**Journée régionale de lutte contre l'antibiorésistance**

ARS et DRAAF BOURGOGNE FRANCHE - COMTE

15 décembre 2017

# Environnement et antibiorésistance
# Pourquoi parler d'environnement aujourd'hui ?

## le lien entre la nature l'animal et l'homme est très étroit
## Y compris pour ce qui concerne l' antibiorésistance

- Le concept « one health one care » symbolise ces réflexions globales
- Le lien est avéré y compris par des travaux « locaux »
  - * études animal / environnement
  - * études homme / environnement (STEP)

Eric GUENEAU
Conseil Départemental de la Côte-d'Or
Pôle Aménagement et Développement des Territoires
Laboratoire départemental - LDCO

# One health : un concept mondial

15 décembre 2017

Le concept one world/one health est porté par l'Organisation mondiale de la santé animale (OIE) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS)

Pas uniquement un sujet
*Médecins / vétérinaires*

**Agriculture.gouv.fr « alim'agri »** : l'antibiorésistance est un phénomène naturel amplifié par l'administration abusive ou inopportune, tant en médecine humaine que vétérinaire, d'antibiotiques, et potentiellement aussi par la circulation de bactéries antibiorésistantes via l'environnement

# Sommaire

Résistances

- Un peu d'histoire (très peu)
  - L'histoire récente occulte l'histoire millénaire : bactéries / antibiotiques
  - Histoire réglementaire récente : C3G (problématique environnementale)

- Interactions Animal / environnement
  - Une comparaison animal / environnement initiée en Côte d'Or dés 2010
  - Des suppositions au départ, des faits à la fin
  - Des études en ferme avec éleveurs vétérinaires (GTV et Merial)

- Interactions homme environnement
  - LDCO : moins associé à des travaux de recherche
  - Des travaux publiés et des travaux « en cours »
  - la question des STEP mérite d'être posée

- La question environnementale élargi le champ des questions
  - Plasmides pathogénicité / plasmides résistance : toujours indépendants **?**
  - Et le végétal ? Irrigation avec eaux sorties de STEP, Re Use ….

# ANTIBIOTIQUES / Antibiorésistances
## Remontée du temps … Depuis le début de l'histoire

➢ Homme : histoire courte / Nature : histoire très longue

- Découverte et « vulgarisation » des antibiotiques
  - FLEMING 1928 / penicillium *notatum:* Un grand chercheur … Un peu désorganisé
  - Découverte accidentelle car les antibiotiques sont « dans la nature »
  - 1941 à 1943 : début de la disponibilité réelle pour la médecine
  - L'histoire moderne des antibiotiques a moins de 90 ans
- Apparition rapide de résistances
  - 1946 : apparition des premières résistances à la pénicilline signalées
    Parce que les résistances sont « dans la nature »
  - Apparition de complexes de polyrésistance : SARM et récemment BLSE

➢ Une très longue histoire « naturelle »

– Français 2008 (ONTARIO) : antibiorésistance dans le pergélisol (30 000 ans
– Fondamental : antibiorésistance NON liée aux pathogènes des mammifères

– **Utilisation : sélectionne des gènes présents dans la nature**
  Chez des bactéries non pathogénes

# *Histoire plus récente… Remontée du temps en sens inverse*

•Décret *2016* limite l'usage de 2 familles d'antibiotiques critiques en vétérinaire :

- quinolone : peu étudiées au plan environnemental (peu d'intérêt)
- C3G : pénicillines de dernière génération, 2 mécanismes de résistance possibles:
  * céphalosporinases : peu étudiées au plan environnemental
  *BLSE : bétalactamase à spectre élargi (gènes CTXM ou TEM)

•*Avant les années 1990 :*

- Résistance (et poly résistances): inféodée à une souche pathogène
  *Exemple* : st aureus porteur de résistances
- Un additif alimentaire zootechnique (avoparcine) a créé une résistance croisée chez les humains (entérocoques). Résistance disparue chez les animaux mais persiste depuis 30 ans chez l'homme

•*90 / 2000 et surtout après 2000 et de pire en pire après 2005 :*

- **Emergence mondiale des BLSE partout de manière aléatoire**
- BLSE détectée en hôpital, mais très souvent acquises avant l'entrée à l'hôpital
  Résistance d'origine communautaire (par opposition à une origine hospitalière)
- Sur des patients n'ayant quelquefois jamais reçu d'antibiotiques

2009/ 2010 : d'où viennent elles ? Alimentation ? Environnement ?

