OHM « Littoral méditerranéen » - Rapport d'étude 2014

OBSERVATOIRE « HOMMES-MILIEUX »

LITTORAL MEDITERRANEEN

ANTIBIEAUX MONTPELLIER

ANTIBIORESISTANCE DANS LES EAUX NATURELLES DE LA ZONE URBAINE DE MONTPELLIER

RAPPORT FINAL

MARS 2015

Responsables Scientifiques

Estelle Jumas-Bilak

Patricia Licznar-fajardo

UMR5119 ECOSYM

ebilak@univ-montp1.fr

plicznar@univ-montp1.fr

SOMMAIRE

RESUME SUCCINCT DU PROJET

1. INFORMATIONS GENERALES CONCERNANT LE PROJET
2. CONTEXTE / PROBLEMATIQUE
3. METHODOLOGIE
4. RESULTATS
5. DISCUSSION
6. CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

RESUME SUCCINCT DU PROJET

Les écosystèmes aquatiques soumis à des pressions anthropiques sont des lieux d'évolution rapide des communautés microbiennes. L'émergence d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques est théoriquement favorisée par ses écosystèmes intégrateurs.
La région de Montpellier présente des épisodes climatiques brutaux, une forte démographie, un hôpital de 2700 lits situé en ville dans une zone de débordement et une interface rapprochée entre les niches « technologiques » (ville, hôpital, etc.), les eaux douces, les eaux saumâtres et la mer.

Le projet AntibiEaux Montpellier propose de décrire la dynamique des communautés microbiennes et de la résistance aux antibiotiques dans ce territoire. L'impact potentiel de la résistance bactérienne environnementale sur la santé humaine sera évalué en comparant les résultats aux données d'épidémiologie clinique régionale.

MOTS CLES

Communautés microbiennes, antibiorésistance, bactéries pathogènes opportunistes, pollutions anthropiques, épidémiologie de la résistance.

1. INFORMATIONS GENERALES CONCERNANT LE PROJET

Responsables scientifiques

Estelle Jumas-Bilak
ECOSYM UMR5119,
Laboratoire de Bactériologie, UFR de Pharmacie, 15, Av Charles Flahault BP14491, 34090 MONTPELLIER, Cedex 5
CHRU de Montpellier, Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, Saint Eloi, 34000 Montpellier
04 11 75 94 28
ebilak@univ-montp1.fr

Patricia Licznar-Fajardo
ECOSYM UMR5119,
Laboratoire de Bactériologie, UFR de Pharmacie, 15, Av Charles Flahault BP14491, 34090 MONTPELLIER, Cedex 5
04 11 75 94 28
plicznar@univ-montp1.fr

Liste des participants

Nom-Prénom	Fonctions et laboratoire	Spécialité
Estelle Jumas-Bilak	PU-PH ECOSYM, UMR5119 Laboratoire Hygiène hospitalière, CHRU Montpellier	Microbiologie, hygiène hospitalière, risque infectieux, écologie microbienne
Patricia Licznar-Fajardo	MCU ECOSYM, UMR5119	Bactériologie, génétique bactérienne
Hélène Jean-Pierre	PU-PH ECOSYM, UMR5119 Laboratoire de bactériologie, CHRU de Montpellier	Bactériologie clinique, antibiorésistance
Ayad Almakki	Doctorant ECOSYM, UMR5119	Microbiologie

Temporalité

Date de début des travaux : printemps 2014

Date de fin des travaux pour la rédaction du rapport : mars 2015

Poursuite de l'étude en cours : oui

Demande de soutien financier pour l'année 2015 : non

2. CONTEXTE / PROBLEMATIQUE

Les pressions anthropiques modifient le fonctionnement des écosystèmes et la dynamique des micro-organismes qui les composent. Ces écosystèmes deviennent alors des lieux d'évolution rapide des communautés microbiennes permettant l'émergence d'agents pathogènes pouvant provoquer des situations épidémiques et donc des risques majeurs pour les sociétés humaines. Le mésusage des antibiotiques (ATB) (Levy, 2005) (Sarmah, 2006) n'est pas la seule pression de sélection qui s'exerce sur les communautés bactériennes naturelles puisque la plupart des ATB sont naturellement produits par des champignons ou des bactéries résidant dans divers environnements, en particulier le sol (Allen, 2010). De plus, de nombreuses conditions de stress physiques et chimiques peuvent sélectionner des mécanismes de résistance croisée aux ATB (Martinez, 2009). Les écosystèmes aquatiques sont des intégrateurs qui reçoivent les apports extérieurs des bassins versants exposés à la fois aux contaminants chimiques issus de l'industrie, de l'agriculture et de la médecine, et aux communautés microbiennes du sol, des plantes, des animaux et de l'homme. L'eau et les écosystèmes aquatiques sont impliqués dans la dispersion et le transfert des contaminants chimiques et des micro-organismes résistants **(fig. 1)** mais forment aussi une matrice d'interaction permettant le contact de micro-organismes de diverses origines et les échanges de gènes (Baquero, 2008).

