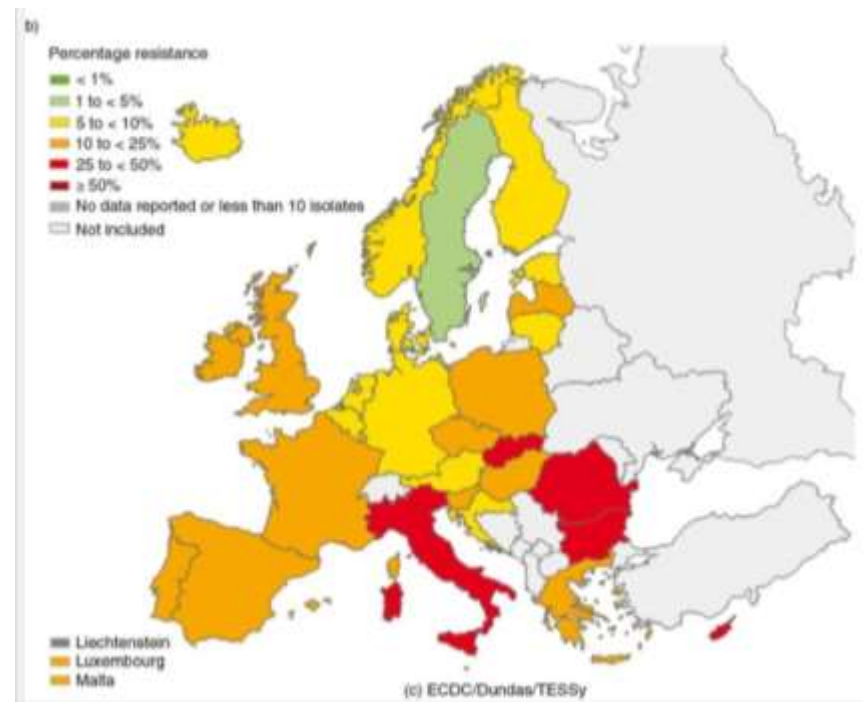


Problématique d'aujourd'hui...

2001



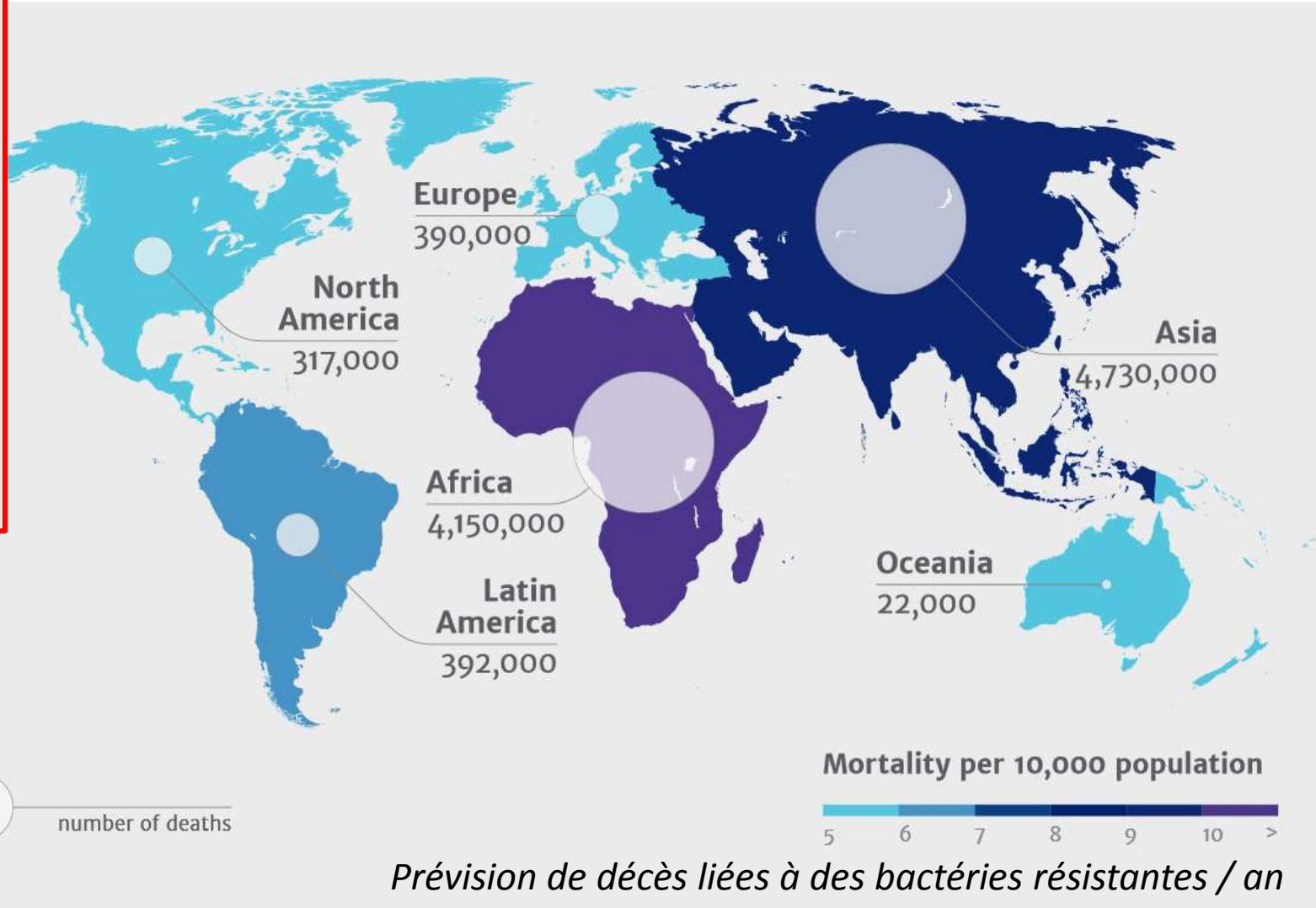
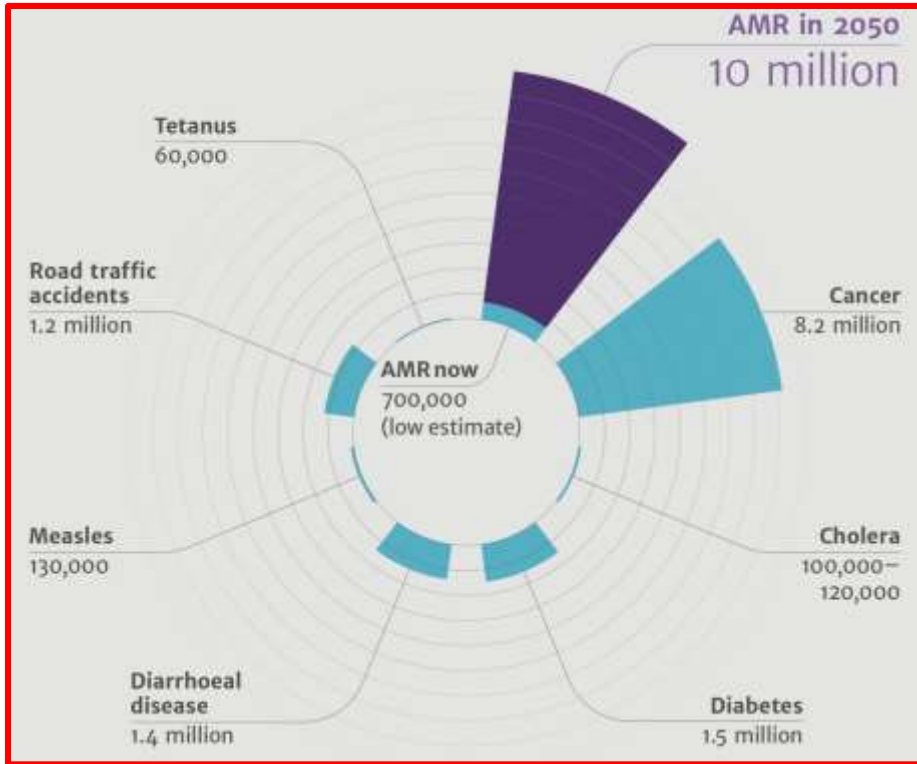
2012



Proportion d'*E.coli* (d'infections invasives) résistants aux Céphalosporines de 3ème génération