**Collaboration INRA  CHU laboratoire vétérinaire : Pourquoi pas ?**

# *Interactions animal environnement en 2010 : Questions*

- Comment expliquer une répartition aussi aléatoire du portage ?
- Ce portage aléatoire existe-t-il chez les animaux d'élevage ?
- Ce portage dispersé existe-t-il dans leur environnement ?
  * Comment expérimenter à grande échelle
  * Comment faire le lien?
- Vaches de Bourgogne sédentaires – élevées dans la nature : bonne candidate

Centre Hospitalier Universitaire Dijon

Laboratoire Départemental de la Côte-d'Or

INRA

\+

- GTV Bourgogne
- Merial
- Region Bourgogne

Détection de sources animales et environnementales de souches d' *Escherichia co* productrices de betalactamases à spectre élargi (BLSE) à l'échelle d'une région française (Bourgogne)

Catherine NEUWIRTH[1], Eric GUENEAU[2], Lionel RANJARD[3], Samuel DEQUIET[3], Claudy JOLIVET[4], Géraldine DEPRET[5], Jean Paul LEMAITRE[5], Alain HARTMANN[5]

# Objectifs de l'étude

- Prévalence des souches d *'E. coli* productrices de CTX-M chez les bovins des 4 départements bourguignons

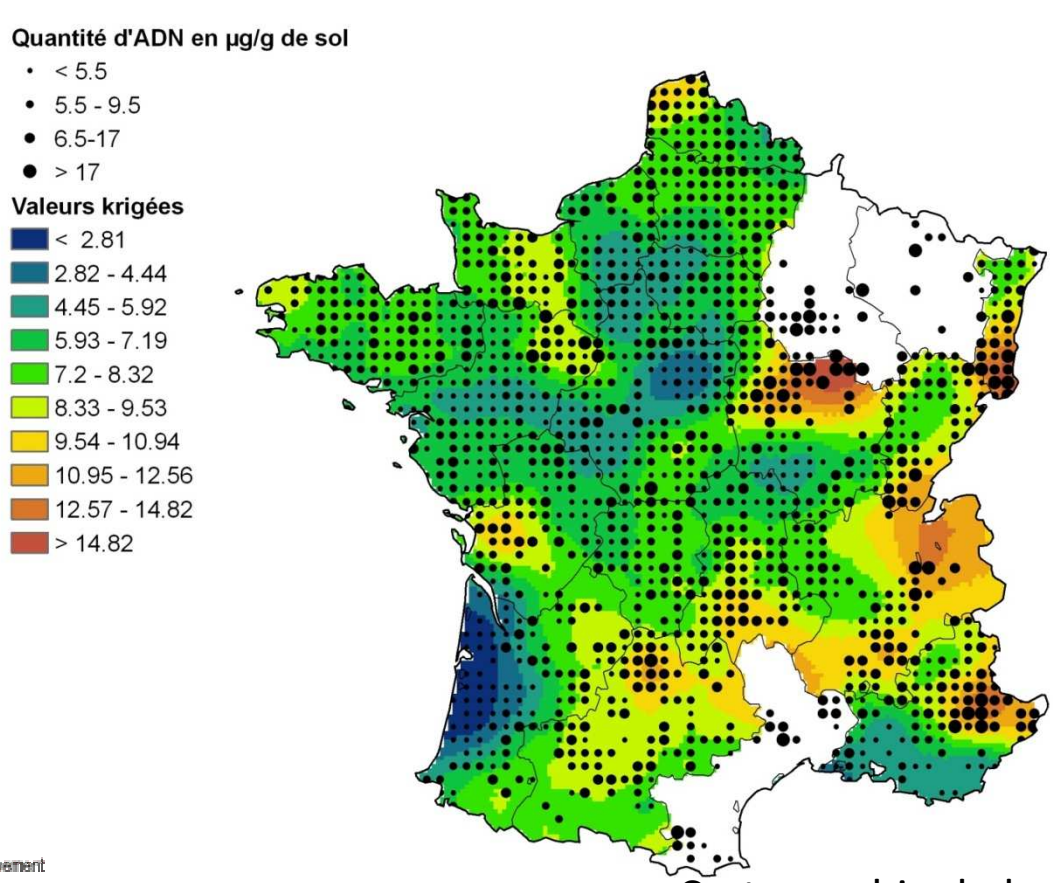
- Prévalence des souches d *'E. coli* productrices de CTX-M dans l'environnement agricole (sols)

