



Ministère des Affaires sociales, de la Santé et des Droits des femmes
Groupe de Travail spécial pour la Préservation des Antibiotiques

GROUPE 5 – ANTIBIORESISTANCE ET ENVIRONNEMENT ANNEXE 2

ETAT DES CONNAISSANCES

REUNIONS PAR AUDIOCONFERENCE : 06/03/2015 – 18/03/2015

Membres du sous-groupe et participants

Jean CARLET (président du groupe de travail antibiorésistance), Antoine ANDREMONT, Jacques ACAR, Christophe DAGOT, Philippe HARTEMANN, Vincent JARLIER, Jérôme LABANOWSKI, Pierre LE COZ, Yves LEVI, Jean-Yves MADEC, Sylvie NAZARET, Fabienne PETIT, Gilles PIPIEN, Marie-Cécile PLOY, François RENAUD, Hélène SOUBELET, Pascal SIMONET.

La présente note synthétise divers éléments issus, soit des audioconférences, soit des documents transmis en parallèle. Elle a été établie à partir des notes des présentations validées par leurs auteurs (J Labanowski, Pascal Simonet, Sylvie Nazaret, Fabienne Petit, Christophe Dagot, Marie-Cécile Ploy, Yves Lévi), des notes de Fabienne Petit, d'Hélène Soubelet et de Pierre Le Coz.

Les participants ont fait un rapide état des connaissances sur l'antibiorésistance dans l'environnement, et ont commencé à évoquer des pistes de propositions.

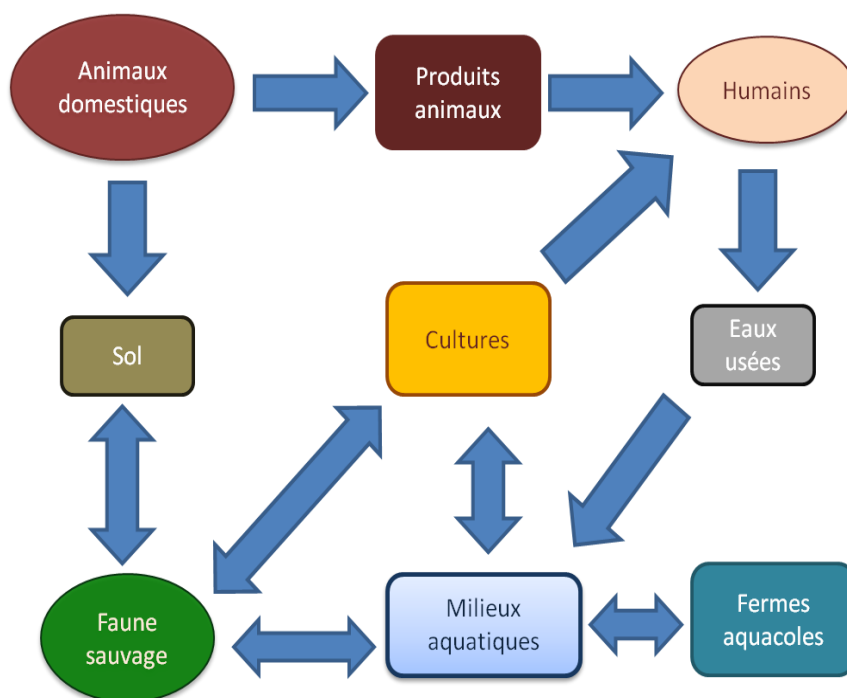
ETAT DES CONNAISSANCES / DONNEES SCIENTIFIQUES

Le niveau de connaissances sur l'antibiorésistance dans l'environnement n'est pas homogène. **Nos travaux ont abordé l'antibiorésistance bactérienne dans la faune sauvage, les milieux aquatiques (y compris les sédiments) et les sols, ainsi que l'impact des désinfectants.** Deux types de marqueurs liés à l'antibiorésistance ont été proposés: la présence de molécules antibiotiques dans les milieux d'une part et la présence de bactéries résistantes ou de signatures moléculaires de résistance (gènes ou intégrons), d'autre part.

1. Antibiorésistance dans la faune sauvage

• Présentation de François Renaud

- Question posée : quelles sont les bactéries résistantes chez les souris ? quel impact des régimes alimentaires ? chez l'homme ?
- Constat : il existe des réservoirs d'antibiorésistances dans l'écosystème
→ Qu'est-ce qui lie les différents réservoirs ?
- Inquiétude : existence chez l'animal de résistances inconnues à l'hôpital
→ Passage possible à l'homme ? Prochainement ?



• Commentaires d'Hélène Soubelet et d'Antoine Andremont

La faune sauvage constitue un réservoir de bactéries résistantes

Dès 2009, Bonnedahl et al. ont identifié un portage chez le goéland en Camargue avec près de 10 % des goélands porteurs d'*Escherichia coli* ESBL¹, et 6 % qui hébergeaient le variant d'origine hospitalière, suggérant une contamination d'origine humaine, probablement via l'alimentation.