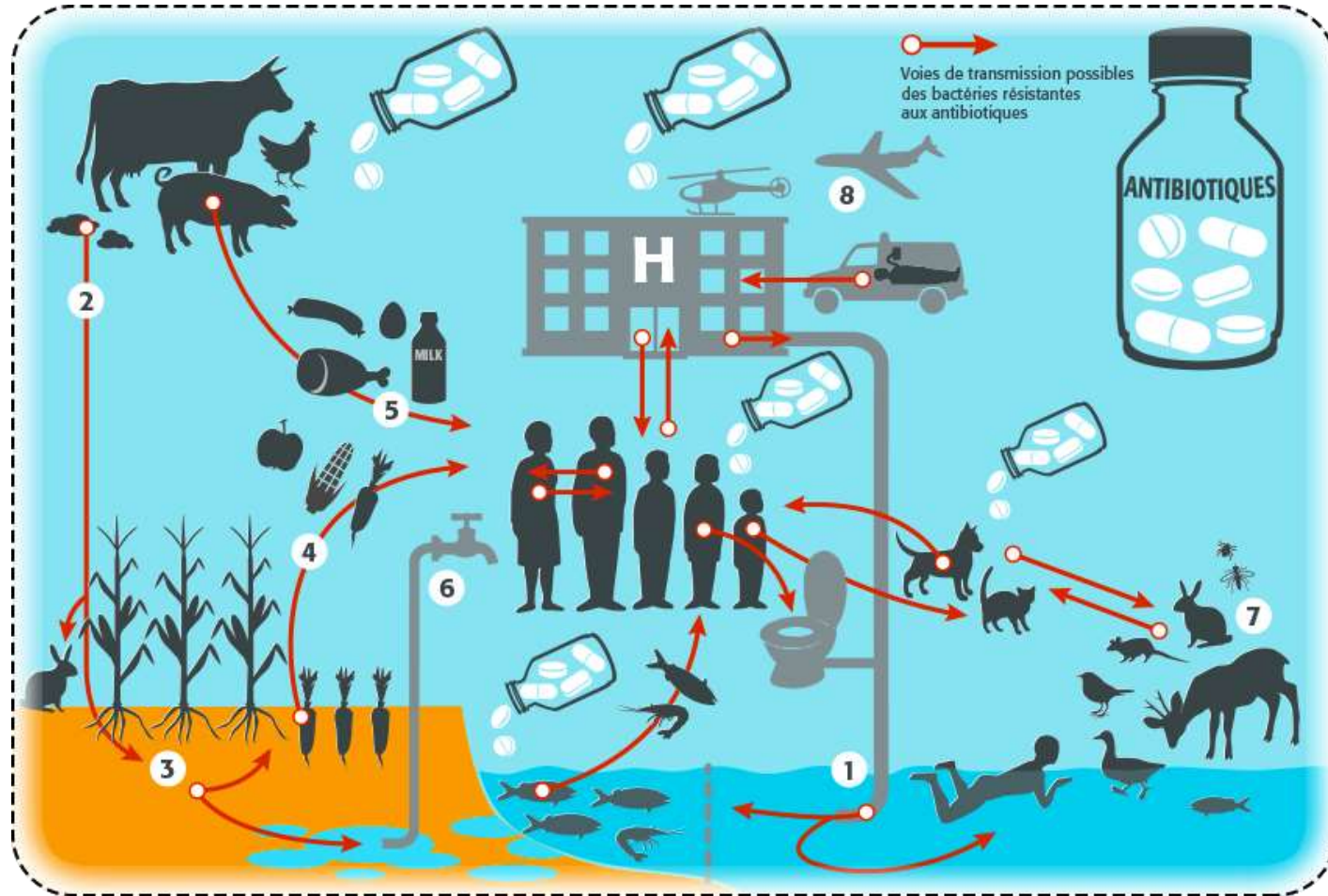
... et de demain

Prévisions pour 2050...



10 millions de décès par an

Problématique à l'interface santé ↔ environnement



<https://www.antimicrobial-resistance.biomerieux.com/fr/popup/les-bacteries-et-lenvironnement/>



Organisations pour lutter contre l'antibiorésistance



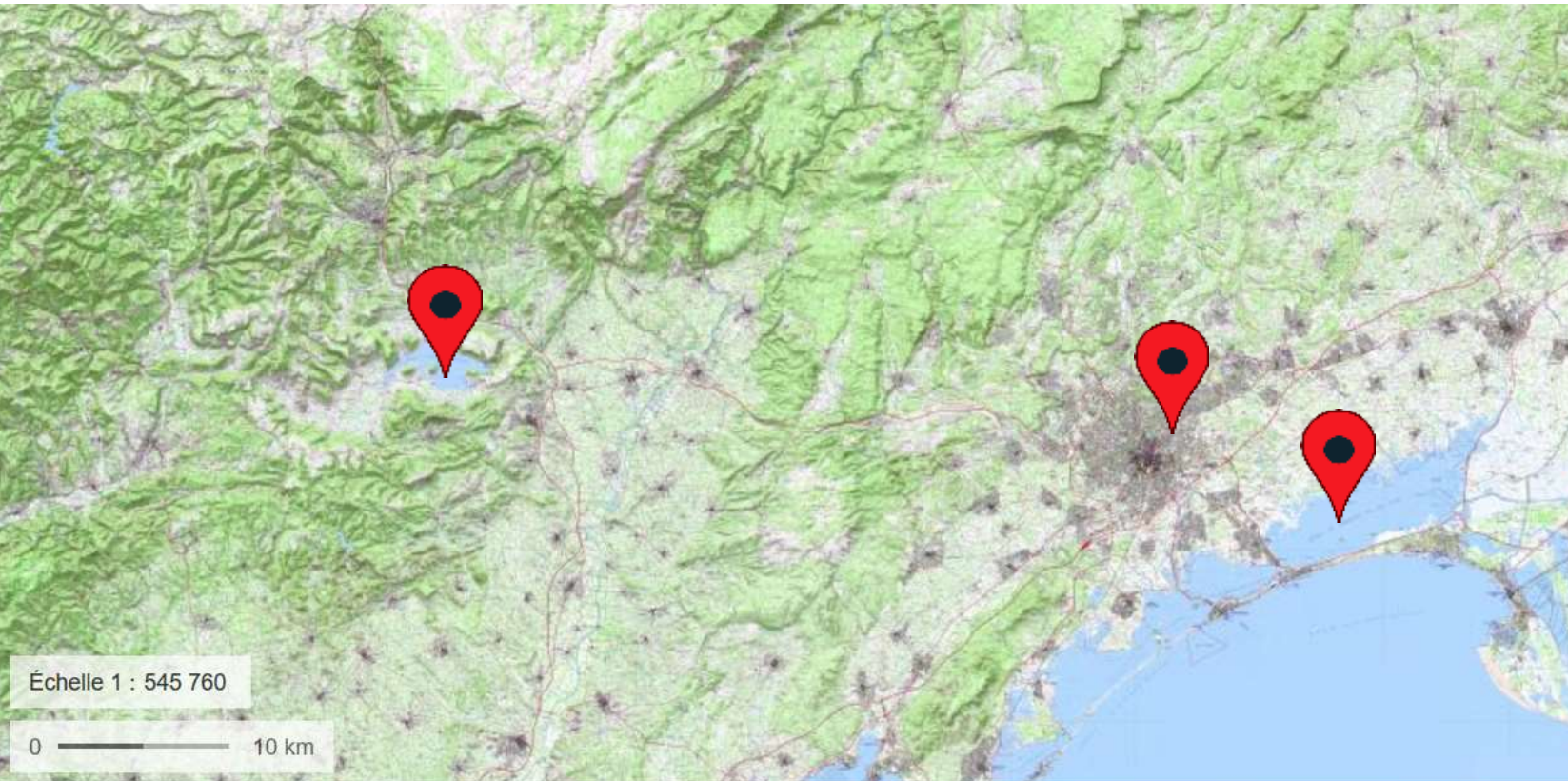
JORF n°0140 du 19 juin 2014
texte n° 26

Décret n° 2014-629 du 18 juin 2014 portant création du comité interministériel pour la santé



Soutien de l'OHM

2014 : Projet AntibioEaux : mise en œuvre de méthodes originales pour explorer l'antibiorésistance environnementale



Méthodologie applicable sur des eaux de nature contrastée : eau de lagunes, lac, rivière urbaine

Publication :

Almakki A., et al. A new methodology to assess antimicrobial resistance of bacteria in coastal waters; pilot study in a Mediterranean hydrosystem. CR Geoscience. **2017**, 349, 310-318.