- Comparaison avec des souches d'origine humaine

  L'animal contamine t'il l'environnement ?

- Etude rapprochée de 2 ou 3 exploitations

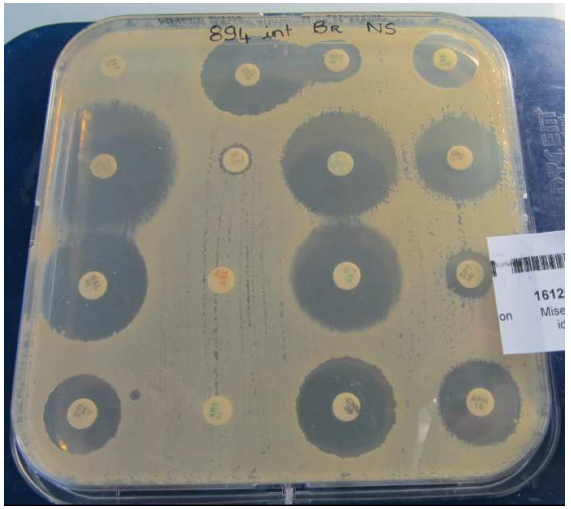
# Détection BLSE sur sols




Cartographie de la quantité d'ADN dans les sols français

# Détection BLSE sur animaux

- Recueil de prélèvements sur animaux sains (+ quelques malades)
- Aide financiére du laboratoire MERIAL + aide logistique GTV Bourgogne
- Culture classique. Antibiogramme par diffusion sur gélose
- Identification phénotypique BLSE, confirmation moleculaire
- Aspect bien particulier :




# Détection BLSE sur sols

## *Méthodes moléculaires*

- ADN extrait des sols par choc thermique
- Détection par PCR en temps réel à l'aide d'amorces spécifiques et d'une sonde de type Taqman des gènes *bla* $_{CTX-M}$ dans les ADN de sol
- Génotypage des souches productrices de BLSE par rep-PCR

## ***Collecte animaux :***

**Collecte d'échantillons :**

- 35 souches (veaux malades)
- 236 échantillons (anx sains)
- **Malades / sains = 13%**

| Département | Veaux malades (ENN) | Bovin apparenté au veau malade | Adulte sain |
|---|---|---|---|
| 71 | 8 | 8 | 109 |
| 58 | 10 | 10 | 50 |
| 21 | 17 | | 59 |
| **Total** | **35** | **18** | **218** |

## ***Résultats***

10 échantillons avec présence de résistances « type BLSE »

- 3 issus de veaux malades
- 7 issus d'animaux sains (30% mais sur 10 échantillons)