¹Extended Spectrum Beta Lactamase

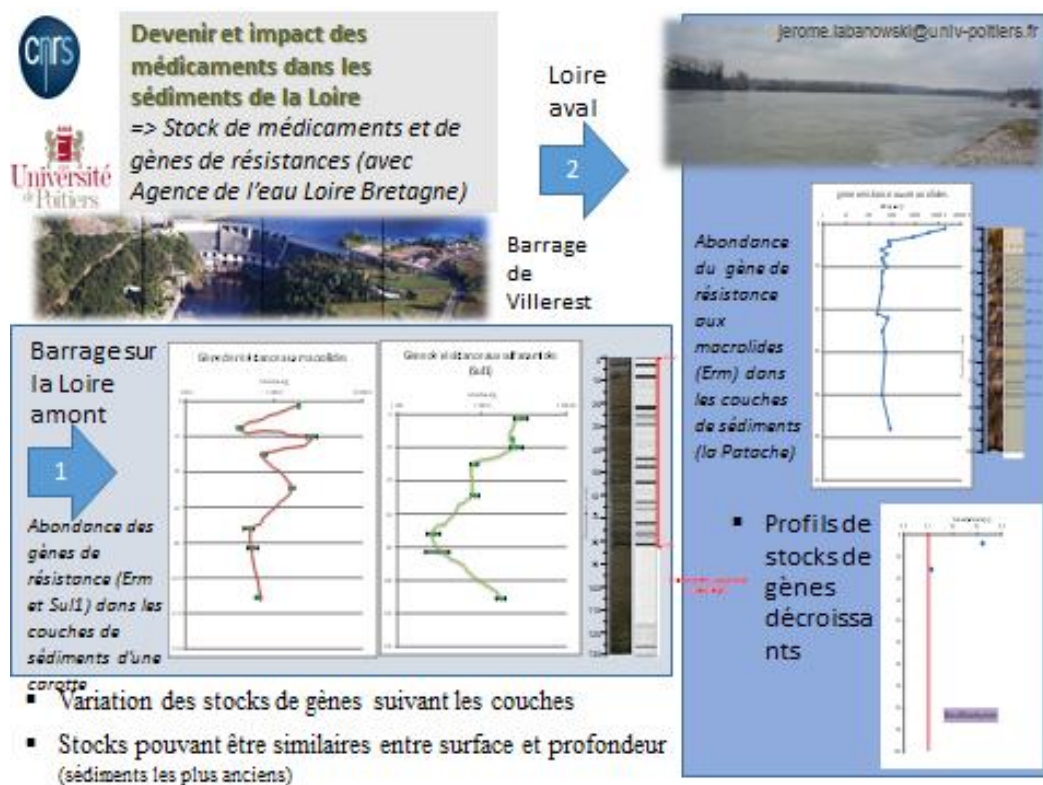
Ces résultats ont été confirmés par plusieurs autres chercheurs qui ont aussi détecté des gènes de résistance chez les bactéries portées par des rongeurs et chez presque tous les groupes d'oiseaux (Guenther et al, Silva et al., Garmyn et al. Foti et al. ...). Pour Botti et al. 4,3 % des animaux testés sont porteurs de *Salmonella* Typhimurium, dont 98% sont résistante à au moins un antibiotique.

Il est donc à présent établi que les bactéries possédant des marqueurs de résistance acquise sont présentes dans la faune sauvage. S'il n'a pas encore été formellement observé que ces bactéries sont susceptibles d'infecter l'Homme, il est difficile d'écarter cette hypothèse. En effet, il a été démontré que des bactéries naturellement résistantes sont très fréquemment présentes dans l'environnement, et qu'elles peuvent soit infecter directement des humains, soit servir de progénitrices pour des gènes de résistances présents sur des éléments génétiques mobiles, et deviennent épidémiques au sein des populations de bactéries pathogènes pour l'homme. La très grande majorité des souches d'entérobactéries ESBL actuellement isolées sont le résultat d'un tel processus.

2. Antibiorésistance en milieux aquatiques

• Présentation de Jérôme Labanowski

- Etude de la pression exercée par des antibiotiques sur des biofilms de rivière
- L'étude de la contamination des biofilms de rivières dans un bassin versant (Vienne) a permis d'établir une cartographie de médicaments, dont les antibiotiques (1 à qq 10nes de nanogrammes : concentration plus de 1000 fois supérieures à celles dans les eaux) piégés dans ces biofilms. Un phénomène d'atténuation du niveau de contamination est observé de l'amont vers l'aval pour le bassin étudié, qui s'explique par la transition entre socle granitique et le bassin sédimentaire qui engendre des échanges avec les nappes, auquel s'ajoute un phénomène de dilution (Dynamique pollution v/v dilution). Les sources de contaminations sont essentiellement liées aux habitations avec un assainissement autonome et l'urbanisation. Les plus fortes densités sont observées en sortie de STEP (Station d'EPuration des eaux usées) .



- Résultats :
 - Des zones avec de grandes quantités de médicaments, sans présence de ville, en amont
 - Plus l'on se rapproche de la confluence, moins la concentration est importante → effet de dilution entre le cours d'eau et l'endroit d'agression
 - Explication : absence de traitement des eaux alors qu'il y a des rejets urbain et animal dans le lit de la rivière qui se compose de granit et donc qui absorbe peu les antibiotiques
- Etude sur le raccordement de l'hôpital Alpes-Léman au service de traitement des eaux

Travail sur un projet de station d'épuration (STEP) en aval d'un hôpital (SIPIBEL). Constat avant et après le raccordement de la présence de bactéries antibiorésistantes dans les eaux, mais pas dans les biofilms à partir d'une certaine distance du rejet => pas d'implantation des souches de bactéries résistantes rejetées.

Travail dans des sédiments d'un barrage en amont de la Loire : constat de stock de gènes de résistances au fond, équivalent à ce qu'on trouve en surface. En aval de la Loire plutôt de fortes décroissances.

Une des explications : la dilution des médicaments, et donc moins de pression, et donc moins de résistance. Mais d'autres cas montrent un maintien des teneurs en médicament sans maintien de résistance, mais avec une modification du contexte hydrologique. En fait, l'enjeu est le lien entre les médicaments et le milieu. La présence de la substance ne suffit pas.