Travaux de stagiaires :

Initiation de la thèse Ayad Almakki 2014-2017
Master 1 Célia Roure 2014
Master 1 Thibaut Guillou 2015

Présentations en congrès :

- 1) Almakki A., et al. Pathobiomes: pathogens in microbiotas in hosts, Paris, France, June **2015**
- 2) Almakki A., et al., Journée des doctorants de l'IM2E ; Montpellier, 20 mars **2015**
- 3) Guillou T et al., VIIème colloque de l'Association Francophone d'Ecologie Microbienne (AFEM), Anglet, 3-6 nov. **2015**

Soutien de l'OHM

2016 : Projet AntibioEaux 2 : exploration de l'antibiorésistance le long d'un continuum hydrique soumis à diverses pressions anthropiques

Publication :

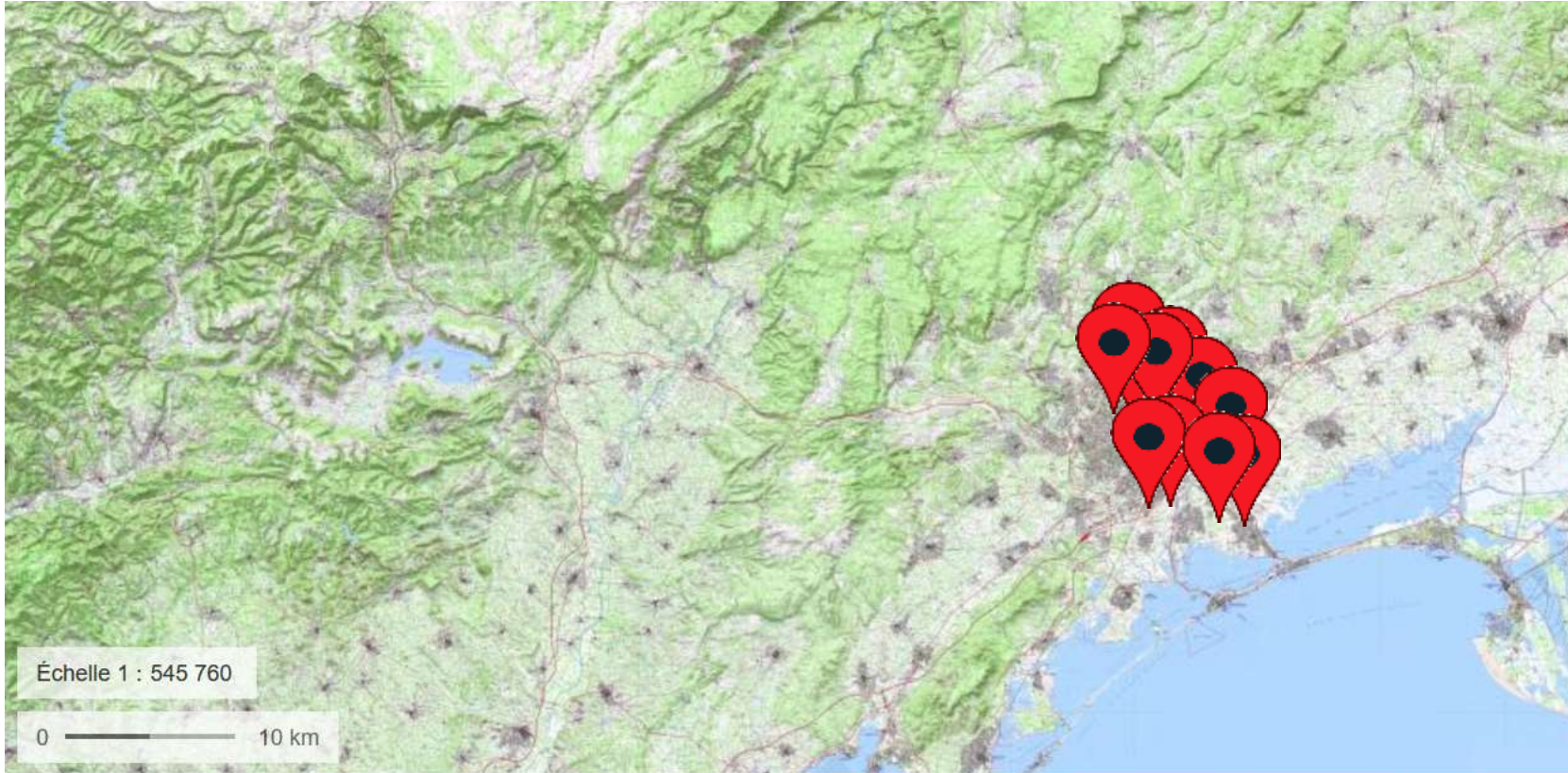
Almakki A., et al., NDM-5-producing *Escherichia coli* in an urban river in Montpellier, France. *Int J Antimicrob Agents*. **2017**, Jul;50(1):123-124.

Travaux de stagiaires :

Suite de la thèse Ayad Almakki 2014-2017
Master 1 Rose Ragot 2016
Master 2 Rose Ragot 2017

Présentations en congrès :

Aujoulat F., et al., Exploration de l'antibiorésistance dans des communautés bactériennes hydriques de la région de Montpellier, Microbioccitanie, Toulouse, 24-26 avril **2017**



Initiation d'un travail **transdisciplinaire** (avec l'équipe PUrH) pour caractériser la contribution des activités anthropiques aux apports de contaminants : qualité chimique de l'eau, screening de contaminants à mettre en regard de la qualité microbiologique

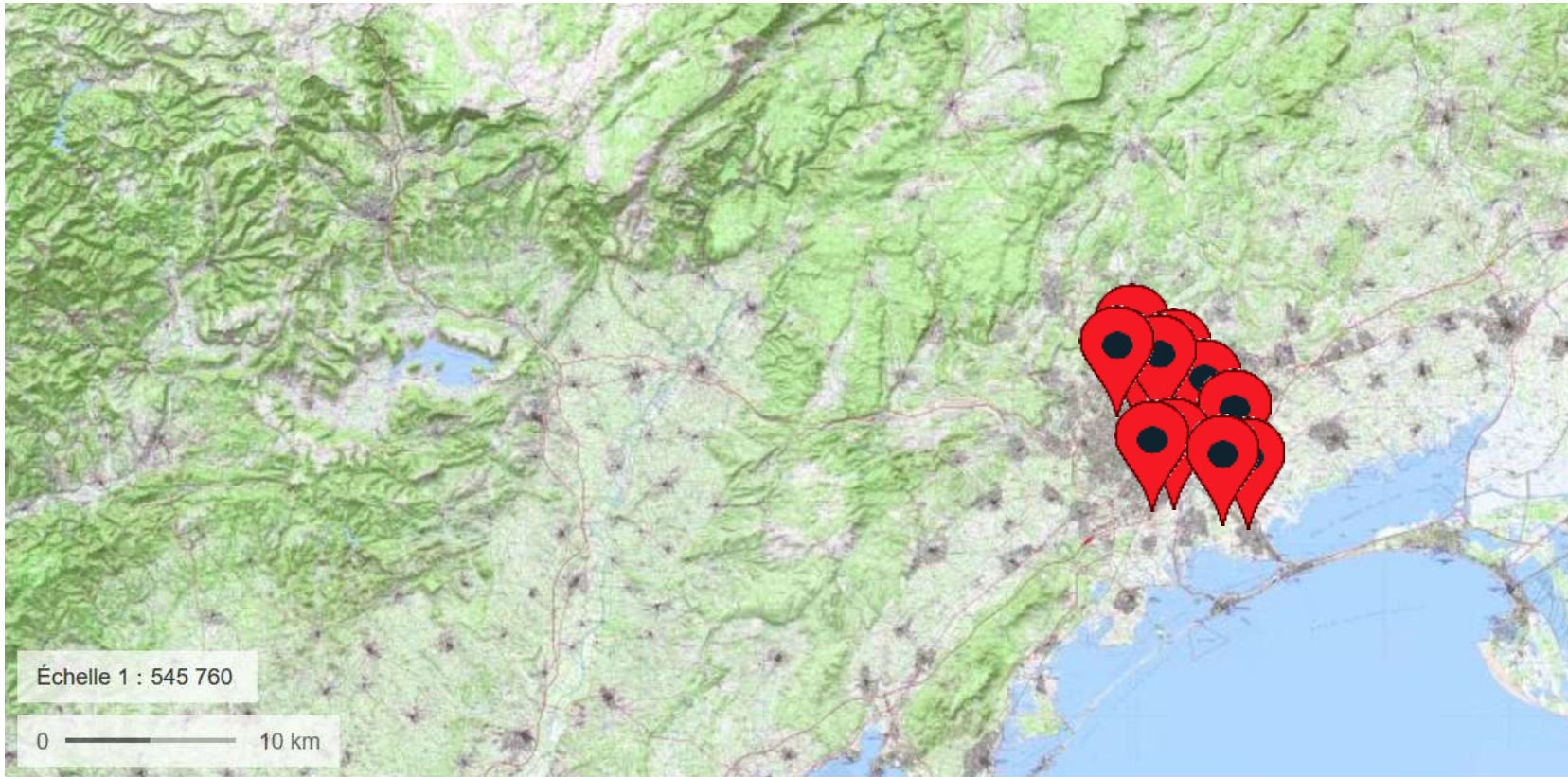
Soutien de l'OHM

2017 : Projet AntibioEaux 3 : recherche d'indicateurs biologiques

Travaux de stagiaires :