Très peu de données sont disponibles sur les communautés microbiennes et les résistomes (Gaze, 2013) de la plupart des écosystèmes naturels hydriques proches de l'homme. Seule la connaissance détaillée de ces réservoirs et de leur dynamique permettrait d'argumenter le rôle de l'antibiorésistance environnementale dans l'émergence de bactéries pathogènes résistantes et leur impact sur la santé humaine (Allen, 2013). En France, les infections bactériennes à plus forte morbi-mortalité sont les infections associées aux soins (IAS) et le risque de santé publique réside essentiellement dans l'émergence de bactéries résistantes aux antibiotiques (ATB). Environ un quart des IAS impliquent des bactéries d'origine environnementale à réservoir hydrique. Il est maintenant clairement démontré que l'hôpital n'est pas un système clos hébergeant des pathogènes particuliers mais plutôt un amplificateur du risque infectieux général. Toute approche territoriale du risque infectieux doit donc inclure l'hôpital.

La région de Montpellier est un territoire qui présente : 1) des épisodes climatiques brutaux modifiant les niches des micro-organismes, 2) une forte démographie, 3) un hôpital de 2700 lits situé en ville et dans une zone de débordement, 4) une interface rapprochée entre les niches « technologiques » (ville, hôpital, etc.), les eaux douces, les eaux saumâtres et la mer. Ces conditions sont des facteurs de déséquilibre de niche pouvant favoriser l'émergence de pathogènes et leur résistance. Ce système particulier soutien notre projet.

De plus, nous avons à disposition les données d'épidémiologie des IAS et d'épidémiologie de la résistance au niveau régional ainsi qu'une cartographie en temps réel des populations bactériennes dans l'environnement hospitalier et chez les patients du CHRU de Montpellier (Département d'Hygiène Hospitalière, Laboratoire de Bactériologie) (Bourdier, 2013).

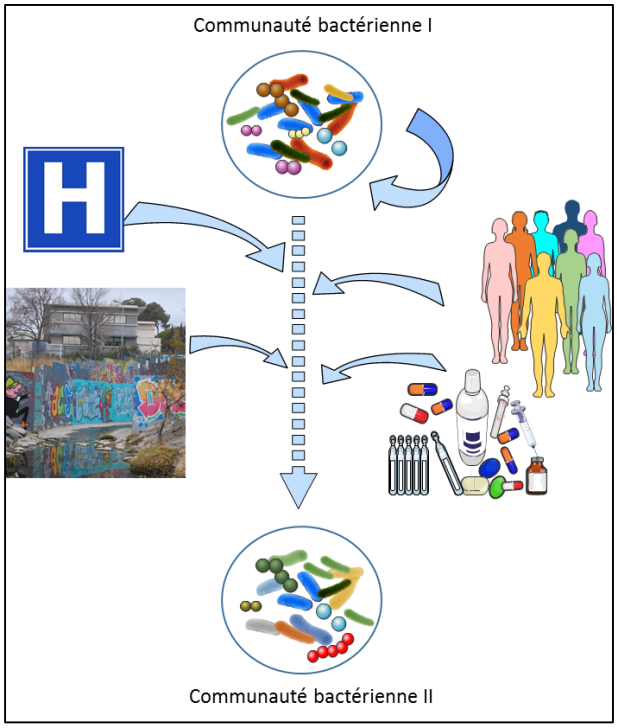

Fig. 1: impact des activités anthropiques (incluant les activités hospitalières) : changements potentiels au niveau des communautés bactériennes et au niveau individuel en termes d'évolution génétique, d'expression de protéines, de capacités de persistance, d'épidémiogénicité, de pathogénicité…

L'objectif de ce projet est de décrire la dynamique des communautés bactériennes et de la résistance aux ATB dans le continuum d'un fleuve côtier de la zone urbain vers une lagune et au niveau de cours d'eau traversant la zone urbaine de Montpellier incluant un centre hospitalier à travers :

- la quantification de la résistance des communautés bactériennes en étudiant les concentrations inhibitrices des communautés (c-IC) dans les continuums considérés.
- une première description des communautés bactériennes (biodiversité) environnementales résistantes dans divers environnements aquatiques, urbain et côtier ;

3. METHODOLOGIE

3.1 Stratégie générale et originalité de l'étude

A l'ère des sciences 'omiques', les études basées sur la culture des micro-organismes sont négligées car on les sait incapables de décrire la majorité non cultivable de la biodiversité d'un écosystème (Venter, 2004) (Giovannoni, 2005). Toutefois, l'antibiorésistance reste un caractère exprimé par les bactéries en croissance soumises à pression de sélection. La génomique et la transcriptomique n'accèdent que partiellement à l'expression de l'antibiorésistance et elles présentent le biais dit de profondeur qui conduit souvent à exclure les populations minoritaires (Lagier, 2012), qui sous pression de sélection peuvent devenir dominantes. D'autre part, l'antibiorésistance en médecine est principalement détectée par la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) prédictive de l'efficacité du traitement. Ce type de détermination sur les communautés environnementales permettrait de comparer les résultats avec les données de médecine humaine et vétérinaire et ainsi mieux préciser le risque sanitaire associé au résistome environnemental.