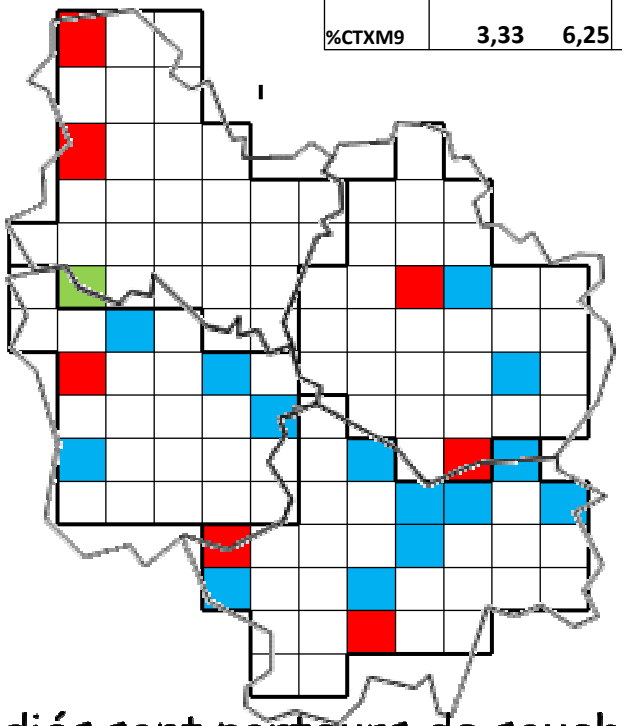
| N° souche | Age animal | Statut | Provenance canton ou département | Type de gène codant la BLSE | Type REP PCR |
|---|---|---|---|---|---|
| 32 | 6 ans | Apparenté veau malade | | TEM-71 | |
| 87 | 4 ans | sain | | CTX-M-1 | D |
| 92bis | Veau | malade | | TEM-71 | |
| 101-105-107 | 6 ans/10 ans/30 mois | Apparenté veau malade | | TEM-71 | |
| 250 | veau | malade | | CTX-M 1 | E |
| 190 | veau | malade | | CTX-M 1 | F |
| 234-235 | | sain | | CTX-M 1 | A |
| 240 | adulte | sain | | CTX-M 1 | G |
| 241 | adulte | sain | | CTX-M 1 | B |
| 245 | adulte | sain | | CTX-M1 | H |
| 247 | adulte | sain | | indéterminé | I |

Résultat de détection de *bla* $_{CTX-M}$ dans les sols bourguignons

| | 89 | 21 | 58 | 71 | Bourgogne |
|---|---|---|---|---|---|
| % CTXM | 10 | 12,5 | 20 | 22.3 | 17,5 |
| %CTXM1 | 6,66 | 6,25 | 3,03 | 4 | 5 |
| %CTXM9 | 3,33 | 6,25 | 16 | 24.2 | 12,5 |

22 positifs / 120

Environ 18 %



CTXM 1

CTXM 9

CTXM 9 et CTXM 1

- 5 % des animaux étudiés sont porteurs de souches de *E. coli* productrices de BLSE
- En moyenne présence de séquences homologues à *bla* $_{CTX-M}$ dans environ 20% des sols testés dans l'étude
- Les *bla* $_{CTX-M}$ peuvent être portés par d'autres bactéries que E Coli et la sensibilité de la PCR est bien supérieure à la culture…Mais quant m^me

Très peu d'homologies de souches : **contamination des sols par les bovins ????**

**Non :** au moins **pas pour les sols choisis de manière aléatoire**

# Etude complémentaire « en ferme »

- Étude de l'environnement dans les exploitations où des animaux colonisés par *E. coli* BLSE ont été détectés

- 3 exploitation recrutées sur présence BLSE sur les animaux
  eau, aliment, sol prairie, sol cultivé, fumier, sol cultivé amendé
  2 exploitations avec détection de CTXM dans l'environnement

- Sur une exploitation au moins : **homologies** entre souches **animales** et souches du **sol**. Pas de souches clonales (Nombre d'échantillons limités, immensité, sol)