- Résultats :
 - Risque de rejets peu significatif
 - Présence d'antibiorésistances dans les effluents hors urbain
 - Peu de présence à la fin du cours d'eau → effet de dilution
- Etude sur le devenir et l'impact des médicaments dans les sédiments de la Loire (barrage sur la Loire en amont)
 - Mesure du gène de résistance aux macrolides dans le lac
 - Découverte de couches sédimentaires fortement chargée dans les eaux du lac : concentration en eau stagnante
 - Décroissance de la concentration dans le cours d'eau
 - **La mesure des composés antibiotiques est beaucoup plus interférée que celle des marqueurs de bactéries résistantes et/ou de gènes de résistance.**

• Présentation de Fabienne Petit

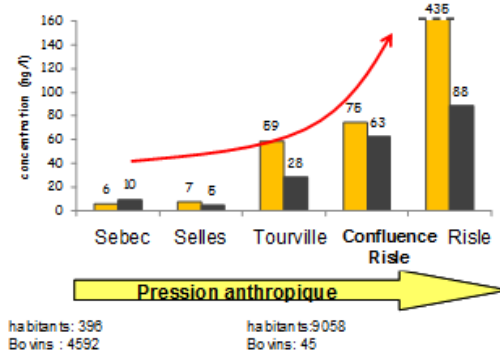
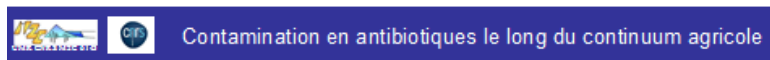
- Etude du dynamisme sédimentaire en estuaire (zone de dépôt mais aussi d'épuration), en fonction de la constitution des sols et de la pluviométrie
- Méthodologie : calcul du temps de transfert des bactéries antibiorésistantes du bovin à l'homme en fonction de la pluviométrie
- Résultats acquis dans le cadre des programmes scientifique du GIP Seine – Aval et PIREN Seine:

Constat : Les eaux de l'estuaire de Seine sont contaminées par des résidus médicamenteux dont les antibiotiques, avec une présence permanente de *E. coli* résistante à au moins un antibiotique dont 11% portent des intégrons de classe 1 (Laroche et al., 2009 ; Tamtam et al., 2011). Cependant à l'échelle de l'estuaire, un des plus anthropisés d'Europe, il est difficile de déterminer l'origine de la contamination et donc de proposer des outils d'aide à la décision aux gestionnaires pour limiter les contaminations de cet environnement

- Afin de discriminer les sources d'origine agricole (usage vétérinaire) des sources d'origine humaine (médecine de ville, hôpital, une étude plus fine de la contamination des eaux par

les antibiotiques et les bactéries fécales antibiorésistantes a été réalisée, le long d'un continuum « centre de soin – STEP- Rivière » et d'un continuum agricole (projet Flash).

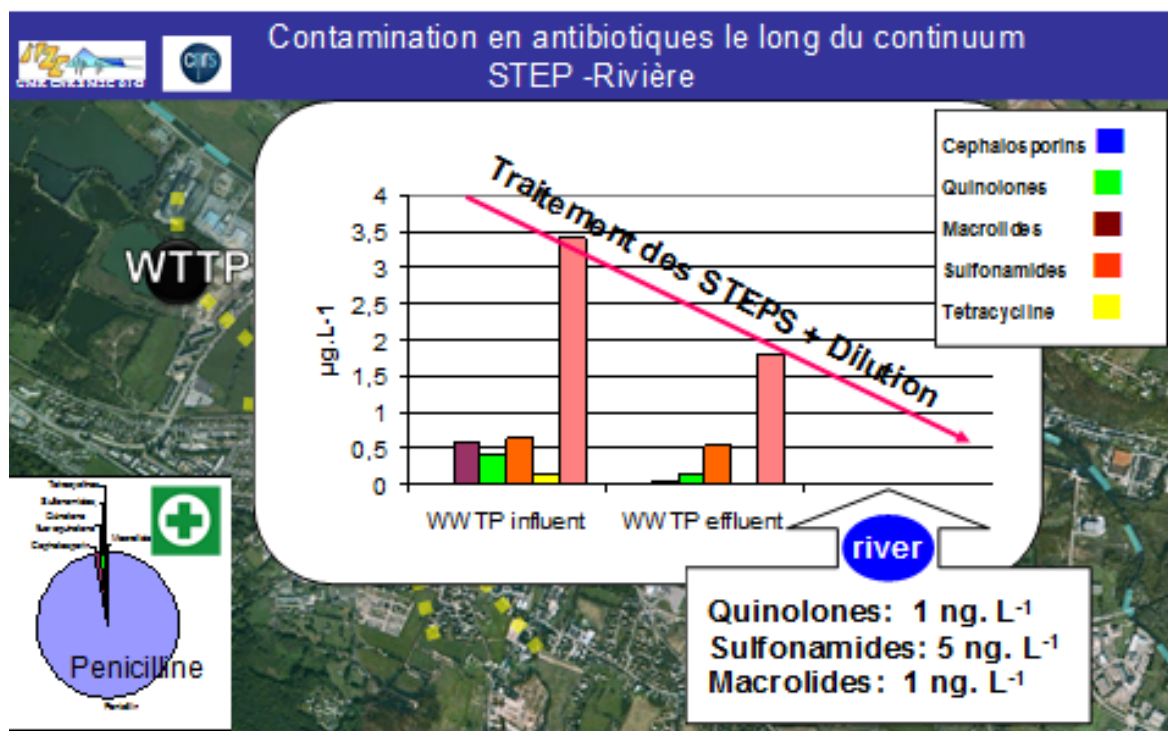
Conclusions :



Mise au point d'une méthode analytique par le LPTC –UMR EPOC, qui permet la détection de 34 molécules antibiotiques avec un seuil de détection de 1ng.L⁻¹.