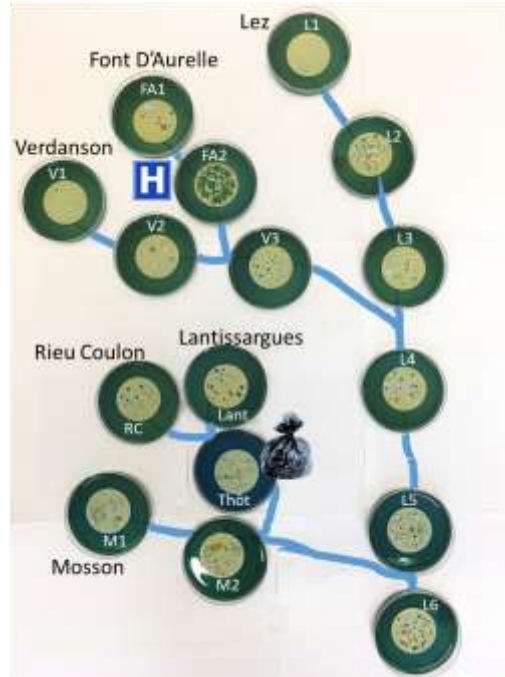
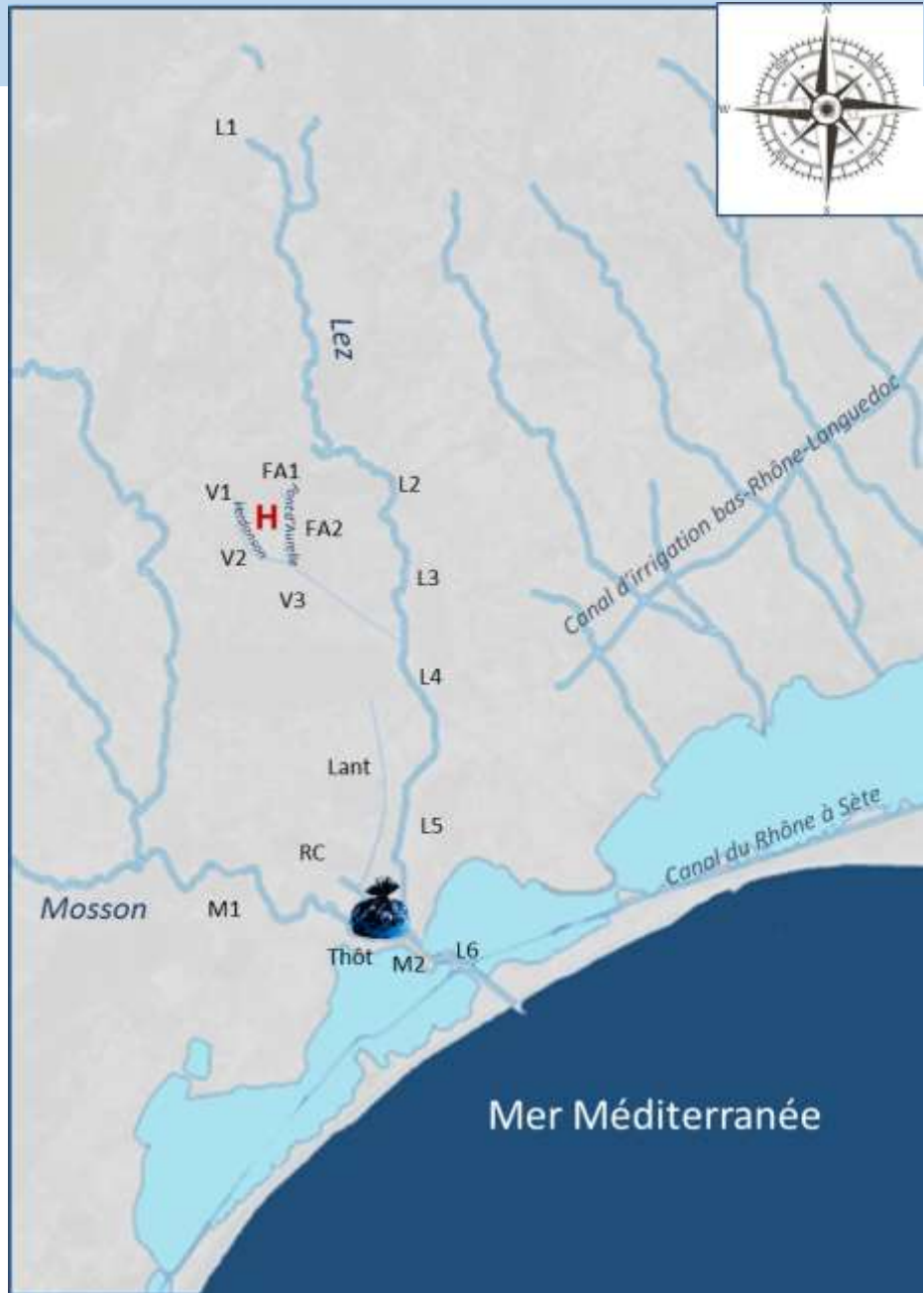
- Master 1 Alexandra Maure 2017
- Master 1 Jeremy Campillo 2017
- Master 1 Benjamin Durand 2018
- Master 1 Mathilda Bastide (2018, à venir)

Poursuite du travail **transdisciplinaire**
(avec l'équipe PUrH)



Identifier des marqueurs / **indicateurs biologiques** pour explorer l'ATBR d'environnements hydriques en zone urbaine
apports de contaminants d'origine anthropique ↔ résistance des communautés bactériennes

Recherche d'indicateurs biologiques




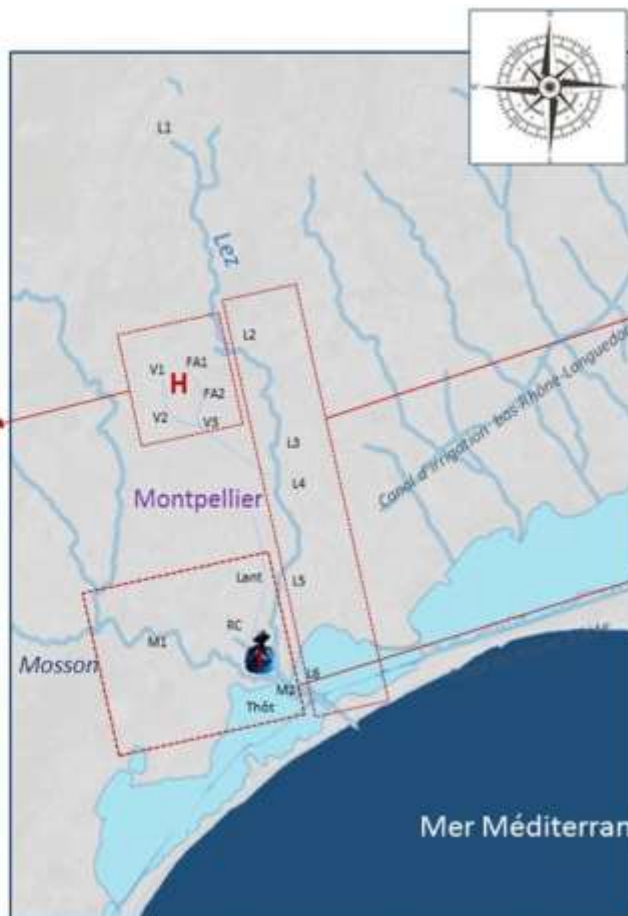
A partir de la campagne d'échantillonnage du 12/12/2016 :