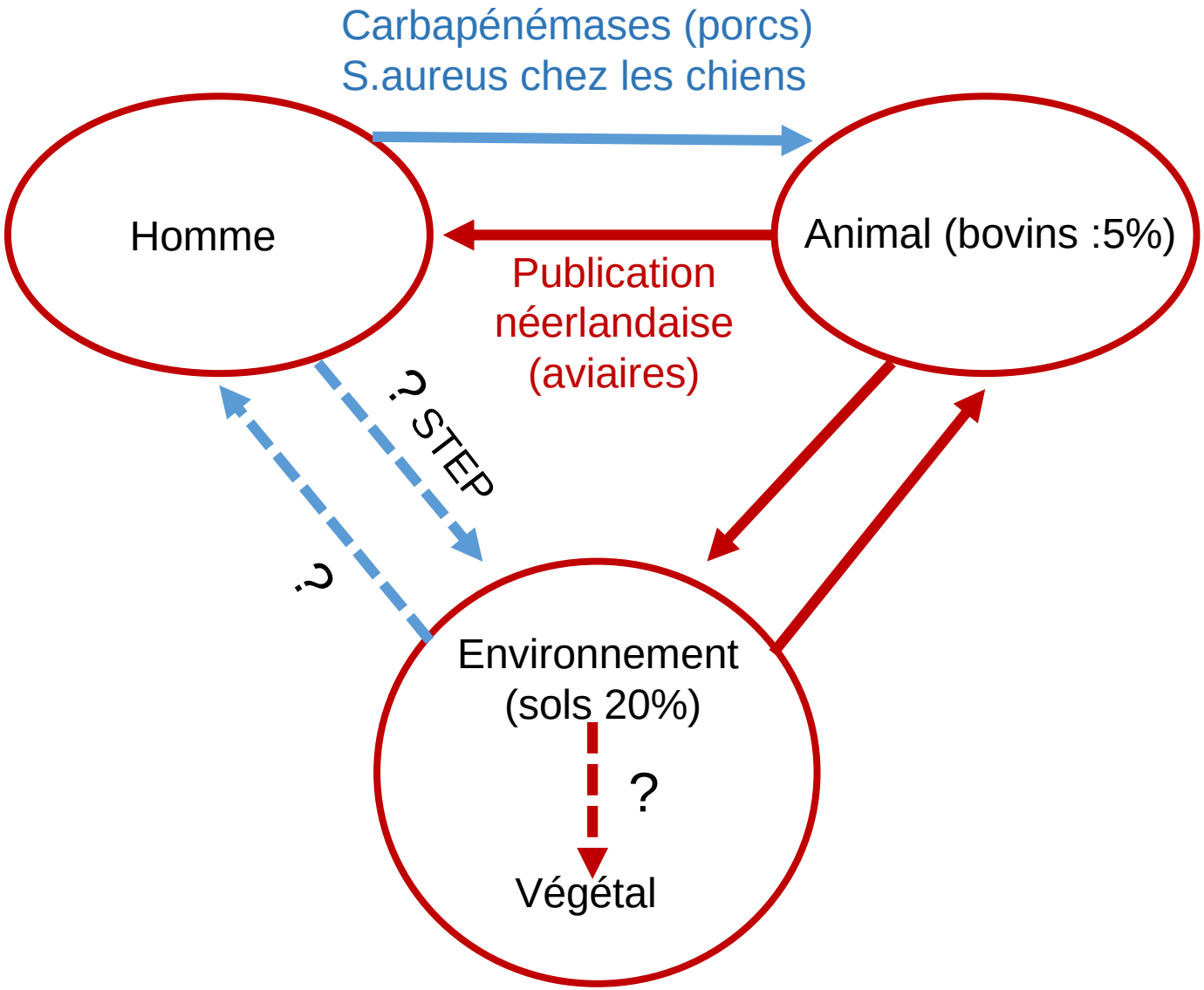
- Sur 1 champ cultivé sans fumier depuis 18 mois : Présence de CTXM

- Ceci pose la **question de la recontamination des animaux par l'environnement**

Les animaux avec E.Coli BLSE contaminent « leur » environnement ?

