

Résistome environnemental urbain : impact d'un centre hospitalier (Montpellier – France)



Thibaut Guillou¹, Ayad Almakki¹, Christian Salles², Jean-Louis Perrin², Marie-George Tournoud², Thomas Mosser¹, Agnès Masnou¹, Patrick Monfort¹, Estelle Jumas-Bilak^{1,3}, Patricia Licznar-Fajardo¹

¹ UMR 5569 HydroSciences Montpellier, équipe Pathogènes Hydriques Santé Environnements, 15 avenue Charles Flahault, 34093 Montpellier cedex 5, France

² UMR 5569 HydroSciences Montpellier, équipe Pollutions Urbaines et Hydrologie, Place Eugène Bataillon CCMSE, 34095 Montpellier Cedex 5, France

³ Département d'Hygiène Hospitalière, CHRU Montpellier, 80 Avenue Augustin Fliche, 34090 Montpellier

à la mémoire de Thomas, notre collègue, notre ami.

Introduction

Les multiples pressions anthropiques associées à l'environnement urbain influencent le fonctionnement des écosystèmes aquatiques et la dynamique des micro-organismes qui les composent. Les contraintes exercées sur les communautés microbiennes peuvent aboutir à l'émergence et la dissémination de bactéries résistantes aux antibiotiques, préoccupation majeure de santé publique. Les effluents des réseaux d'assainissement des complexes hospitaliers sont étudiés en tant que sources de micro-organismes pathogènes et/ou résistants et en tant que réservoir de gènes de résistance^(1,2) alors que les zones aquatiques proches des hôpitaux et potentiellement contaminées par des eaux de ruissellement sont peu étudiées⁽³⁾.

Objectifs et méthode

Objectif : étudier la dynamique temporelle du **niveau de résistance aux antibiotiques et de la diversité des communautés bactériennes cultivables** dans des **eaux urbaines** différemment influencées par les eaux de ruissellement d'un centre hospitalier.

Zone atelier : 2 cours d'eau urbains voisins et parallèles avec observations amont et aval :