Projet Flash UMR M2C Rouen-Caen _UMR EPOC- Bordeaux _INSERM IAME _CHU CAEN Marion Juste EPOC

- Diminution des concentrations d'antibiotiques le long du continuum : à l'aval les concentrations trop faibles (de l'ordre du ng.L⁻¹) pour exercer une pression sélective sur les bactéries → les résistances sont sélectionnées au sein des hommes et des animaux traités aux antibiotiques, toutefois à l'amont du continuum agricole il a été isolé des souches environnementales antibiorésistantes dont les supports génétiques n'étaient pas connus à ce jour.
- Seuls les antibiotiques les plus stables persistent dans les eaux, en relation avec les prescriptions en médecine de ville, hospitalière et vétérinaire (Oberlé et al, 2012).
- L'abondance et la structure des populations des bactéries indicatrices de contamination fécale (*E.coli*, Entérocoques) dépendent de l'hydrologie et des usages du bassin versants.
- Le long du continuum agricole la contamination augmente de l'amont (apport animal) à l'aval (apports essentiellement humains).
- A l'amont du continuum agricole, un évènement pluvieux sera responsable d'une contamination des eaux par des bactéries fécales, dont des bactéries antibiorésistantes, issues du ruissellement des pâturages et des apports des fosses septiques. Puis on observe une résilience du milieu avec une baisse de la contamination due à la dilution et à la disparition des bactéries (mortalité, lyse, action des protozoaires).
- Le long du continuum hospitalier on observe une diminution préférentielle des souches d'*E.coli* portant des intégrons cliniques et des Entérocoques d'origine clinique. Des expérimentation en microcosme démontrent qu'une partie des souches multirésistantes persistent moins longtemps dans les rivières (Berthe et al, 2013, Leclercq et al, 2013, Oberlé et al., 2012)).



- Diminution des concentrations le long du continuum ($\mu\text{g.L}^{-1}$ à ng.L^{-1})
 - concentrations trop faibles pour exercer une pression sélective sur les bactéries
- Projet Flash UMR M2C Rouen-Caen _UMR EPOC- Bordeaux _INSERM IAME _CHU CAEN

Question centrale :

- il y a-t-il piégeage dans les biofilms ou dans les sédiments des antibiotiques et/ou des bactéries antibiorésistantes.
- Dans ces environnements les zones de dépôt des sédiments sont elles des zones d'épuration ou des zones d'accumulations. En quoi la remise en suspension de ces sédiments peut elle constituer une source secondaire de contamination ?
- Dans un environnement comme celui de l'estuaire de Seine, quel est effet d'une multiexposition chronique des communautés microbiennes aux médicaments et aux contaminants chimiques (métaux traces)
- Dans un contexte de changement global avec une augmentation attendue de la démographie et donc de la consommation en antibiotiques : Quelle vulnérabilité et/ou résilience des écosystèmes, à la contamination par des bactéries antibiorésistance et les antibiotiques ? Quelles sont les limites des capacités d'épuration naturelle du milieu aquatique?

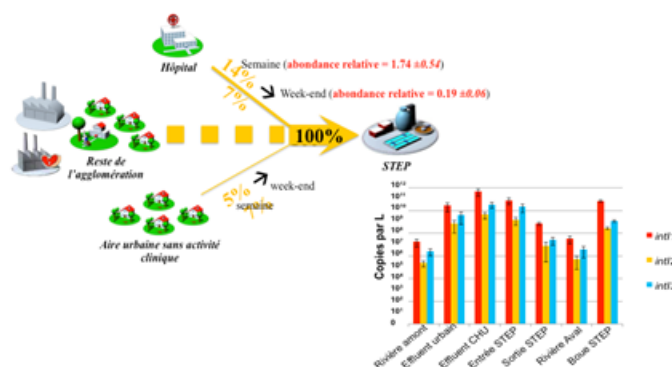
Dans ces travaux, la quantification des intégrons a été utilisée pour évaluer le degré de contamination par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques susceptibles de présenter un danger en milieu clinique. Dans le cadre de la réflexion menée au sein du groupe de travail , il a été constaté que nombreuses publications internationales propose cette approche dans les environnements aquatiques, toutefois, aucune corrélation n'a été établie entre la quantité d'intégrons cliniques dans ces environnements et le risque d'antibiorésistance en milieu clinique. Il est alors proposé de plutôt utiliser un indice relatif.

Le groupe de travail s'accorde sur la nécessité de **se concentrer sur un petit nombre d'indicateurs et de multiplier les mesures** plutôt que de multiplier les indicateurs. **La question se pose donc du choix de ces indicateurs.**

• **Présentation de Christophe Dagot et Marie-Cécile Ploy**

Travail sur des bassins versant pour suivre des médicaments et résistances aux ATB (Limoges, et Syndicat Intercommunal de Belcombe). Détection de bactéries antibiorésistantes depuis des établissements (hôpitaux, abattoirs, effluents urbains, etc.) jusque dans des rivières, sur la base de la détection des intégrons. Travail sur le marquage des effluents anthropiques, par des intégrons de classe I. Constat de faible concentration constatée dans l'environnement, en particulier au-delà des STEP du fait surtout de la dilution dans les milieux. Donc, quelle dissémination dans un bassin versant ? Via des flux d'intégrons. L'hôpital représente une part significative des antibiorésistances et de la multirésistance mais pas majoritaire. Travail sur la typologie des effluents. Le marquage des effluents hospitaliers est très particulier par rapport aux effluents urbains. Les boues de STEP ont un autre marquage.