Les déterminations de CMI sont généralement réalisées sur des micro-organismes isolés en culture et le choix de la bactérie isolée dépend souvent de son statut de bactérie pathogène (Okoh, 2010) (Ramírez Castillo, 2013) (Maravić, 2012). Rares sont les études qui considèrent les bactéries isolées autochtones non pathogènes (Schreiber, 2013) (Vaz-Moreira, 2012) ou la communauté cultivable totale (Weber, 2011) (Vanhove, 2011), alors que chaque micro-organisme dans un écosystème est un acteur potentiel de l'antibiorésistance, soit en tant que réservoir de gènes, soit en tant que vecteur de gènes, soit en tant que bactérie environnementale pathogène opportuniste de l'homme (Aujoulat, 2012).

3.2 Echantillonnage

Les échantillonnages sont réalisés le long des continuums suivants (**fig. 2**) :

- Lez - Etangs de l'Or (continuum urbain et côtier)
- Rivière Font d'Aurelle (affluent du Lez) avant le passage sous le CHRU – Font d'Aurelle après le passage sous le CHRU (continuum incluant un centre hospitalier)
- Rivière Verdanson (affluent du Lez) proche de la source – Verdanson après une zone fortement urbanisée (zone résidentielle, constituant un continuum exclusivement urbain).

Un prélèvement unique est réalisé pour une description des communautés bactériennes résistantes dans le continuum aquatique urbain et côtier Lez-lagunes. Des prélèvements mensuels sont réalisés pour une description de la dynamique des communautés bactériennes résistantes dans les continuums aquatiques urbain (Verdanson) et péri-hospitalier (Font d'Aurelle).

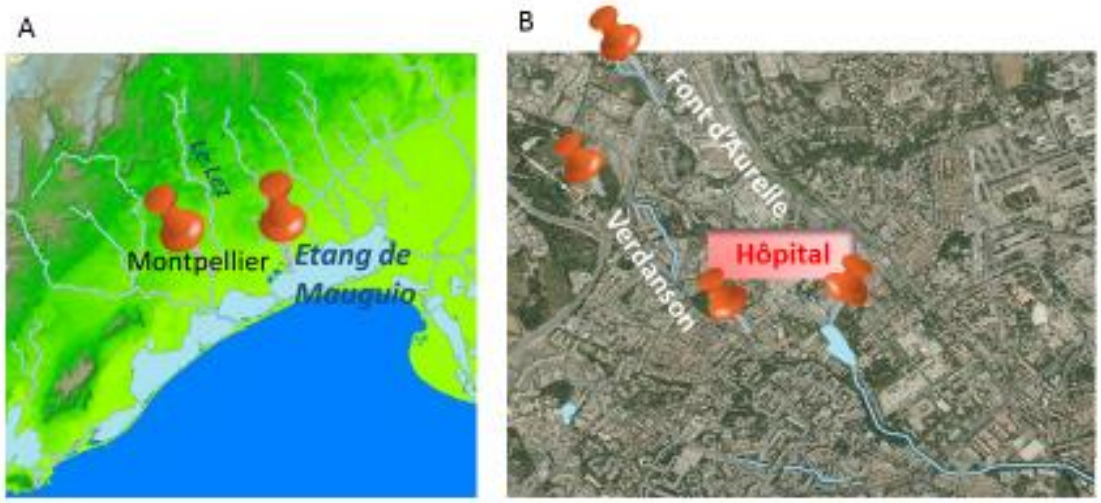

Fig. 2 : sites de prélèvements, (A), continuum urbain et côtier (Lez-lagunes) et (B), les continuums péri-hospitalier (Font d'Aurelle) et urbain (Verdanson).

3.3. Indicateurs de contamination humaine

Les coliformes et les *Escherichia coli* sont dénombrés en utilisant le kit Colilert ®-18 (Idexx) afin d'évaluer le niveau de contamination (récente) d'origine fécale, marqueur simple et utilisé en routine dans la surveillance environnementale. En parallèle, la matière en suspension est mesurée (mg/L).

3.4 Détermination des concentrations d'antibiotiques inhibitrices (concentrations inhibitrices de communauté, c-IC).

La recherche de la résistance à des antibiotiques représentatifs de l'épidémiologie actuelle de la résistance (Amoxicilline (Amox), Céfotaxime (CTX), Ceftazidime (CAZ), Tétracycline (TET), Ofloxacine (OFLO)) est réalisée en cultivant la communauté aérobie hétérotrophe sur milieux TSA (Trypticase Soja Agar) supplémentés par chacun des antibiotiques (gamme de 16/32/64 à 0,125 mg/L) et incubés à 20°C et 30°C pendant 72h pour les échantillons provenant du Lez-lagunes et à 22°C pour les échantillons Font d'Aurelle et Verdanson. Le rapport nombre de colonies sur milieux avec ATB / nombre de colonies sur milieu sans ATB donne les c-IC_{50} et c-IC_{90} correspondant respectivement à la concentration minimale en antibiotique inhibant 50% et 90% de la communauté bactérienne cultivable.