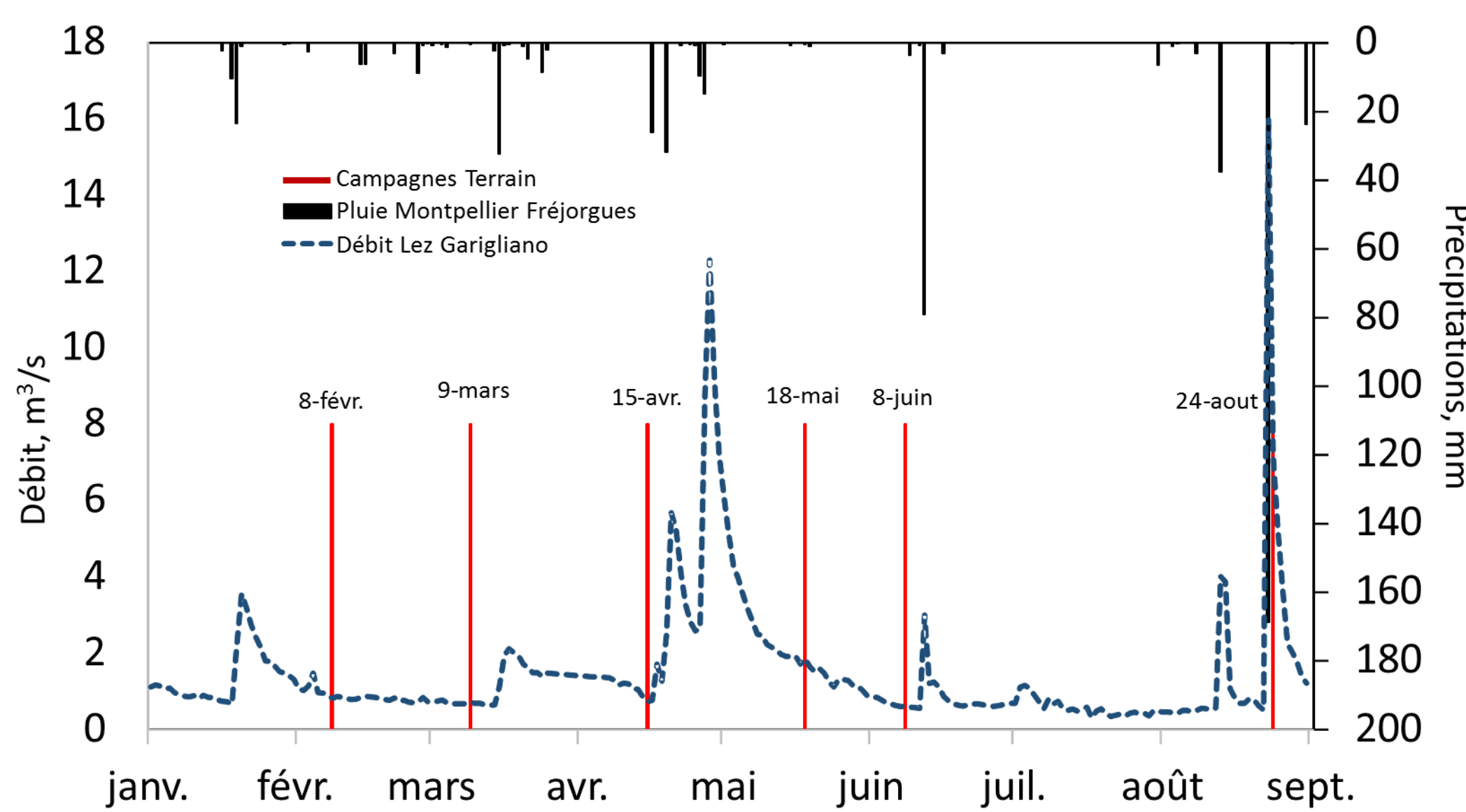
- Font d'Aurelle canalisé sous le centre hospitalier (amont (FAVL) et aval (FAPL) du centre hospitalier)
- Verdanson drainant une zone urbaine (amont (VAVL) et aval (VAPL) d'une zone résidentielle)

Méthode : prélèvement **mensuel** de la colonne d'eau et analyse associant **techniques culturales** (sur milieux sélectifs et/ou milieux supplémentés en amoxicilline, céfotaxime, ceftazidime, ofloxacine ou tétracycline) et **approche moléculaire** (PCR-Temporal Temperature Gradient Gel Electrophoresis (TTGE), région hypervariable V3 du gène de l'ARNr 16S).