- 1) Entérobactéries multirésistantes :**
 - Mise en culture des échantillons d'eau sur milieu sélectif : gélose Drigalski + Cefotaxime (4 mg/L) + Tétracycline (8 mg/L) + Ofloxacine (1 mg/L)
 - Identification (MALDI-TOF)
 - Caractérisation (Antibiogramme, PCR)
- 2) Intégrons :** Recherche et quantification (qPCR)
- 3) Bactéries pathogènes opportunistes** (témoins d'anthropisation) : PCR TTGE

Indicateur 1 : les entérobactéries multirésistantes

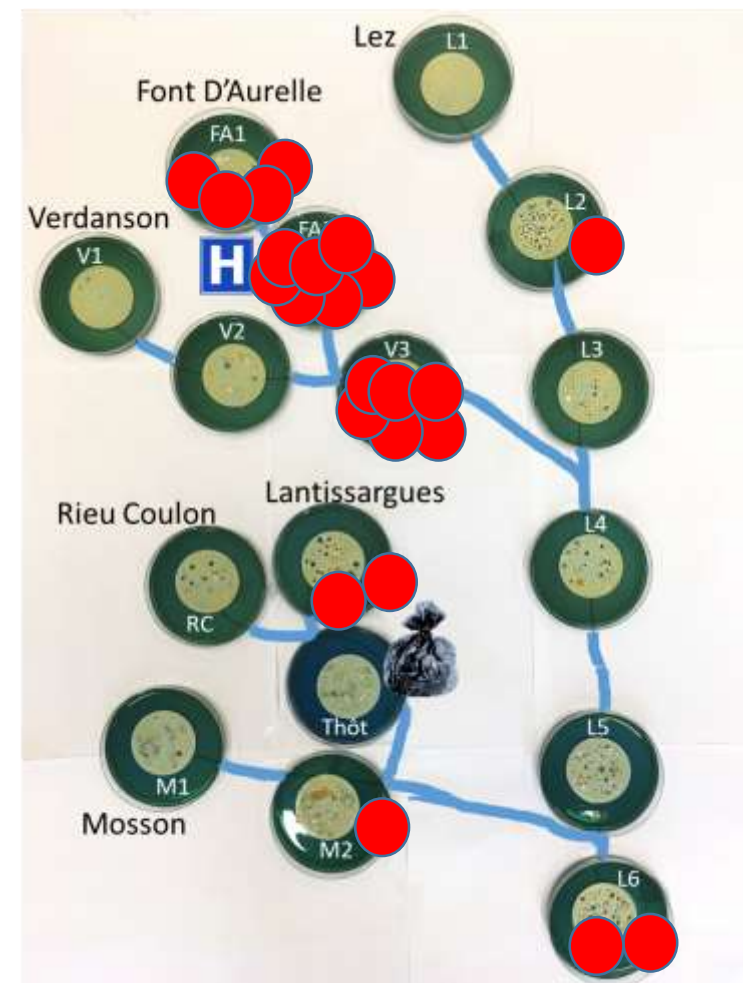
Légende

- H** Hôpital
-  Ancienne décharge du Thôt



- FA1**
Escherichia coli (2)
Klebsiella pneumoniae (2)
Aeromonas eurcrenophila (1)
- FA2**
Escherichia coli (4)
Klebsiella pneumoniae (3)
Ochrobactrum anthropi (1)
- V1**
 Absence de souches
- V2**
Rhodotorula mucilaginosa (1)
Aeromonas veronii (1)
- V3**
Aeromonas media (1)
Enterobacter aerogenes (6)
Stenotrophomonas maltophila (1)

- L2**
Escherichia coli (1)
Aeromonas media (11)
Aeromonas caviae (3)
- L3**
Aeromonas media (5)
Aeromonas caviae (3)
Rhodotorula mucilaginosa (2)
- L6**
Aeromonas caviae (1)
Aeromonas veronii (2)
Escherichia coli (2)
Aeromonas salmonicida (1)
Aeromonas hydrophila (1)
- L4**
Aeromonas media (4)
Aeromonas veronii (2)
Stenotrophomonas maltophila (1)
Rhodotorula mucilaginosa (1)
Ochrobactrum anthropi (1)
Acinetobacter johnsonii (1)
Pandoraea sputorum (1)
- L5**
Aeromonas caviae (1)
Aeromonas veronii (2)
- RC**
Stenotrophomonas maltophila (1)
Aeromonas caviae (3)
- M1**
Ochrobactrum intermedium (2)
Aeromonas veronii (1)
- Thôt**
Stenotrophomonas maltophila (1)
- LANT**
Aeromonas caviae (5)
Aeromonas veronii (5)
Escherichia coli (2)
Aeromonas media (2)
- M2**
Klebsiella pneumoniae (1)
Aeromonas caviae (3)
Aeromonas veronii (2)
Aeromonas media (2)
Acinetobacter johnsonii (1)

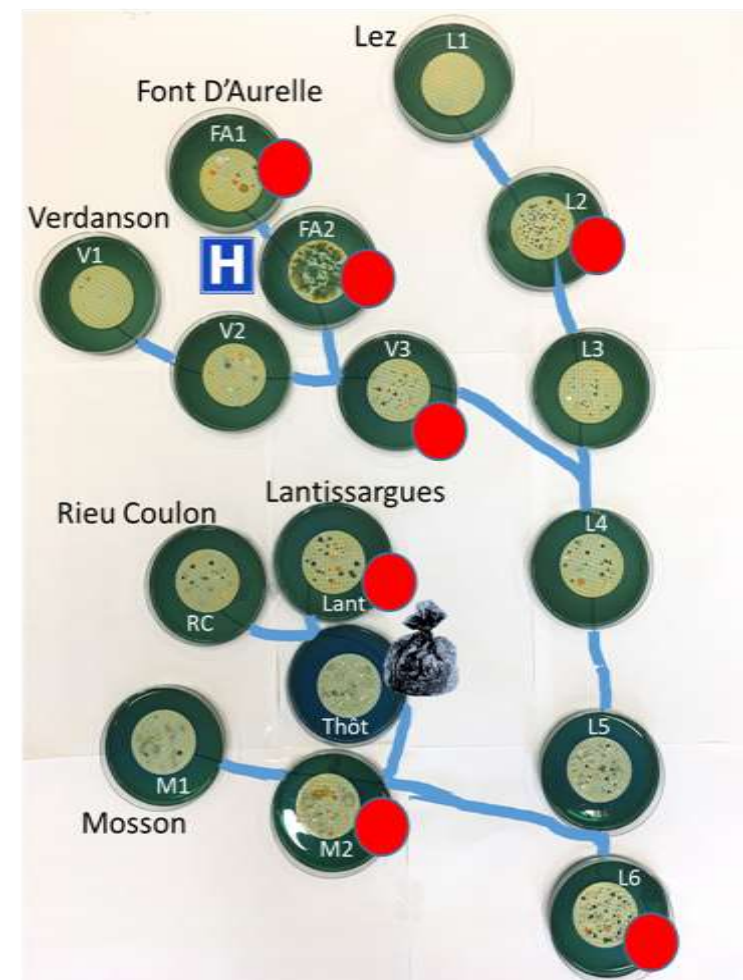



 Entérobactéries multirésistantes

Indicateur 1 : les entérobactéries multirésistantes

Site	Souche	espèce	Famille de résistance	Indice MAR
L2	2 L2 E14	<i>E.coli</i>	B-lactamines	0,13
L6	2 L6 E5	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,29
	2 L6 E7	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,39
FA1	2 FA1 E1 A	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines	0,42
	2 FA1 E5	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,55
	2 FA1 E1 B	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,65
	2 FA1 E2	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,65
FA2	2 FA2 E3	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,58
	2 FA2 E1	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Sulfamides	0,32
	2 FA2 E4 a	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Phénicolés, Cyclines, Sulfamides	0,29
	2 FA2 E4 bB	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,58
	2 FA2 E6	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Sulfamides	0,39
V3	2 V3 E1	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines, Cyclines	0,39
	2 V3 E7	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines, Cyclines	0,35
	2 V3 E4	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines	0,29
	2 V3 E5	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines, Cyclines	0,39
	2 V3 E8	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines	0,32
	2 V3 E6	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines	0,42
LANT	2 LANT E4	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,52
	2 LANT E10	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,52
M2	2 M2 E5	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,48

MAR = Multiple antibiotic resistance (Krumperman, 1983)= ratio du nombre d'antibiotique auxquels la souche bactérienne est résistante sur le total d'antibiotique testé (ici 31). Plus le ratio est grand, plus la souche est résistante à un grand nombre de molécules antibiotiques