3.5. Identification des populations cultivables et résistantes.

La biomasse des bactéries cultivables résistantes, c'est à dire donnant des colonies sur milieu contenant des antibiotiques, est collectée pour chaque échantillon. L'ADN total est extrait et la région hypervariable V3 du gène de l'ARNr16S bactérien est amplifiée par PCR.

La diversité des amplicons est révélée par *Temperature Temporal Gel Electrophoresis* (TTGE). Les empreintes génétiques ainsi obtenues pour l'ensemble des échantillons étudiés donnent un premier aperçu de la richesse des communautés bactériennes (Vanhove, 2011). La comparaison à la communauté totale non cultivée permettra de juger du caractère minoritaire mais sélectionnable par les ATB de certaines OTUs (*operational taxonomic units*) **(fig. 3)**.

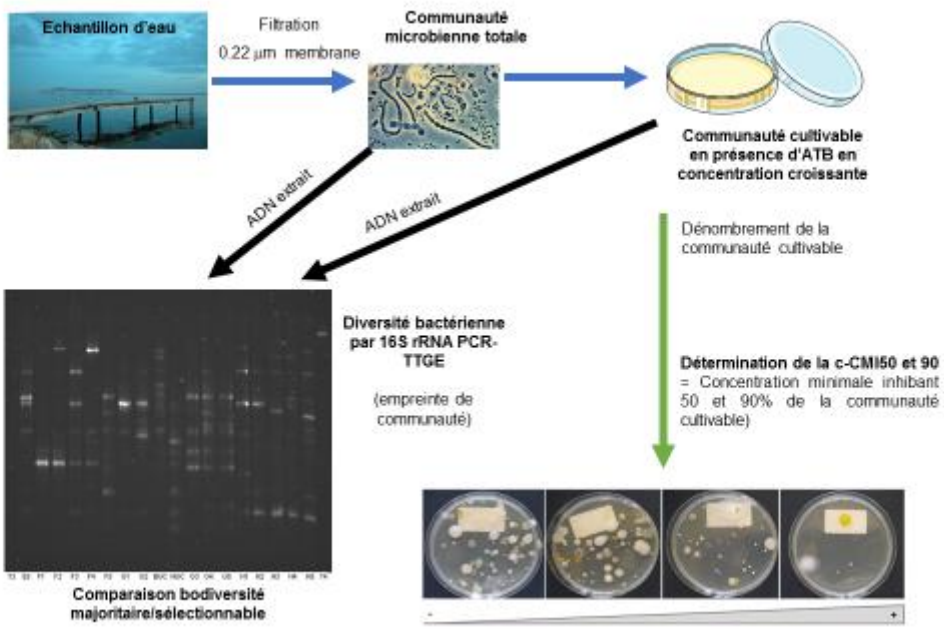

Fig. 3 : démarche méthodologique générale

4. RESULTATS

4.1 Niveaux de résistance dans le continuum Lez / Lagunes

Pour chaque condition expérimentale, le nombre de colonies bactériennes diminue lorsque la concentration en antibiotique augmente. Le nombre de colonies varie peu en fonction de la température d'incubation (20 et 30°C).

L'eau du Lez et celle de la lagune présentent des communautés dont la résistance à la tétracycline est similaire, avec une c-IC_{90} inférieure au seuil critique clinique de résistance **(fig. 4)**. En d'autres termes, 90% de la communauté bactérienne cultivable est inhibée par une concentration de tétracycline inférieure à la concentration qui permet de catégoriser les souches cliniques dans la catégorie des souches résistantes à la tétracycline.

La communauté bactérienne du Lez est plus résistante au céfotaxime (CTX) que la communauté lagunaire : plus de 10% de la communauté résiste à 8 mg/L, seuil critique clinique de résistance.

A l'inverse, la communauté bactérienne lagunaire est majoritairement résistante à la ceftazidime : la c-IC_{50} est égale ou supérieure au seuil critique clinique de résistance et inhiber plus de 90% de la communauté nécessite une concentration supérieure à 128 mg/L, concentration la plus forte testée dans cette étude.