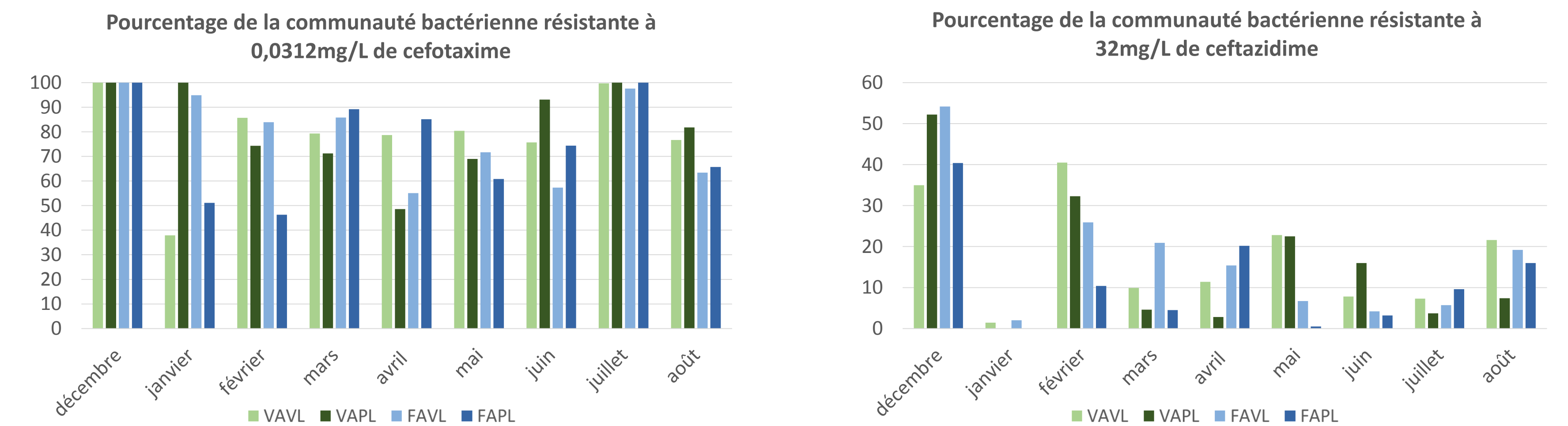


Résultats, discussion

Conditions hydrométéorologiques sur la période d'échantillonnage :



Niveaux de résistance des communautés bactériennes cultivables déterminés par culture sur des milieux sélectifs contenant des concentrations croissantes d'antibiotiques :