**possible…. ou probable ?**

- Explication à quelques cas d'hyper résistance / hyperpathogénicité en ENN **?**


Carbapénémases (porcs)
S.aureus chez les chiens
Homme
Animal (bovins :5%)
Publication
néerlandaise
(aviaires)
? STEP
?
Environnement
(sols 20%)
?
Végétal

## Questions autour des stations d'épuration : un travail important réalisé en Franche Comté

- Sur l'agglomération de Besançon et sa station d'épuration (STEP)

### Wastewater Treatment Plants Release Large Amounts of Extended-Spectrum β-Lactamase–Producing *Escherichia coli* Into the Environment

**Caroline Bréchet,[1] Julie Plantin,[1] Marlène Sauget,[1] Michelle Thouverez,[1] Daniel Talon,[1] Pascal Cholley,[1] Christophe Guyeux,[2] Didier Hocquet,[1] and Xavier Bertrand[1]**

[1]Service d'Hygiène Hospitalière, UMR 6249 Chrono-environnement, Centre Hospitalier Régional Universitaire, Université de Franche-Comté, Besançon; and [2]Département DISC, Institut FEMTO-ST, UMR 6174 CNRS, Université de Franche-Comté, Belfort, France

- Publication internationale : Clinical Infectious Diseases jun 2014 :

  -- Treatment by the WWTP eliminated 98% and 94% of total E. coli and ESBLEC, respectively.

  -- Plus de 600 billions de E.Coli porteurs de BLSE sont rejetés quotidiennement dans le Doubs (riviére Doubs).

# Questions autour des stations d'épuration : des travaux européens et mondiaux

- : **PLOS ONE -** Eaux de surface en Hollande: : contamination par E.Coli AMR +
- Article très complet qui investigue depuis les rejets bruts des STEP (entrée-sortie) **jusqu'aux eaux de surface**
- Comme toute publication elle ne vaut que pour son champ d'investigation : Hollande – de 2006 à 2013
- Conclusions

"Multidrug resistant E. coli, among which ESBL-producing variants, were frequently detected in different types of surface waters located in different regions in the Netherlands that were sampled between 2006 and 2013."

**http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0127752**

- Les conclusions d'une étude ne sont pas directement ou intégralement extrapolables à d'autres contextes Pour autant elles doivent questionner
- **SURTOUT : aucun risque pour les eaux de consommation (traitées)**

# Questions autour des STEP et eaux de loisirs : des travaux anglais

- publication : **environnement international** Vol. 82, **September 2015, Pages 92-100**

Sur des eaux de surface côtières en Angleterre et au pays de Galle (eau de Mer)

- Estimation de probabilté d'ingestion par : nageurs , surfer, plongeurs.

*0.12% of E. coli isolated from surface waters were resistant to 3GCs. This value was used to estimate that in England and Wales over 6.3 million water sport sessions occurred in 2012 that resulted in the ingestion of at least one 3GCREC*

- Estimation du risque par catégorie de pratique:

  Démonstration d'un risque théorique plus élevé chez les surfers

- Il manque le volet d'investigation directe sur les humains correspondants, l'installation réelle et la persistance n'est pas démontrée chez les surfers

- Des études complémentaires suivront probablement
- Continuons de pratiquer le surf…Ou la plongée

# Questions autour des stations d'épuration : que retenir ?

- STEP : échantillons plus homogénes et recherche plus facile que dans la terre

- Des travaux locaux depuis 2010 sur la présence E.Coli BLSE + dans les STEP avec des questions autour du % d'élimination en E.Coli BLSE+

- Autres travaux : l'abattement en E.Coli BLSE+ dépend du type de stations et certaines sont beaucoup plus efficaces que d'autres.