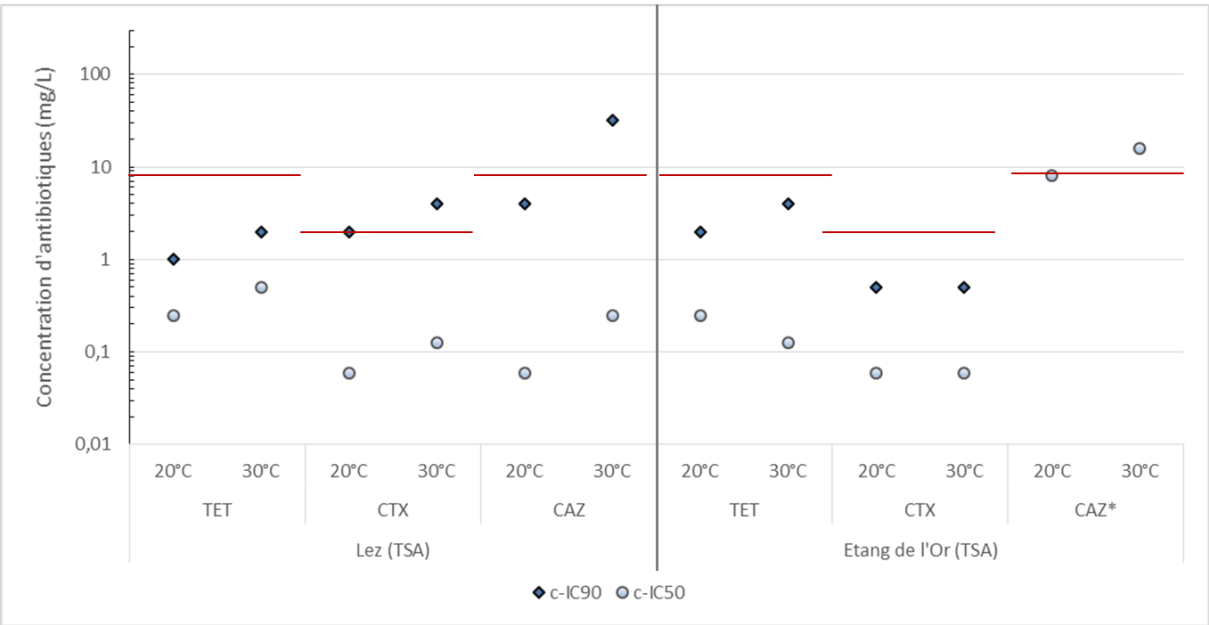

Fig. 4 : c-IC_{50} et c-IC_{90} de tétracycline (TET), céfotaxime (CTX) et ceftazidime (CAZ) sur les communautés bactériennes cultivées sur TSA (Trypticase Soja Agar) à 20°C et 30°C. La ligne rouge indique la concentration seuil de CMI permettant de catégoriser les souches cliniques en souches résistantes.

4.2 Etude de la richesse des communautés bactériennes du continuum Lez - Lagunes

La richesse des communautés bactériennes cultivables totales est évaluée par PCR-TTGE (**fig.5**), en fonction de la température d'incubation. Cette technique permet de mettre à jour la biodiversité majoritaire, dont des genres bactériens à potentiel pathogène pour l'homme : *Acinetobacter, Aeromonas, Enterobacter, Pseudomonas* ou encore *Vibrio*. C'est au sein des gamma-protéobactéries qu'est mise en évidence la plus grande diversité bactérienne.

			Etang de l'Or		Lez	
Phylum ou class	**Famille**	**Température d'incubation (°C)**	**20**	**30**	**20**	**30**
α Proteobacteria	*Caulobacteraceae*	*Brevundimonas*				
	Rhizobiaceae	*Agrobacterium*				
β Proteobacteria	*Neisseriaceae*	*Chromobacterium*				
	Comamonadaceae	*Comamonas*				
γ Proteobacteria	*Moraxellaceae*	*Acinetobacter*				
	Aeromonadaceae	*Aeromonas*				
	Enterobacteriaceae					
		Citrobacter				
		Enterobacter				
	Pseudoalteromonad.	*Pseudoalteromonas*				
	Pseudomonadaceae	*Azomonas*				
		Pseudomonas				
	Chromatiaceae	*Rheinheimera*				
	Shewanellaceae	*Shewanella*				
	Vibrionaceae					
		Vibrio				
Bacteroidetes	*Cyclobacteriaceae*	*Algoriphagus*				
	Flavobacteriaceae	*Cellulophaga*				
		Chryseobacterium				
		Elizabethkingia				
		Flavobacterium				
Firmicutes	*Aerococcaceae*	*Aerococcus*				
	Bacillaceae	*Bacillus*				
		Lysinibacillus				
	Bacillales XII.	*Exiguobacterium*				
	Planococcaceae	*Marinibacillus*				
Actinobacteria	*Microbacteriaceae*	*Microbacterium*				

Fig. 5 : Biodiversité majoritaire mise en évidence par PCR-TTGE après culture sur milieu non sélectif, incubé à 20°C ou 30°C

4.3 Niveaux de résistance : Font d'Aurelle (péri-hospitalier) et Verdanson (urbain)

L'objectif de cette partie est d'étudier l'impact d'un centre hospitalier sur les niveaux de résistance de la communauté bactérienne et de suivre ce caractère dans le temps (dynamique spatio-temporelle suivie pendant 1 an). Ces données sont complétées par des indicateurs simples de qualité sanitaire de l'eau : MES et quantification des *E. Coli,* indicateurs de qualité sanitaire de l'eau.