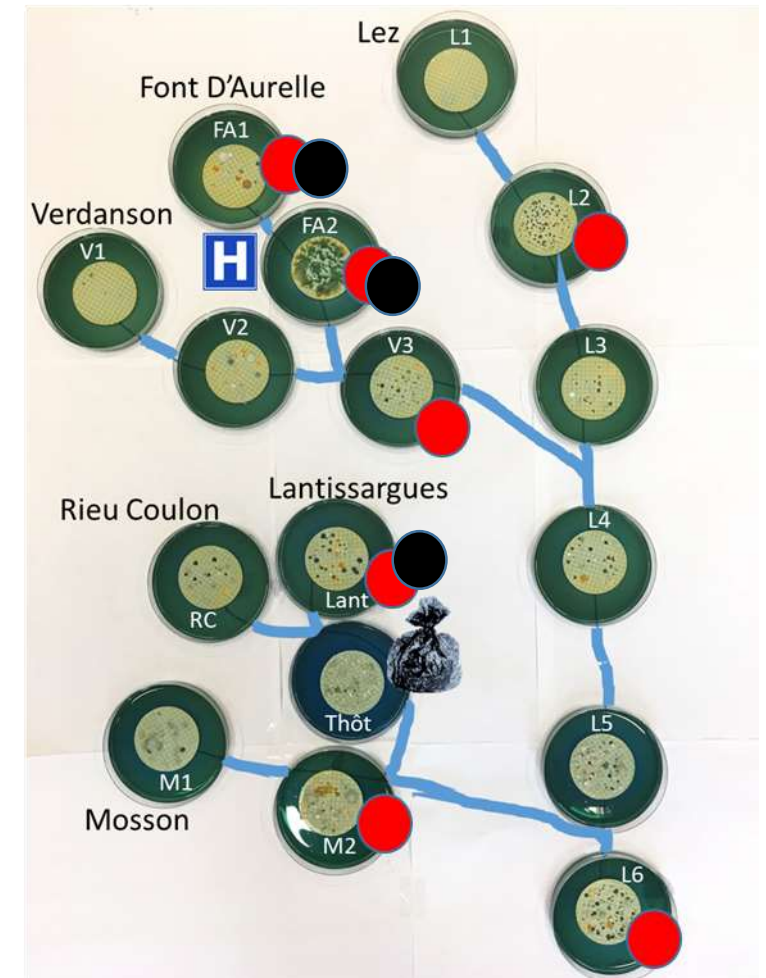


 Entérobactérie(s) multirésistante(s)

Indicateur 1 : les entérobactéries multirésistantes

Site	Souche	espèce	Famille de résistance	Indice MAR
L2	2 L2 E14	<i>E.coli</i>	B-lactamines	0,13
L6	2 L6 E5	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,29
	2 L6 E7	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,39
FA1	2 FA1 E1 A	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines	0,42
	2 FA1 E5	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,55
	2 FA1 E1 B	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,65
	2 FA1 E2	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,65
FA2	2 FA2 E3	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,58
	2 FA2 E1	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Sulfamides	0,32
	2 FA2 E4 a	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Phénicolés, Cyclines, Sulfamides	0,29
	2 FA2 E4 bB	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,58
	2 FA2 E6	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Sulfamides	0,39
V3	2 V3 E1	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines, Cyclines	0,39
	2 V3 E7	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines, Cyclines	0,35
	2 V3 E4	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines	0,29
	2 V3 E5	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines, Cyclines	0,39
	2 V3 E8	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines	0,32
	2 V3 E6	<i>E.aerogenes</i>	B-lactamines	0,42
LANT	2 LANT E4	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,52
	2 LANT E10	<i>E.coli</i>	B-lactamines, Cyclines, Quinolones	0,52
M2	2 M2 E5	<i>K.pneumoniae</i>	B-lactamines, Cyclines, Aminocyclitolés, Sulfamides	0,48

MAR = Multiple antibiotic resistance (Krumperman, 1983)= ratio du nombre d'antibiotique auxquels la souche bactérienne est résistante sur le total d'antibiotique testé (ici 31). Plus le ratio est grand, plus la souche est résistante à un grand nombre de molécules antibiotiques

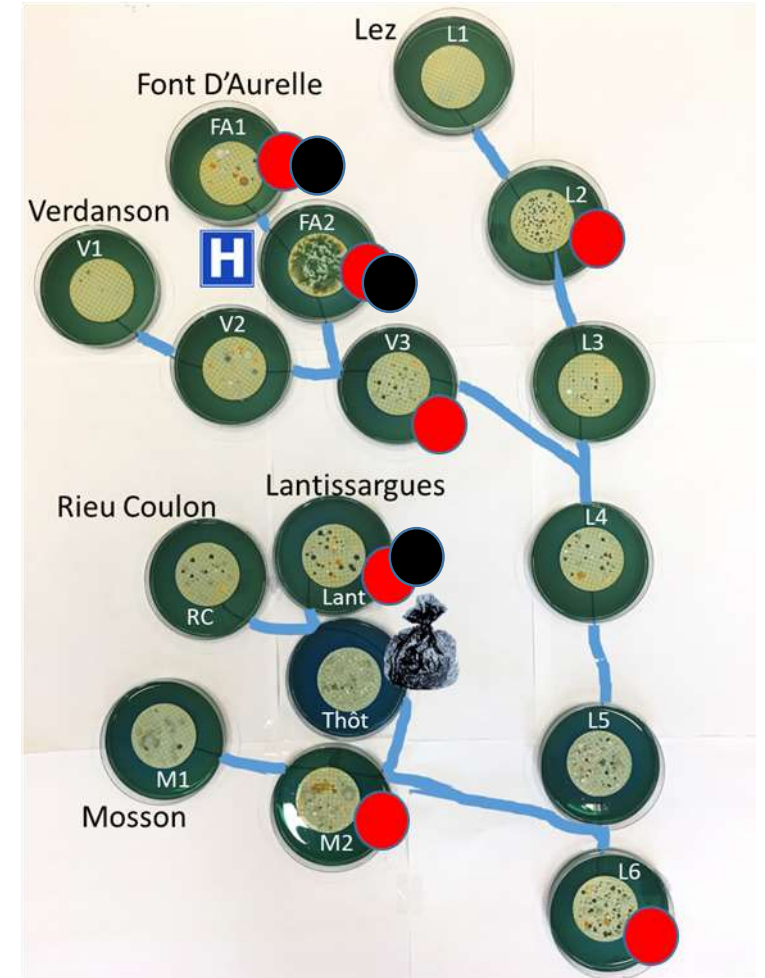


- Entérobactérie(s) multirésistante(s)
- Entérobactérie(s) MAR > 0,5

Indicateur 1 : les entérobactéries multirésistantes

Site	Souche	espèce	BLSE
L2	2 L2 E14	<i>E.coli</i>	+
L6	2 L6 E5	<i>E.coli</i>	+
	2 L6 E7	<i>E.coli</i>	+
FA1	2 FA1 E1 A	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA1 E5	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA1 E1 B	<i>E.coli</i>	+
	2 FA1 E2	<i>E.coli</i>	+
FA2	2 FA2 E3	<i>E.coli</i>	+
	2 FA2 E1	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA2 E4 a	<i>E.coli</i>	+
	2 FA2 E4 bB	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA2 E6	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA2 E5	<i>E.coli</i>	+
V3	2 V3 E1	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E7	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E4	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E5	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E8	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E6	<i>E.aerogenes</i>	-
LANT	2 LANT E4	<i>E.coli</i>	+
	2 LANT E10	<i>E.coli</i>	+
M2	2 M2 E5	<i>K.pneumoniae</i>	+

Données épidémiologiques :
 augmentation de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) : résistance principalement en lien avec la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE).