**Le compostage des boues améliore l'abattement ( idem pour fumier / lisier )**

- Des travaux (**INRA CHU UB** LDCO ) en cours.Sous coordination ANSES (PNR EST)
  - réalisés localement sur le principe : aval des STEP que se passe t'il ?
  - Traces de rejets et de diffusion retrouvées dans les milieux dulçaquicoles

- Le recyclage de l'eau de station Les concepts / réflexions ont un nom : la **Re Use** . Une réglementation **sans volet détection des résistances**.
  - Sur golfs, parc d'agrément ou en horticulture : peu de problème
  - Sur le végétal consommable, réflexion en cours : quid de la résistance ?
- Thése d'université le 04/12 à l'INRA : détection rapide et simple des BLSE en STEP

# INTERACTIONS VEGETAL / ENVIRONNEMENT

## Et associations plasmides de résistance / plasmides facteurs pathogènes

- **présence de E Coli BLSE + quelques g. de terre et sur 2 bovins** Enquête INRA CHU Dijon LDCO **:**

Les **quelques souches** concernées sont **elles porteuses de facteurs de pathogénicité (agressivité) ?**

| | | Agglutination | | | | PCR multiplex | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Origine | souche | CS31A | F17 | F41 | F5 | Stx1 | Eae | CdtIII | EhxA | HlyA | iucD | **F17A** | **TraT** | **Afa8E** | nbre de facteurs |
| sol cultivé | RET12 | | | | | | | | | 1 | 1 | **1** | **1** | **1** | 5 |
| | RET15 | | | | | | | 1 | | | 1 | **1** | **1** | **1** | 5 |
| | RET20 | | | | | | 1 | | 1 | 1 | | **1** | **1** | **1** | 6 |
| | RET21 | | | | | | | | | | 1 | **1** | **1** | **1** | 4 |
| génisse | 234 | | | | | | | | | | | **1** | **1** | | 2 |
| taurillon | 235 | | | | | 1 | | | | | | **1** | **1** | **1** | 4 |

souches porteuses de BLSE Enquête 2011 INRA CHU Dijon LDCO ( élevage 2)

* Sol cultivés dont certains sans apports de fumier récent

* souches porteuses de facteurs pathogénes « agressifs »

plasmides F17A TraT et AFA8E sont présents quasi systématiquement

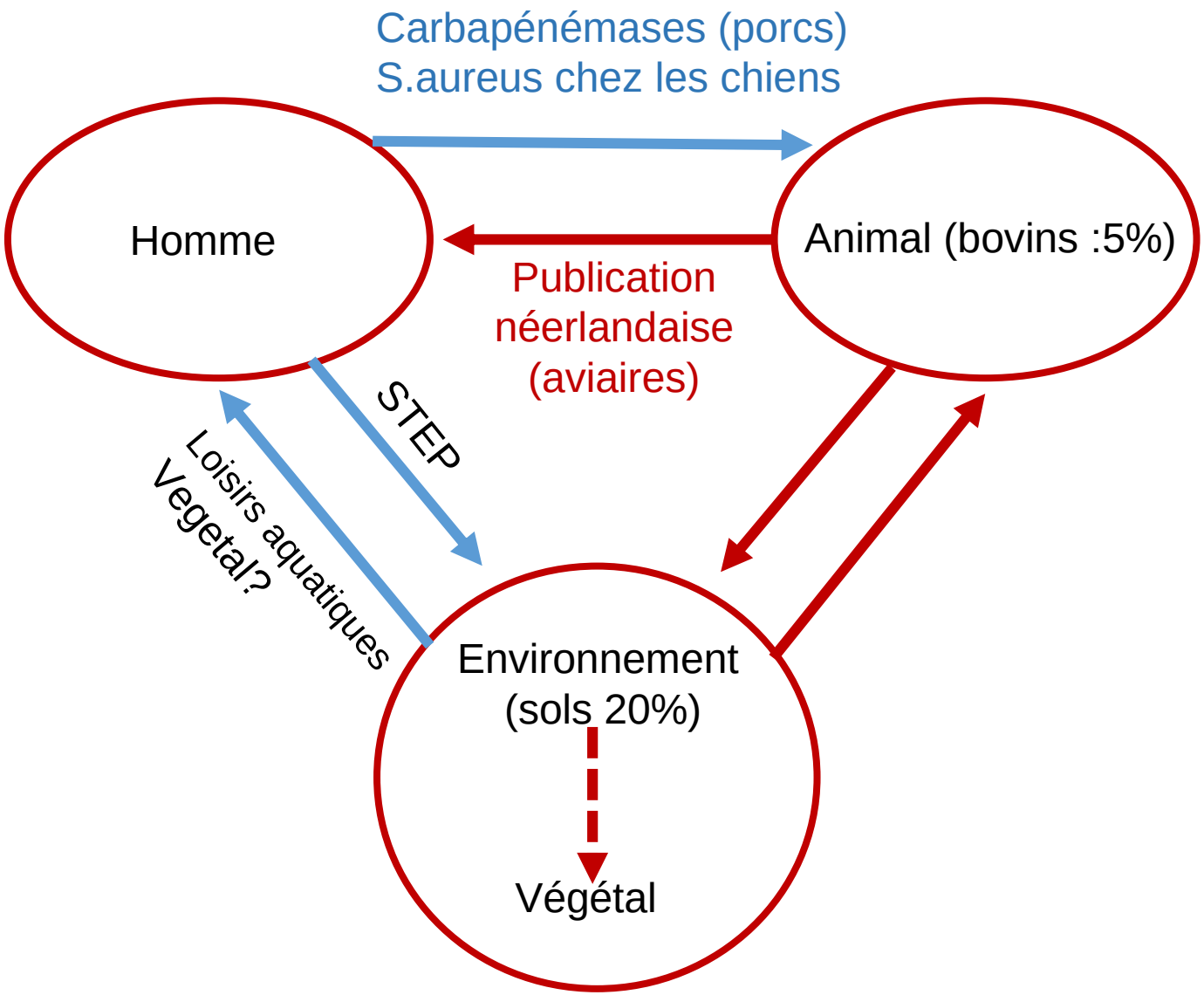
* **une souche bovine / 2 porteuse de Stx1**