Les milieux sans antibiotiques permettent de quantifier les bactéries cultivables totales (UFC/mL). Les milieux avec antibiotiques permettent de sélectionner et quantifier les bactéries résistantes. Les résultats sont exprimés en % de bactériens résistantes par rapport au nombre de bactéries totales.

Le **tableau 1** présente les principaux résultats obtenus entre décembre 2014 et mars 2015, l'étude se poursuivant jusqu'en novembre 2015.

Les principaux résultats de ces premiers mois d'observation sont les suivants :

- globalement, lorsque la concentration en antibiotique augmente, le nombre d'UFC diminue.
- en général, même la plus faible concentration testée (0,0312mg/L) inhibe une partie de la communauté bactérienne (jusqu'à plus de 50% d'inhibition obtenu pour CAZ et OFLO).
- en général, moins de 10% résiste aux fortes concentrations de CTX, TET et OFLO alors que la résistance est plus prononcée pour Amox et CTX
- il ne se dégage pas de tendance nette permettant de différencier les eaux amont des eaux aval et les eaux du Verdanson des eaux du Font d'Aurelle.

Tableau 1 : résultats obtenus pour les 4 premiers mois d'étude. En vert, orange et rouge sont indiquées les plus petites concentrations qui permettent d'inhiber respectivement au moins 50, 70 et 90% de la communauté bactérienne

	Décembre				Janvier				février				Mars			
	Verdanson		Font d'Aurelle		Verdanson		Font d'Aurelle		Verdanson		Font d'Aurelle		Verdanson		Font d'Aurelle	
	amont	aval	amont	aval	amont	aval	amont	aval	amont	aval	amont	aval	amont	aval	amont	aval
MES (mg/L)									0,4	3,3	0,5	0,6	2,7	1,8	1,8	0,7
UFC total (/ mL)	12440	13350	9230	13810	690	560	49500	54750	119	20250	3426	25612	3025	5475	6700	993
E coli (/ mL)	62	420	11	85	1	29	8400	9800	1	31	63	122	2	1723	10	223
% de résistants à 0,0312mg/L Amox									93	81,5	84,6	51,4	82,6	94,1	82,1	94,7
% de résistants à1 mg/L Amox													67,8	47,5	53,7	64,5
% de résistants à 8 mg/L Amox	27,97	64,22	66,52	54,3	14,49	28,57	12,12	9,13	71,5	31,2	24,1	27,4	33,1	12,8	17,9	43,3
% de résistants à 64 mg/L Amox	33,6	34,9	43,66	32,72	4,34	39,28	8,08	21,91	31,9	13,3	10,5	8,9	26,4	10	4,5	15,6
% de résistants à 0,0312mg/L CAZ									97,8	75,6	75,9	41,7	90,9	79,5	85,1	90,2
% de résistants à 2 mg/L CAZ	100	100	63,59	61,33	37,68	21,42	30,3	14,61					44,6	47,5	50	31,7
% de résistants à 8 mg/L CAZ	59,88	63,29	81,04	61,18	34,78	35,71	6,06	1,82	50,8	36,2	37,5	13,7	37,9	10,7	17	30,1
% de résistants à 32mg/L CAZ	34,96	52,2	54,17	40,4	1,44	0	2,02	0	40,5	32,3	25,9	10,4	9,9	4,6	20,9	4,5
% de résistants à 0,0312mg/L CTX	100	100	100	100	31,88	100	92,92	51,14	85,7	74,3	83,9	46,3	79,3	71,2	85,8	89,2
% de résistants à 2 mg/L CTX	47,9	100	100	100	46,37	35,71	28,28	18,26	40,2	50	33,4	40,9	46,3	41,1	37,3	49,4
% de résistants à 64 mg/L CTX	13,74	36,85	11,37	14,48	1,44	0	0	0	11,1	6,3	4,6	4,9	3,3	2,7	1,5	0,5
% de résistants à 0,0312mg/L TET									100	100	89,2	63	81	97,7	81,3	97,2
% de résistants à 0,5 mg/L TET	100	100	77,68	54,16	8,69	10,71	46,46	27,39					41,3	58,4	27,9	75,6
% de résistants à 8 mg/L TET	17,2	32,28	4,76	5,28	0	0	6,06	0	5,2	2,8	2,6	2,9	0	4,6	0,7	0,5
% de résistants à 32 mg/L TET	5,86	13,25	1,73	1,37	0	0	0	0	2,2	1	2	1,7	0	2,7	0	0
% de résistants à 0,0312mg/L OFLO	100	100	100	100	17,39	25	38,38	27,39	75,4	100	69,5	69,7	52,9	78,5	46,3	70
% de résistants à 1 mg/L OFLO	37,86	81,57	39,76	34,9	0	17,85	2,02	0	35,8	30,5	38,7	14,3	5	11,9	6	4
% de résistants à 16 mg/L OFLO	5,3	21,12	5,74	4,99	0	0	0	0	5,1	1,7	6,3	0,7	0	0	0,7	0