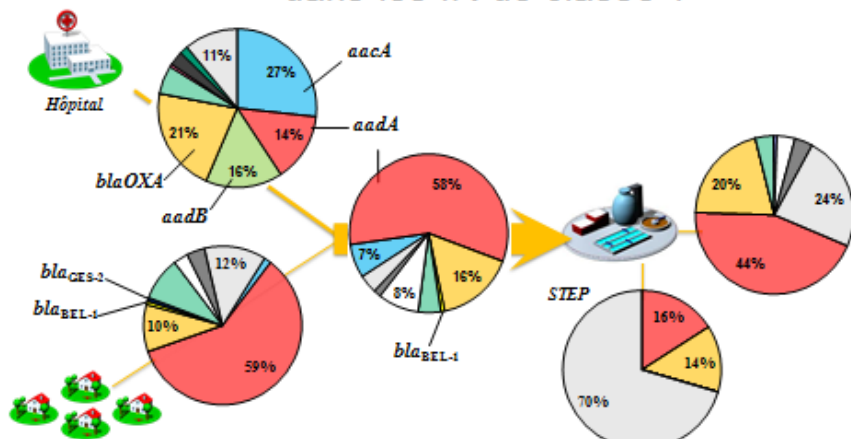
Bilan des apports / impact



- **Impact direct des activités cliniques sur :**
 - l'apport des IR d'origine hospitalière au niveau de la Station d'épuration
 - l'abondance relative des IR dans l'effluent hospitalier

Les intégrons ont été choisis comme marqueurs, au regard des expériences en cliniques. Même si certains éléments d'antibiorésistantes ne sont pas portés par les intégrons. On s'attache à un suivi d'un signal de risque.

Proportions des types de CG identifiées dans les IR de classe 1



Présence dans l'effluent urbain et en entrée de STEP de CG codant des BLSE. Les activités hospitalières induisent la sélection et la dissémination d'IR hébergeant des CG de résistance aux antibiotiques hospitaliers.

Le choix a été d'utiliser une approche métagénomique plutôt qu'une approche par culture car ne nombreuses bactéries sont non cultivables sur les milieux usuels utilisés au laboratoire. Choix du marqueur intégrons en suivant les classes 1, 2 et 3.

L'analyse des cassettes de gènes de résistance contenues dans ces intégrons s'est limitée aux classe 1 considérés comme les intégrons « cliniques » Ces intégrons ont été séquencés.

Constat : des cassettes ne se retrouvant que dans les effluents hospitaliers.

La réponse SOS peut être induite par divers stress, pas seulement des antibiotiques. Important dans l'environnement où de nombreux stress existent. Rôle par exemple des antiseptiques. Dans l'environnement, il existe des cassettes codant pour des fonctions inconnues, nouvelles résistances ? Autres gènes d'adaptation ? Beaucoup d'intégrons vides : hypothèse de la multiplicité des stress qui activent la machinerie intégrons en permanence et donc nombreux échanges/pertes de cassettes entre bactéries, avec difficultés d'observations instantanées

Enjeux :

- **Normalisation** : nécessité de marqueurs (indicateurs ?) d'ATBR. Lesquels ? Approche culturomique vs métagénomique ? Complémentarité. Estimation de la relation entre antibiothérapie / plan de prévention → indicateur de succès ?
- Résistance au ATB couplée (parfois) résistance antiseptique (gène qac...) – pression sélection (cf. review TS)
- Quelles relations avec la **définition d'un risque** ? Quelles cibles (ESBL, EPC, VRE, Intégrons, plasmides...). Peut-on rester mono-cible ?
- Importance de la quantification des cibles détectées : approche quantitative nécessaire à une évaluation du risque
- Milieux anthropisés : surveillance accrue (Hôpitaux, élevage, pisciculture,...). ? ou en milieu urbain ? Augmentation du transfert de gènes selon milieux et environnement (C. Merlin - Nancy)
- Network Environnement / résistance : mutualisation des infos, benchmark européen
- Efficacité des approches (Procédés) traitement : Effluent / Déchets organiques / nourriture

En conclusion, **la quantification des intégrons est un candidat marqueur de l'antibiorésistance dans l'environnement**. Les techniques doivent probablement être encore simplifiées/automatisées pour qu'on puisse le généraliser. Certainement un chantier intéressant devant nous.