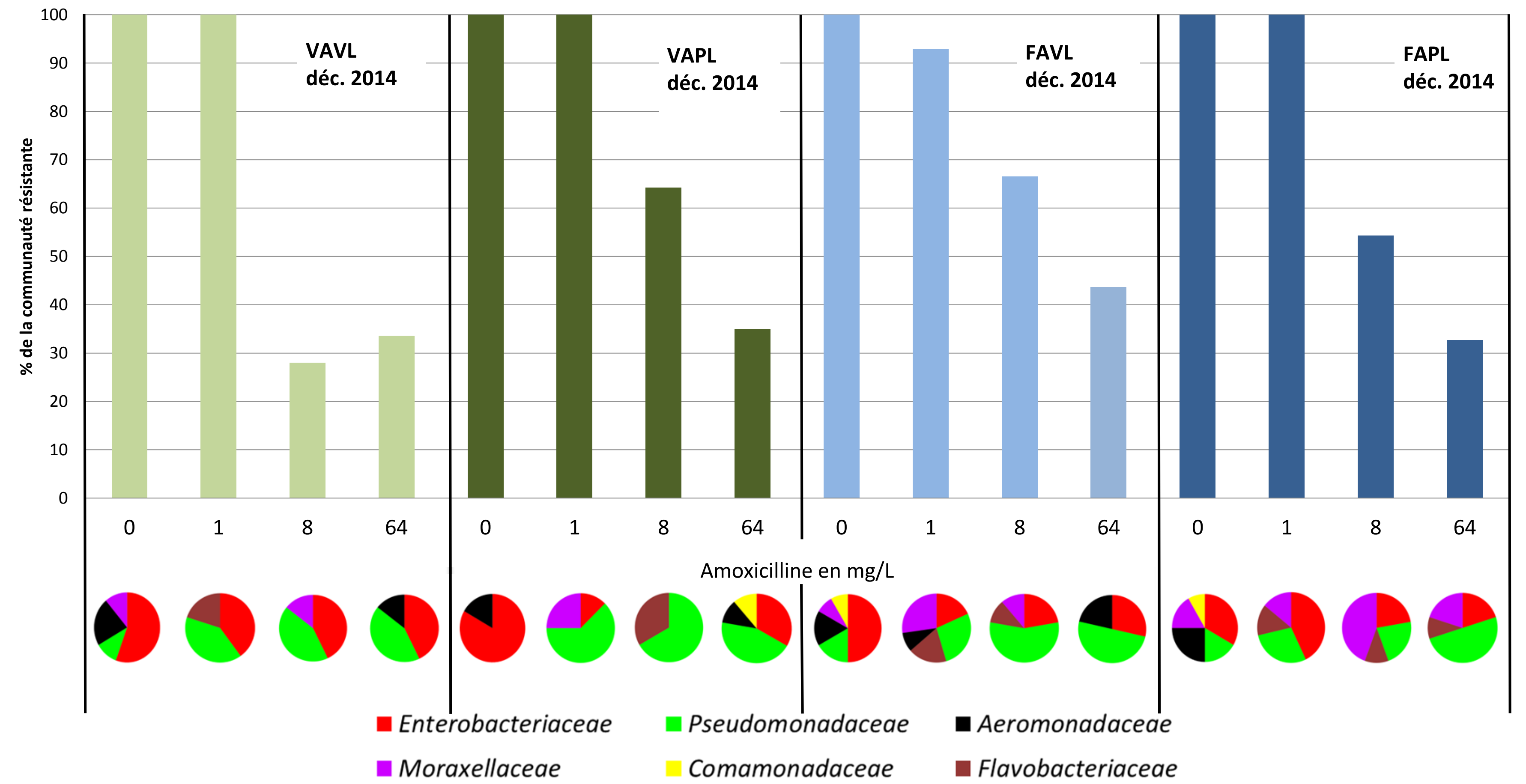


De faibles concentrations d'antibiotiques peuvent inhiber plus de 50% de la communauté bactérienne et ainsi conduire à un déséquilibre des communautés.

Certaines communautés sont peu inhibées par de fortes concentrations en antibiotique, ce qui montre le haut niveau de résistance de certaines bactéries dans les cours d'eau urbains.

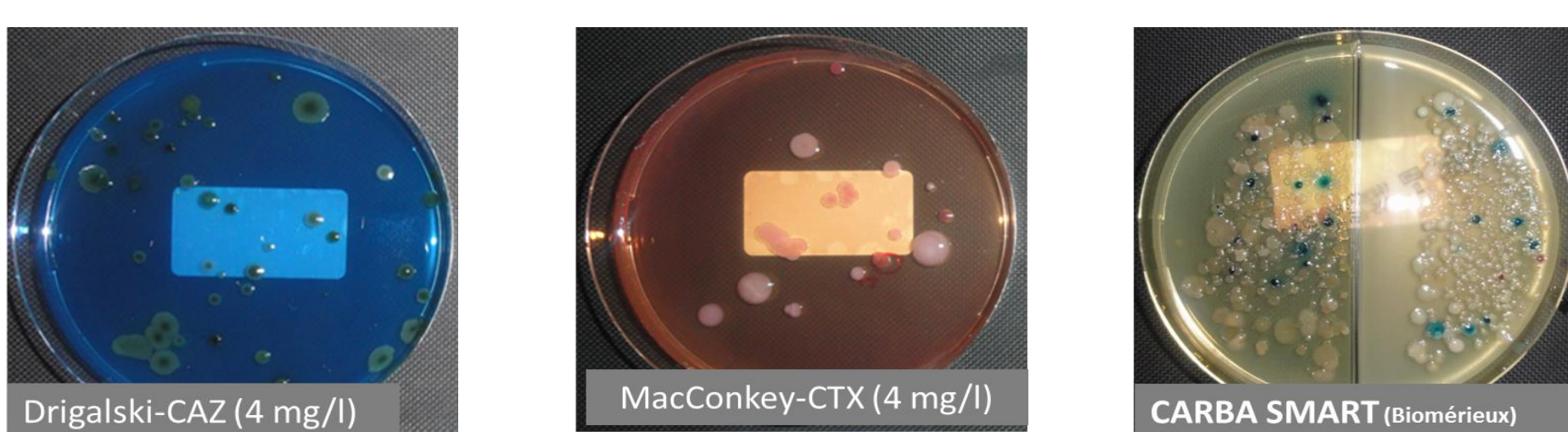
Exploration de la richesse des communautés cultivables totales ou résistantes par approche moléculaire (TTGE) :