5. DISCUSSION

Les infectiologues sont aujourd'hui face à une préoccupation majeure de santé publique : l'émergence de l'antibiorésistance, pouvant mener à des impasses thérapeutiques. Une surveillance épidémiologique est organisée pour suivre ces bactéries multirésistantes, à dispersion mondiale. Toutefois, les arguments en faveurs de réservoirs environnementaux sont encore trop peu nombreux. Récemment, une première description d'entérobactérie résistante aux carbapénèmes (EPC) a été décrite dans un réservoir aviaire en France (Laurens *et al.,* 2014) : cette bactérie a été isolée au niveau du cloaque de goélands leucophées, vivant dans des zones anthropisées alors que, dans la même étude, les recherches d'EPC chez les goélands railleurs vivant dans des espaces naturels se sont révélées infructueuses. Une autre étude a fourni des arguments en faveur de la transmission de bactéries résistantes (*Enterobacter asburiae*, EPC) de l'environnement à l'homme (Laurens *et al.,* 2014)

Face à la méconnaissance du rôle des réservoirs environnementaux dans la diffusion et la transmission de bactéries pathogènes multirésistantes, nous proposons dans ce projet d'explorer un environnement aquatique urbain et/ou péri-hospitalier. En effet, la maitrise du risque infectieux lié aux bactéries résistantes impose une meilleure connaissance des réservoirs environnementaux et de l'impact des activités anthropiques sur l'émergence et la diffusion ce des bactéries. L'hôpital revêt une importance particulière dans ce type de projet territorial car il est maintenant clairement démontré que l'hôpital n'est pas seulement un système hébergeant des pathogènes mais plutôt un amplificateur du risque infectieux général.

Cette première étude a permis d'analyser le niveau d'antibiorésistance de différentes communautés cultivables issues de milieux hydriques soumis à différents stress. Par exemple, en clinique, un isolat sera dit résistant si sa croissance n'est pas inhibée à la concentration critique de 2mg/L de CTX et de 8mg/L de CAZ. Dans notre étude, généralement, plus de 90% de la communauté est inhibée à ces concentrations pour les eaux prélevées du Lez et de l'étang de l'Or mais aussi pour les prélèvements réalisés sur le Verdanson et le Font d'Aurelle. Seuls les prélèvements de décembre présentent des communautés particulièrement résistantes.

Une approche moléculaire est mise en œuvre pour évaluer la biodiversité des communautés bactériennes. La communauté totale cultivable a été explorée. Reste à explorer les communautés résistantes, dans la perspective d'aborder les mécanismes de transfert de gènes de résistance. La caractérisation de ces communautés cultivables résistantes complètera donc l'étude. Si des bactéries connues pour être pathogènes pour l'homme sont identifiées, les isolats seront plus précisément caractérisés (antibiogramme).

Par ailleurs, les communautés peuvent présenter un haut niveau de résistance à l'amoxicilline, antibiotique largement utilisé en médecine humaine, jusqu'à 43% de la communauté peut résister à la plus forte concentration testée (64mg/L, prélèvements de décembre). Paradoxalement, près de 50% de la communauté bactérienne peut être inhibée à la faible dose de 0,0312mg/L (prélèvements de mars). L'identification des taxons majoritaires composant cette communauté donnera des informations sur les supports de résistance : supports taxonomiques et génétiques.

6. CONCLUSIONS

6.1. PERSPECTIVES

La mise au pont d'une technique basée sur la culture et l'expression phénotypique de la résistance a permis de quantifier le niveau de résistance des communautés bactériennes dans le continuum étudié. Cette étude sera complétée par des empreintes de communautés afin d'évaluer la dynamique de la richesse de ces communautés bactériennes (biodiversité) mais aussi une caractérisation de la résistance de certains isolats bactériens.

L'étude commencée en décembre sur la description des communautés bactériennes résistantes dans l'environnement urbain est la première dans un contexte de continuum urbain-côte méditerranéenne et va se poursuivre pendant un an afin d'en évaluer la dynamique.

Finalement, nous évaluerons l'impact des caractéristiques écosystémiques locales stressantes pour les communautés bactériennes : effet de la ville et des activités anthropiques, effet d'un centre se soin avec ses eaux de ruissellement, effet du climat et des épisodes pluvieux extrêmes.

Afin de compléter cette approche naturaliste d'un problème majeur de santé publique dont la dynamique est directement liée aux enjeux sociétaux et démographiques de la région de Montpellier, le projet sera poursuivi avec une comparaison de nos résultats aux données d'épidémiologie régionale.

6.2. FORMATION A LA RECHERCHE PAR LA RECHERCHE

Le travail initié grâce au financement OHM a été le point de départ d'une thèse d'Université de l'ED SIBAGHE (2013-2016, Ayad Almakki) dont le titre est "Diversité des bactéries pathogènes opportunistes résistantes aux antibiotiques dans l'environnement péri-hospitalier : relations avec les isolats cliniques et les communautés microbiennes karstiques d'amont". Mr A. Almakki est financé par Campus France, Ministère de l'Enseignement Supérieur Irakien

De plus, C. Roure, étudiante en Master 1 Master 1 Eau, Spécialité Contaminants Eau Santé, (avril-juillet 2014) a appliqué la méthodologie développée dans ce projet à "l'étude des communautés bactériennes résistantes aux antibiotiques au sein de l'aquifère karstique du Lez".