3. Antibiorésistances dans les sols

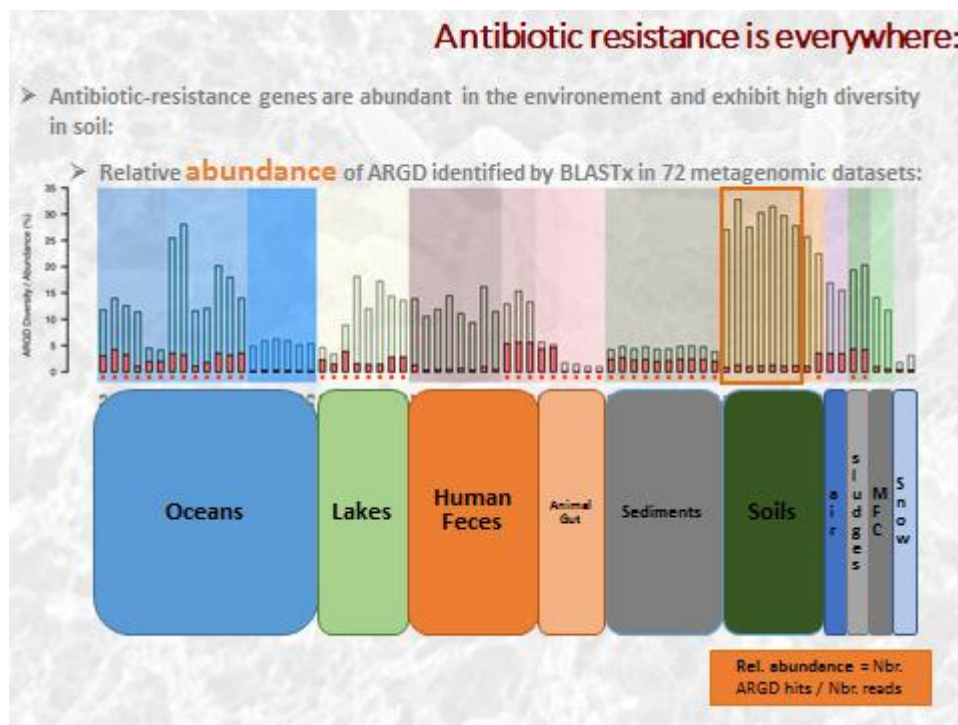
• Présentation de Pascal Simonet

- Constat : quel que soit l'environnement, on retrouve des gènes de résistances (spécifiques mais aussi transversaux), avec une forte abondance dans les sols, mais pas uniquement → l'environnement est donc un réservoir de résistances
 - Explication : la majorité des résistances proviennent des pompes à efflux, mais aussi
- Etude sur la pression sélective due à l'introduction d'un antibiotique
 - Résultats : malgré la concentration en molécule, pas de modification
 - Explication : ce n'est pas l'antibiotique en lui-même qui fait varier la pression sélection, mais son retraitement par les bactéries des différents milieux dans l'environnement

Suivi de divers métagénomomes d'environnements. Quels gènes de résistances ? Abondance, diversité.

Quels que soient les environnements, on retrouve des gènes de résistances : océans, lacs, fèces

humaines, etc. dont sols. Avec des proportions significatives.



Mais d'où viennent les résistances dans les pathogènes ? L'utilisation des antibiotiques ? Ou recrutement de ces gènes dans l'environnement ? Il y a oui, une présence dans l'environnement. On retrouve les mêmes gènes dans l'environnement et en milieu médical.

Que se passe-t-il quand on augmente la pression, par exemple via des amendements, en particulier issus de fumiers contaminés ? Expérience pour l'ANSES. En fait, pas de constat ! **La molécule d'antibiotique, rajoutée dans le sol, ne se traduit pas aucun effet sur les résistances.** Ce n'est pas l'antibiotique qui a un impact dans le sol. Mais, au contraire, quand on insère des fumiers, alors on a des effets forts, mais liés aux bactéries déjà soumises hors sol à des antibiotiques. Voir aussi expérience en Amérique du sud. La résistance aux antibiotiques est présente dans les sols, mais ceci est lié à la structure des sols.

- **Présentation de Sylvie Nazaret**

Travail sur les sols, en particulier impacts d'activités anthropiques (dont intrants organiques : amendements, dont boues de STEP, fumiers, etc.).

Donc intérêt pour les stress : métaux, antibiotiques, mais aussi endogènes, dont origine végétale. Accent sur le lien entre résistances aux métaux et résistances aux antibiotiques.

Travail avec l'INRA (sites expérimentaux). Sur des colonnes de sols, ou des mini-écosystèmes reconstitués (en liaison avec ROVALTAIN plateforme écotoxicologique de Valence).

Intérêts sur bactéries responsables d'infections nosocomiales et leurs propriétés d'antibiorésistance.

Recherche de liens entre doses, disponibilités des contaminants et dynamique de l'ABR à court et long terme dans un but de prédiction des risques


Suivi du rôle des microorganismes dans la biotransformation

Enjeu de la spatialisation, de la bioaccessibilité.

Travail avec pédologues, chimistes, modélisateurs. On connaît moins de choses sur l'antibiorésistance dans les sols que dans les milieux aquatiques. Mais montée des publications dans ce domaine.

La matrice étudiée à savoir le sol étant par nature hétérogène notre approche prend en compte les conditions d'exposition:

- dose, spéciation, disponibilité des contaminants, (bio)transformation
- durée : court terme, long terme, apports répétés, chroniques,
- spatialisation/localisation: accessibilité des contaminants aux microorganismes

 **Collaborations nécessaires avec des pédologues, des chimistes et des modélisateurs (prédiction d'impact, analyse des changements d'échelles)**



Constat: au regard de ce qui est fait et connu pour les milieux aquatiques moins de données sur l'antibiorésistance dans les sols

Synthèse de ce qu'on connaît : antibiotiques dans les sols ? Rôles des apports organiques ? Métaux et antibiotiques sont dans les déjections animales (apports dans l'alimentation des animaux, soins des animaux, etc.). Une grande part des composants sont relargués tels quels dans les déjections. Donc présence dans les amendements, mais avec variation suivant les pays suivant les réglementations locales (peu en Asie, avec fortes concentrations par exemple en Chine).

Peu de sols en France reçoivent des épandages de boues de STEP (très contrôlés en termes de métaux : aucune réglementation en matière de limitation des antibiotiques).

Pas de connaissances sur l'amplitude des apports via les amendements en termes de métaux et antibiotiques. On a plus d'information en Chine (avec donc de très fortes concentrations en métaux et antibiorésistances).

Les données manquantes, en particulier en teneur d'antibiotiques dans les sols. En fait c'est complexe de mesurer les concentrations des sols en antibiotiques (aussi bien totale que biodisponible): problèmes d'extraction et de dosage. Absence ou manque de données ? Problèmes liés aux méthodes d'extraction, car fortes interactions avec les constituants des sols (matière organique, argiles)

Pour les sulfamides, c'est plus aisé (environ 80%).

Quinolones, beaucoup plus dur (moins de 40%)

On repère des teneurs totales en molécules, mais ceci ne suffit pas.

En général, travail plutôt en surface (niveau des labours), mais les antibiotiques peuvent aller plus en profondeur (au moins à 80 cm, cf. études en Chine). Peu d'études sur le transfert dans les nappes sous-jacentes.

Transformation ? La photodégradation est connue, mais pas de données sur sa contribution en condition réelle (que se passe-t-il pour un antibiotique dans un amendement dans un sol ?).