***Souches sols « bien armées »**

- **Episode de maladie / mortalité humaine à O104 H4 en 2011**
  - Mortalité humaine importante. Suspicion sur les concombres (espagnols) non fondée
  - coupables : graines germées E.Coli producteur de Shiga toxines
  - La souche était aussi porteuse de CTXM 15 (géne codant pour la production de BLSE)
  - Pour mémoire CTXM14 et CTXM 15 sont les génes codant pour les BLSE majoritairement retrouvés en STEP

- CCL : petite tendance à l'association de malfaiteurs y compris dans la nature et sur des supports végétaux

.


Carbapénémases (porcs)
S.aureus chez les chiens
Homme
Animal (bovins :5%)
Publication
néerlandaise
(aviaires)
STEP
Loisirs aquatiques
Vegetal?
Environnement
(sols 20%)
Végétal

# CONCLUSION

Vrai enjeu à protéger l'environnement

- Patrimoine commun : attention aux conséquences à long terme
- Risque d'incrustation environnementale
- Voie alimentaire peut être contaminante (dans les 2 sens : carbapénèmes)
- Prescriptions dans les épandages STEP : à respecter (végétal ?)

Vrais espoirs

- Des progrès incroyables sont possibles : Ecoantibio. Continuer
- en vétérinaire / élevage : vrais progrès gagnants / gagnants (prévention)
- grâce à l'intelligence collective : bilan final ++ au-delà des simples chiffres
- Valoriser le bilan très ++ en terme de confiance dans la capacité collective
- Saisir l'ouverture de la DGAL à progresser sans l'arme réglementaire.
- des réflexions /solutions communes homme animal ? (compostage ?).

Besoin d'éléments tangibles (vérités scientifiques ?)

- Sujet extrêmement complexe – propice aux « faux semblants »
- Réalité : installation durable de gènes de résistance existe
- Besoin de recherche et d'aide à la recherche (aussi pour éviter les excés)
- Mais « aide toi le ciel t'aidera » : Resapath = outil formidable

**One health : de vraies réalités derrière un concept qui doit tous nous motiver**