Enfin, il est prévu que T. Guillou, étudiant en Master 1 Eau, Spécialité Contaminants Eau Santé, vienne en appui au doctorant pour son stage de master (Avril-juillet 2015) dont le titre est : " Contribution à l'étude de la diversité des bactéries pathogènes opportunistes résistantes aux antibiotiques dans l'environnement péri-hospitalier ".

6.3 VALORISATION PAR COMMUNICATIONS

Ces travaux ont fait l'objet de posters présentés en congrès nationaux et internationaux :

1. Almakki A., Roure C., Masnou A., Esteves K., Mosser T., Hery M., Jumas-Bilak E., Licznar-Fajardo P. *Exploration des communautés bactériennes résistantes aux antibiotiques dans des environnements aquatiques de la région de Montpellier*. 34ème Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie anti-infectieuse, Paris, 27-28 novembre 2014, Paris
2. Licznar-Fajardo P., Héry M., Masnou, A., de Montety V., Leonardi V., Seidel J.L., Batiot-Guilhe C., Hardy M., Roure C., Almakki A., Jourde H., Jumas-Bilak E. *Approche pluridisciplinaire originale d'exploration de l'aquifère karstique du Lez : compartimentation hydrodynamique et résistance des communautés bactérienne aux antibiotiques*. Colloque Effervescence : environnements et résidus de médicaments : enjeux présents et futurs : quelles réponses, Montpellier, 21-22 novembre 2014
3. Almakki A., Jumas-Bilak E., Licznar-Fajardo P. *Suivi des communautés bactériennes résistantes aux antibiotiques dans des eaux urbaines à proximité du centre hospitalier de Montpellier,* 1ère journée des doctorants de l'IM2E, Montpellier, 20 mars 2015
4. Almakki A., Roure C., Héry M., Aujoulat F., Jumas-Bilak E., Licznar-Fajardo P. Investigation of culturable antibiotic resistant bacterial communities in a Mediterranean karstic hydrosystem, 3rd International Symposium on the Environmental Dimension of Antibiotic Resistance (EDAR3), Wernigerode, Germany, mai 2015
5. Almakki A., Laurens C., Jena-Pierre H., Héry M., Jumas-Bilak E., Licznar-Fajardo P. From water resistome to human pathobiome: a new look on water-related infectious diseases, Pathobiomes: pathogens in microbiotas in hosts, Paris, France, June 2015
6. Guillou T., Almakki A., Salles C., Perrin JL., Tournoud MG., Mosser T., Masnou A., Monfort P., Jumas-Bilak E., Licznar-Fajardo P., Résistome environnemental urbain : impact d'un centre hospitalier (Montpellier, France), VIIème colloque de l'Association Francophone d'Ecologie Microbienne (AFEM), Anglet, 3-6 nov. 2015

Enfin, un article scientifique est en cours de rédaction dont une partie est issue de ce projet : Tolerance to antibiotics of bacterial communities in fresh and brackish waters assessed by determination of community- Inhibitory Concentration and diversity fingerprinting

BIBLIOGRAPHIE

Allen HK, et al. Nat Rev Microbiol. 2010 Apr;8(4):251-9

Aujoulat F, et al. Genes. 2012 3, 191

Baquero F et al. Curr Opin Biotechnol. 2008 19:260-5

Bourdier A, et al. Com. Congrès AFEM 2013, Clermont Ferrand

Gaze WH, et al. Emerg Infect Dis. 2013 Jul;19(7)

Giovannoni SJ, Stingl U. Nature. 2005 Sep 15;437(7057):343-8

Lagier JC et al. Clin Microbiol Infect. 2012 Dec;18(12):1185

Laurens et al. Com. Congrès SFM 2014, Paris

Levy, S. B. & O'Brien, T. F. Clin. Infect. Dis. 2005 41, S219–S220

Maravić A, et al. Int J Environ Health Res. 2012 22(6):531-42

Martinez, J. L. et al. FEMS Microbiol. Rev. 2009 33, 430–449

Okoh AI, Igbinosa EO. BMC Microbiol. 2010 May 14;10:143

Ramírez Castillo FY, et al. Front Microbiol. 2013 Jun 17;4:147

Sarmah, A. K., et al. Chemosphere. 2006 65, 725–759

Schreiber C, Kistemann T. Water Sci Technol. 2013 67(1):117-23

Vanhove A, et al. Com. FEMS 2011 Genève

Vaz-Moreira I, et al. Appl Environ Microbiol. 2011 15;77(16):5697

Venter JC, et al. Science 2004 304:66-74

Weber KP, et al. Water Res. 2011 May;45(10):3185-96.