Quelques données pour les sulfamides.

Quel devenir et transformation de ces antibiotiques ? et quel devenir des résidus ? Dosage ? Toxicité ? Apparition de résistance ?

Beaucoup de publications sur présence de gènes, en condition de laboratoire, avec apport spécifique d'antibiotique, sur un suivi en période courte. Plus d'études in situ en Chine.

Tous les gènes d'une famille ne se retrouvent pas sur un intégron. Pas aisé de comparer les résultats des études car tous les gènes potentiellement impliqués dans la résistance à une molécule ne sont pas systématiquement recherchés.

Travaux récents indiquant aucune apparition de résistance au regard des amendements. On a bien une augmentation de résistance, mais sans lien avec l'amendement. Un simple apport de matière organique stimule les bactéries endogènes : effet multiparamètre. C'est l'apport même de matière organique facilement minéralisable qui provoque une augmentation de la biomasse bactérienne et indirectement une multiplication des populations déjà résistantes.

En ce qui concerne les métaux (cf. Mercure, oxyde de zinc, cuivre, etc.) : peu de données. Il est clair que les métaux sont inducteurs de la réponse SOS, donc de résistances par exemple aux Sulfamides, à la méticilline, ... On a des cas de baisse de l'antibiorésistance dans certains cas : cf. vignobles exposés au cuivre (cf Vancomicine). On ne peut pas trancher.

Il faut donc approfondir. Les études sont incomplètes.

- **Commentaire d'Hélène Soubelet**

Les AB sont présents dans tous les compartiments de l'environnement

Les antibiotiques sont largement utilisées et se retrouvent sous forme molécule mère ou résidus dans l'environnement.

Certains antibiotiques sont très difficiles à détecter dans les milieux

Le sol notamment est un milieu qui adsorbe fortement certaines molécules, dont les antibiotiques. Ils ne sont alors plus biodisponibles. Cette propriété présente plusieurs conséquences : il est impossible de détecter la présence de l'antibiotique ou de ses résidus (conséquence importante pour la décision publique qui peut conduire à sous-estimer la contamination des milieux), les molécules ne sont plus biologiquement actives (elles sont donc neutralisées par le milieu, ce qui est plutôt positif), mais elles ne peuvent pas non plus être dégradées par les micro-organismes du sol et le risque d'un relargage persiste.

Le devenir des antibiotiques dans les milieux est mal connu

Si le devenir des antibiotiques dans les organismes cibles est très étudié par les fabricants de médicaments, il n'en est pas de même pour leur devenir dans l'environnement. Ces dernières études sont souvent très légères et leur complexité ne favorisent pas non plus l'avancée de la recherche sur le sujet, d'autant que les analyses dans les différentes matrices sont onéreuses.

La capacité de résilience des milieux est encore peu étudiée

Les antibiotiques diffusent dans les différents compartiments environnementaux et vont subir des modifications physico-chimiques ou biologiques qui conduiront, à terme à leur dégradation complète. Cependant, il est difficile de prédire ce devenir uniquement par l'étude de la molécule mère, la prise en compte du milieu est importante.

Il existe des techniques pour épurer ou dégrader les antibiotiques

Sur cet aspect, il convient d'étudier l'action sur les molécules antibiotiques de plusieurs procédés :

- la lumière (photodégradation)
- l'acidité
- la température
- l'action des micro-organismes.

Ainsi, l'épandage peut suffire, lorsque les antibiotiques sont photo-sensibles à inactiver ces derniers, sous réserve de pratiques adéquate (faible couche épandue permettant l'action de la lumière).

L'ANSES a conduit des études sur les lisiers de porc et les fumiers de volailles.

Il reste à déterminer le compost, ou d'autres techniques de traitement des effluents peuvent

constituer des barrières efficaces contre la dissémination des antibiotiques dans l'environnement.

Par ailleurs, il est bien connu à présent, que les micro-organismes du sol ont une action importante sur les molécules exogènes au nombre desquelles sont les antibiotiques, y compris de synthèse. Enfin, certaines techniques de génie écologique permettent de dégrader les antibiotiques.

La pression anthropique semble jouer un grand rôle sur la présence d'antibiotiques ou de bactéries porteuses de résistances dans les milieux, or il est difficile de la caractériser, comme il est très difficile encore de prédire le devenir des antibiotiques en fonction des conditions de traitement auxquels ils sont soumis et le milieu dans lequel il se dissémine.

La réduction à la source est donc la principale réponse publique actuellement.

Cf. les plans successifs des ministères de la santé, de l'environnement ou de l'agriculture (médicaments dans l'eau, micro-polluants, ecoantibio).

4. Impacts des désinfectants

- **Présentation de Philippe Hartemann**

Questions en suspens :

- Existence de « résistances croisées » entre Antibiotiques et Désinfectants
- Résistance « haut niveau » transférable
- Résistance « bas niveau » mécanisme d'efflux
- Résultats en labo indiscutables (Métaux, Quats, etc..)
- Preuve que possible dans l'environnement???
- Avis de SCENIHR : la probabilité est non négligeable ; ex Ag et nanoAg.
- Etudes nécessaires in situ sur « hot spots »
- Suffisamment d'arguments scientifiques pour recommander un usage raisonné ???

Fortes difficultés à convaincre, même si la Chine commence à se mobiliser.

Premiers éléments vers des propositions

Les débats ont déjà permis de faire émerger de premières propositions.

- **Proposition de François Renaud**

Financer une revue de littérature exhaustive sur les relations entre antibiotiques et environnement (en cours aux USA).

- **Proposition de Jérôme Labanowski**

Etudier la relation entre la substance et son expression dans un environnement donné.