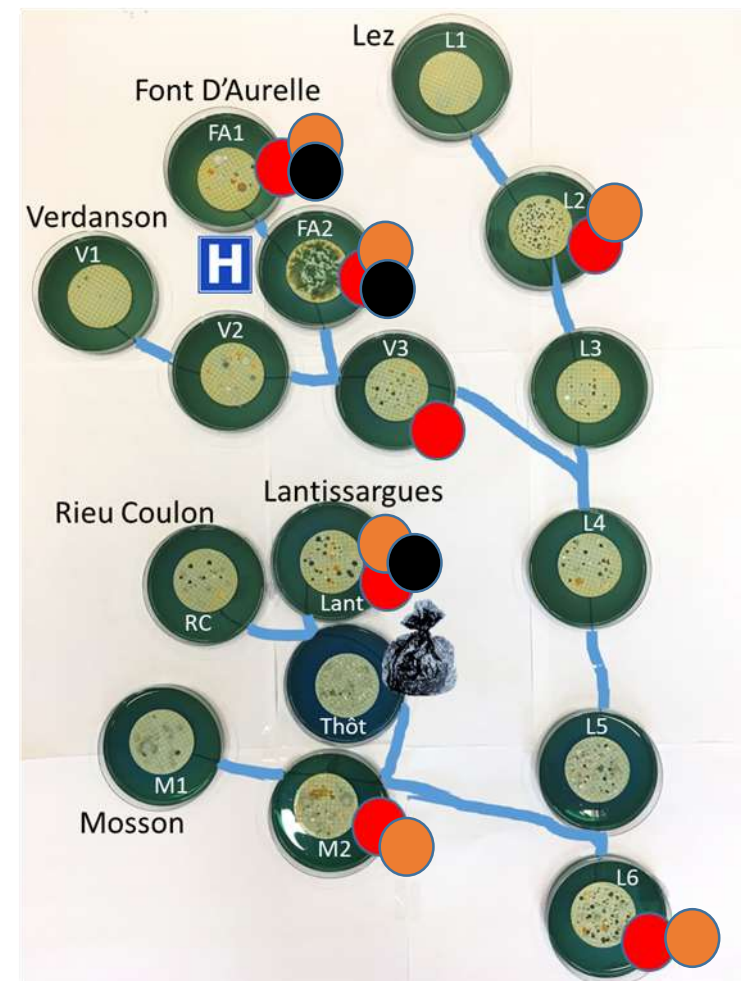


- Entérobactérie(s) multirésistante(s)
- Entérobactérie(s) MAR > 0,5

Indicateur 1 : les entérobactéries multirésistantes

Site	Souche	espèce	BLSE
L2	2 L2 E14	<i>E.coli</i>	+
L6	2 L6 E5	<i>E.coli</i>	+
	2 L6 E7	<i>E.coli</i>	+
FA1	2 FA1 E1 A	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA1 E5	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA1 E1 B	<i>E.coli</i>	+
	2 FA1 E2	<i>E.coli</i>	+
FA2	2 FA2 E3	<i>E.coli</i>	+
	2 FA2 E1	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA2 E4 a	<i>E.coli</i>	+
	2 FA2 E4 bB	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA2 E6	<i>K.pneumoniae</i>	+
	2 FA2 E5	<i>E.coli</i>	+
V3	2 V3 E1	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E7	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E4	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E5	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E8	<i>E.aerogenes</i>	-
	2 V3 E6	<i>E.aerogenes</i>	-
LANT	2 LANT E4	<i>E.coli</i>	+
	2 LANT E10	<i>E.coli</i>	+
M2	2 M2 E5	<i>K.pneumoniae</i>	+

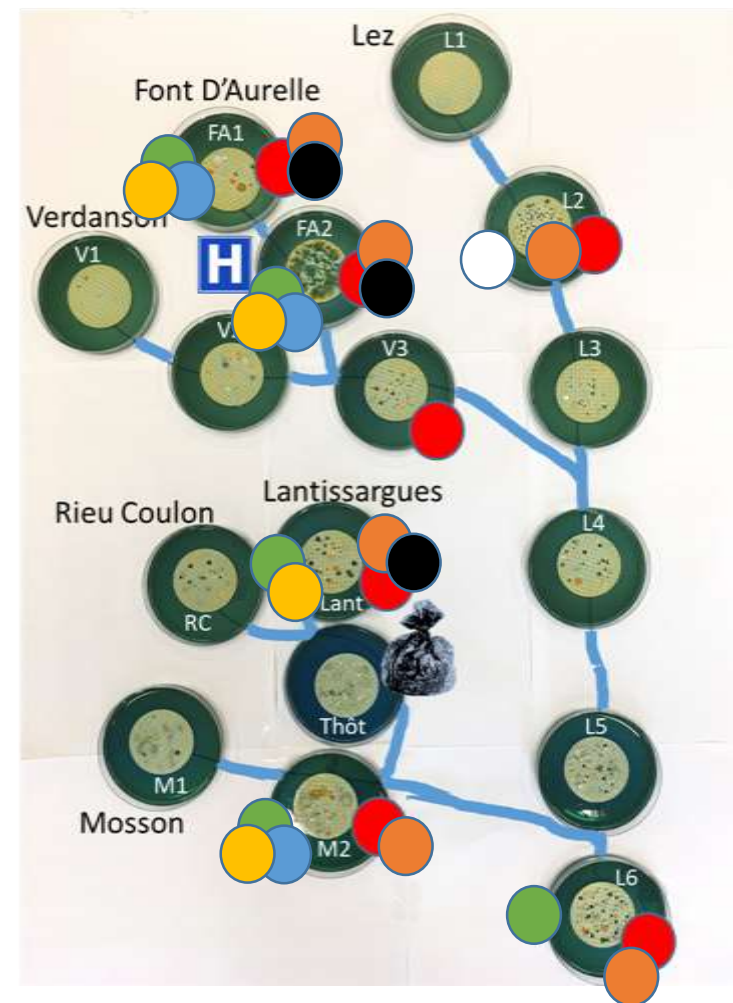
Données épidémiologiques :
 augmentation de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) : résistance principalement en lien avec la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE).



- Entérobactérie(s) multirésistante(s)
- Entérobactérie(s) MAR > 0,5
- Entérobactérie(s) productrice(s) de BLSE

Indicateur 1 : les entérobactéries multirésistantes

Site	Strain	Species	SHV	TEM	CTX
L2	2 L2 E14	<i>E.coli</i>	BLSE non identifiée		
L6	2 L6 E5	<i>E.coli</i>			+
	2 L6 E7	<i>E.coli</i>			+
FA1	2 FA1 E1 A	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+
	2 FA1 E5	<i>K.pneumoniae</i>	+		+
	2 FA1 E1 B	<i>E.coli</i>			+
	2 FA1 E2	<i>E.coli</i>			+
FA2	2 FA2 E3	<i>E.coli</i>			+
	2 FA2 E1	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+
	2 FA2 E4 a	<i>E.coli</i>		+	
	2 FA2 E4 bB	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+
	2 FA2 E6	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+
V3	2 V3 E1	<i>E.aerogenes</i>	Pas de BLSE Autres mécanismes de résistance		
	2 V3 E7	<i>E.aerogenes</i>			
	2 V3 E4	<i>E.aerogenes</i>			
	2 V3 E5	<i>E.aerogenes</i>			
	2 V3 E8	<i>E.aerogenes</i>			
	2 V3 E6	<i>E.aerogenes</i>			
LANT	2 LANT E4	<i>E.coli</i>		+	+
	2 LANT E10	<i>E.coli</i>		+	+
M2	2 M2 E5	<i>K.pneumoniae</i>	+	+	+