OTUs (unités taxonomiques opérationnelles) identifiées à partir des communautés cultivables totales, en fonction des sites et dates de prélèvements	VAVL				VAPL				FAVL				FAPL	
	Décembre	Janvier	Mars	Avril	Décembre	Janvier	Mars	Avril	Décembre	Janvier	Mars	Avril	Décembre	Janvier
<i>Acinetobacter</i> sp.														
<i>Aeromonas</i> sp.														
<i>Aeromonas veronii</i>														
<i>Citrobacter</i> sp.														
<i>Cronobacter dublinensis</i>														
<i>Cronobacter turicensis</i>														
<i>Enterobacter aerogenes</i>														
<i>Enterobacter</i> sp.														
<i>Enterobacteriaceae</i>														
<i>Erwinia chrysanthemi</i>														
<i>Escherichia coli</i>														
<i>Ewingella</i> sp.														
<i>Klebsiella pneumoniae</i>														
<i>Klebsiella</i> sp.														
<i>Morganella</i> sp.														
<i>Pantoea agglomerans</i>														
<i>Pectobacterium carotovorum</i>														
<i>Proteus</i> sp.														
<i>Providencia</i> sp.														
<i>Pseudomonas peli</i>														
<i>Pseudomonas putida</i>														
<i>Pseudomonas</i> sp.														
<i>Pseudomonas viridiflava</i>														
<i>Rahnella aquatilis</i>														
<i>Rahnella</i> sp.														
<i>Raoultella</i> sp.														
<i>Salmonella enterica</i>														
<i>Serratia</i>														
<i>Yersinia enterocolitica</i>														
<i>Comamonas</i> sp.														
<i>Iodobacter</i> sp.														
<i>Myroides</i> sp.														
<i>Flavobacterium</i> sp.														

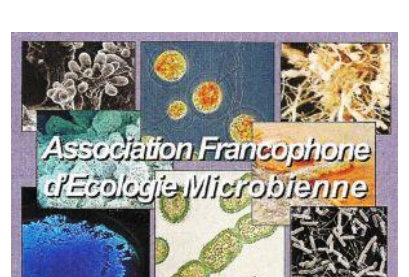


- Majorité des OTUs identifiées dans les communautés cultivables = γ -proteobactéries (29/33)
- Variation spatio-temporelle du nombre d'OTUs : de 4 à 11 OTUs
- Des genres à fort impact médical, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Enterobacter* et *Pseudomonas* retrouvés quel que soit le site de prélèvement
- *Morganella*, *Pantoea*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Iodobacter* et *Myroides* spécifiques d'échantillon
- 6 familles majoritairement représentées dans les communautés totales et résistantes
- Richesse de la communauté bactérienne cultivable variable selon la concentration en amoxicilline
- Augmentation de la richesse en *Pseudomonadaceae* et réduction de la richesse en *Enterobacteriaceae* corrélées au taux d'amoxicilline.

Etude du risque sanitaire associé aux communautés résistantes dans l'environnement urbain : sélection d'isolats environnementaux sur milieux de cultures utilisés à l'hôpital



Majorité des isolats sélectionnés sur milieu CARBA SMART (milieu utilisé pour la détection d'isolats cliniques producteurs de carbapénémases) = *Aeromonas* sp. et *Pseudomonas* sp.



- Références :
- (1) Alam et al., Braz J Microbiol, 2014
 - (2) Varela et al., Water Res, 2014
 - (3) Aujoulat et al., EDAR3 symposium, 2015

Conclusions, perspectives

- ☑ Communauté résistante riche et dynamique dans le temps et l'espace
- ☑ Variations spatiales des communautés résistantes sans corrélation avec l'apport du ruissellement hospitalier
- ☑ 1^{ère} exploration du niveau de résistance aux antibiotiques de communautés hydriques dans l'environnement péri-hospitalier de Montpellier, avec notamment mise en évidence d'un haut niveau de résistances aux céphalosporines (céfotaxime et ceftazidime), antibiotiques à fort usage médical. La résistance aux céphalosporines est un phénomène émergent conduisant à de nombreux échecs thérapeutiques.
- ➔ Caractérisation des espèces connues en pathologie humaine : antibiogrammes, gènes de résistance... et confrontation aux données d'épidémiologie régionale de la résistance.
- ➔ Confrontation des résultats aux mesures de débit/paramètres physico-chimiques/suivi d'indicateurs de contamination fécale pour une évaluation de l'impact des caractéristiques écosystémiques locales sur le résistome environnemental.

Campagnes d'observations de la qualité chimique et bactériologique des eaux en amont et aval d'activités anthropiques

- ➔ meilleure connaissance des communautés microbiennes résistantes des écosystèmes proches de l'homme
- ➔ contribution à la lutte contre l'émergence des bactéries multirésistantes.