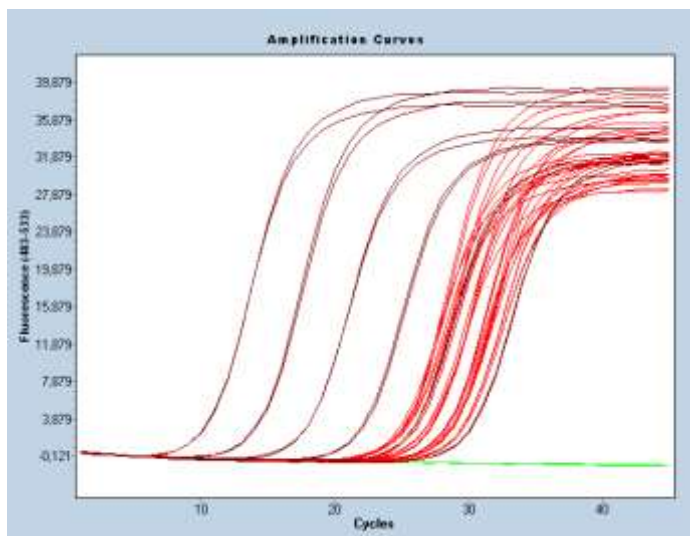
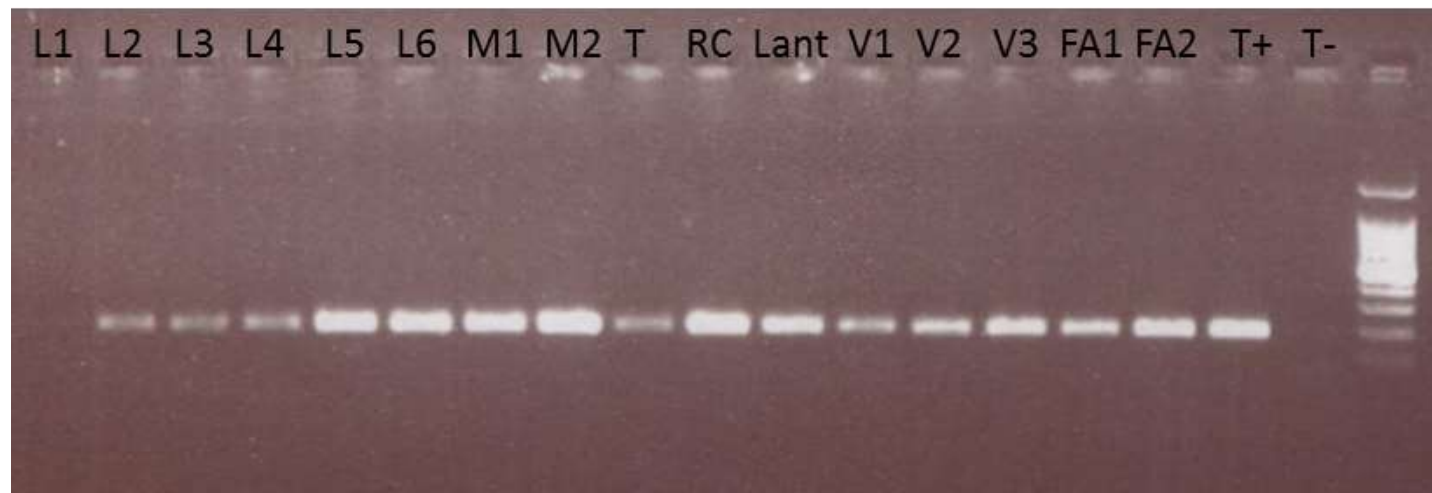


- Entérobactéries multirésistantes
- Entérobactéries productrices de BLSE
- Entérobactéries MAR > 0,5
- BLSE = SHV
- BLSE = TEM
- BLSE = CTX

Indicateur 2 : quantification des intégrons de classe 1



Intégron = système de capture et d'expression de gènes en particulier gènes de résistances
=> indicateur d'antibiorésistance (gènes)

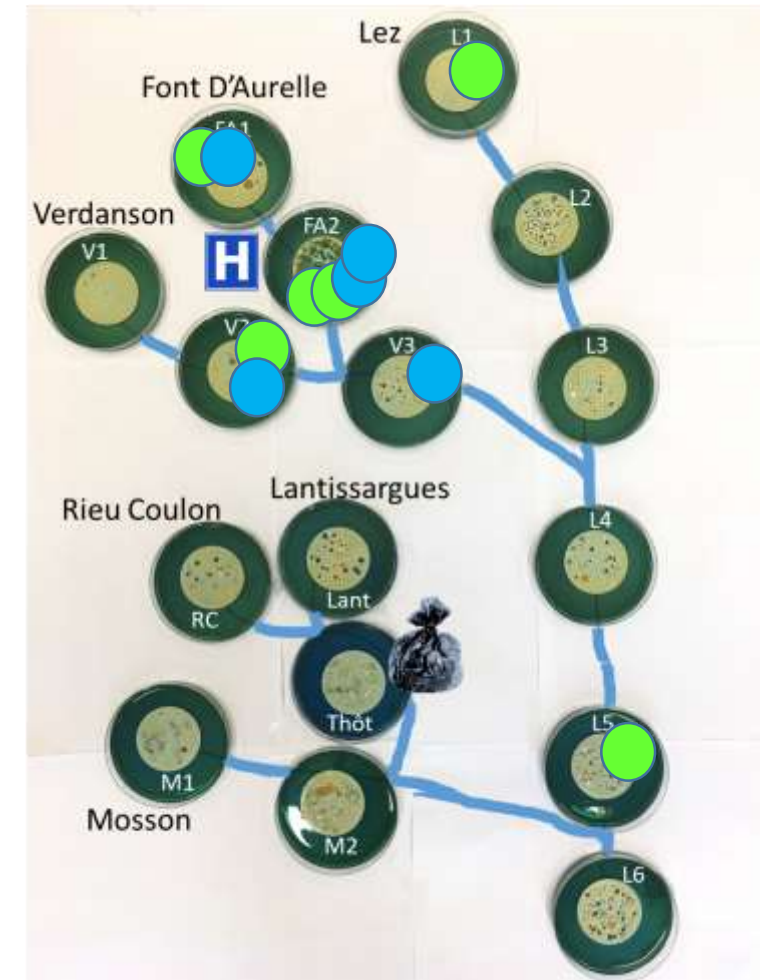
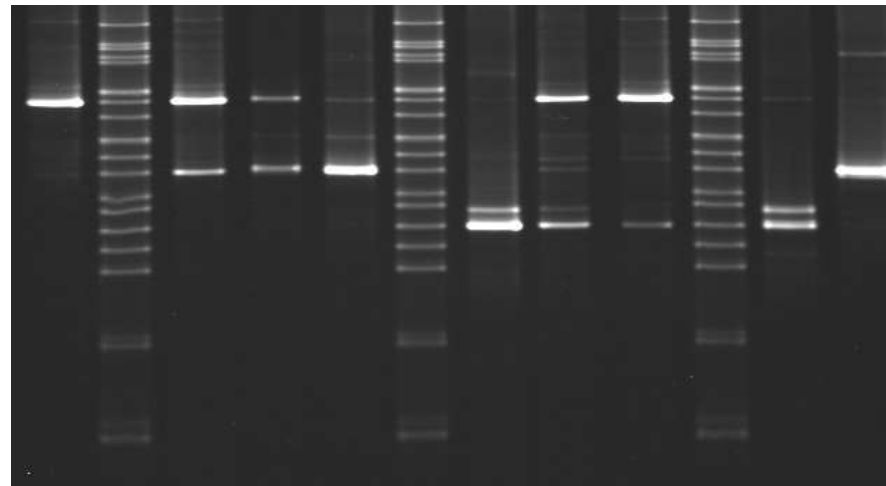
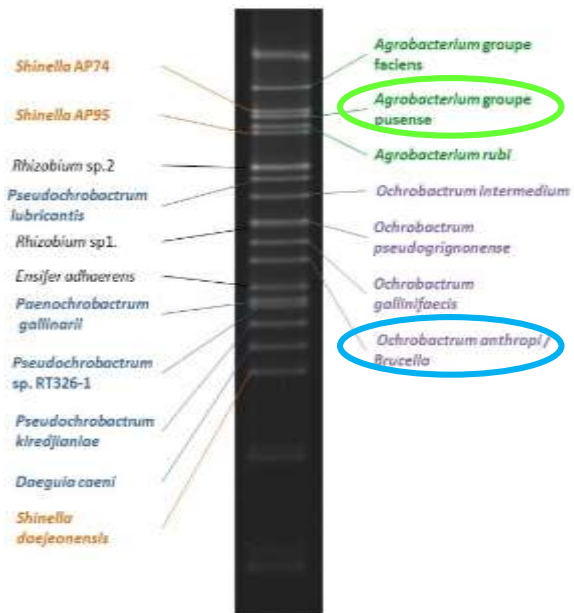


Quantification en cours

Indicateur 3 : bactéries de l'environnement, pathogènes opportunistes

Recherche d'espèces pathogènes opportunistes pour l'homme retrouvées spécifiquement dans des milieux anthropisés

identification moléculaire au sein des communautés bactériennes



Conclusions & perspectives

Poursuite du travail **transdisciplinaire** : notamment avec l'équipe PUrH
couplage des données avec les données physico-chimiques mesurées en parallèle
pour identifier les conditions environnementales expliquant :

- la diffusion
 - l'émergence
 - la persistance
- } des bactéries résistantes et des gènes de résistance

Amorce pour d'autres projets :

- demande de **reconnaissance nationale de la Zone Atelier** par le CIS comme observatoire Santé-Environnement dédiés à la problématique de l'antibiorésistance : observatoire RABLez (Résistance aux antibiotiques dans le bassin du **Lez**)
- Lettre d'intention en **réponse à un AAP MUSE** (Montpellier Université d'Excellence) impliquant des partenaires institutionnels : ARS (Agence Régionale de la Santé), Montpellier Méditerranée Métropole
- Dépôt d'un **sujet de thèse** à l'Ecole Doctorale GAIA



AntibiEaux 3



Merci à :

- l'équipe PHySE et aux stagiaires
- l'équipe PUrH
- l'équipe terrain



HydroSciences
Montpellier