- **Propositions de Fabienne Petit**

Travailler sur le calcul de la mesure d'intégrons pour en faire un indicateur international ou encore en étalonnage

- Limite : beaucoup de recherche au niveau international sur les intégrons mais pas encore 100% de validité (créer un indice relatif du nombre d'intégrons sur une quantité de bactéries)

Mais, elle a proposé un argumentaire qui reprend les réflexions du groupe de travail :

L'occurrence de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement est bien antécédente à l'apparition de l'Homme sur la planète, comme en témoigne la détection de gènes dans des carottes glaciaires de 30 000 ans, dont certaines séquences sont proches de celles qui confèrent aujourd'hui la résistance au betalactamine (D'Costa, Nature 2011).

Le rôle de l'environnement (naturel) dans l'augmentation de l'antibiorésistance bactérienne peut être évoqué selon deux aspects : (i) l'occurrence des gènes présents dans le génome des communautés microbiennes autochtones, sont-ils susceptibles de conférer de nouvelle résistance aux antibiotiques si ils étaient transférés à une souche pathogène de l'Homme ? ; (ii) Quel est le devenir des bactéries antibiorésistantes d'origine humaine ou animale, et des supports génétiques correspondants, une fois rejetés dans l'environnement.

Sur le premier volet deux approches sont complémentaires celle de métagénomique (cf. intervention de Pascal Simonet) et celle qui consiste à rechercher dans le génome de bactéries de l'environnement, pathogènes opportunistes de l'Homme des gènes codant des fonctions facilitant l'adaptation des souches dans leurs niches écologiques d'origine et qui confèrent une résistance aux antibiotiques (exemple des pompe à efflux / cf Sylvie Nazaret).

Aujourd'hui peu de connaissances sont acquises sur la composition de ce résistome, et le rôle de la contamination de l'environnement par des antibiotiques, antiseptiques, métaux traces sur l'enrichissement du résistome microbien de l'environnement en gène de résistance, augmentant ainsi, sur le long terme et localiser sur des hot spots, le « pool » de nouveaux gènes susceptibles d'être transférés à des bactéries pathogènes.

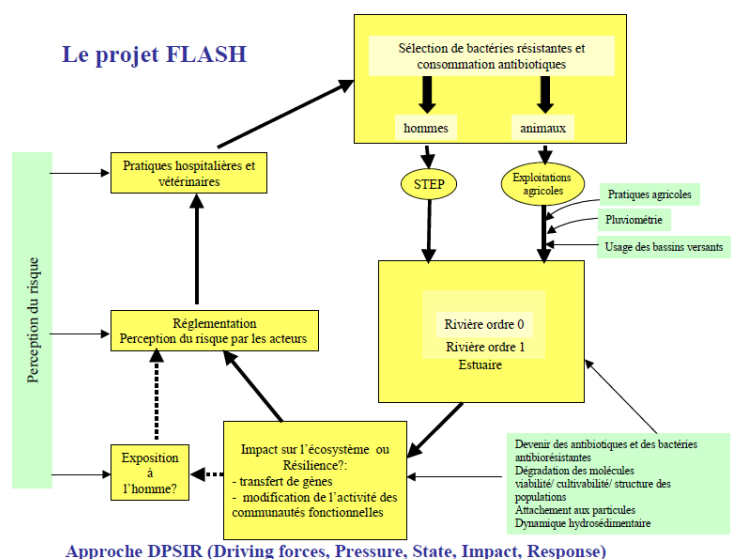
Le second volet fait l'objet d'une bibliographie conséquente notamment depuis les 15 dernières années, qui décrit la présence de bactéries antibiorésistantes et ou des supports génétiques correspondant dans différents environnements (sols, eaux, sédiments), à différentes échelles (proximité des sources de contamination ou à l'échelle de bassin versant) et de temps (de l'actuel à plusieurs décennies) en relation avec les usages (hospitaliers, élevages, aquaculture). A partir de ces

études descriptives, l'analyse des usages du bassin versant couplée à la connaissance de l'hydrogéologie du système, doit permettre aujourd'hui de prédire des événements de contamination du milieu par des bactéries antibiorésistantes d'origine humaine ou animale.

Toutefois il n'y a pas eu à ce jour une réelle évaluation du danger voire du risque pour la santé humaine de la dissémination de bactéries antibiorésistantes dans l'environnement, notamment de souches hospitalières portant des gènes d'intérêt en santé publique. La relation directe entre présence dans l'environnement de gènes de résistance et leur retour à l'Homme via une bactérie, est difficile à évaluer car il s'agit d'un événement rare, sur une échelle de temps difficile à déterminer.

Or, en absence de cette analyse de risque, et dans le contexte du changement global (augmentation de la démographie et climat), un des défis des scientifiques sera d'évaluer la vulnérabilité/résilience de l'environnement à la contamination microbiologique, notamment par des bactéries antibiorésistantes notamment :

- de **modéliser et/ou quantifier les flux, des bactéries antibiorésistantes en fonction des prescriptions/consommations en antibiotiques sur des bassins versants** (identification des sources et des usages), en intégrant les facteurs qui déterminent leur dissémination spatiale (dynamique particulière), en identifiant les sources et zones où ces bactéries peuvent se maintenir ou disparaître (vasières biofilms), en distinguant la dynamique des bactéries cultivables de celle des supports génétiques,
- **d'évaluer la résilience des écosystèmes les plus vulnérables** (i.e. la capacité à épurer) et déterminer les valeurs limites à partir desquelles cette épuration ne pourra plus avoir lieu et/ou le résistome sera important,
- **d'élaborer des scénarii et proposer des outils pour élaboration de politique publique dans l'esprit de la démarche DPSIR** (voir figure ci-dessous).



Le modèle « conceptuel » DPSIR a été proposé par l'Agence européenne de l'Environnement comme outil d'aide à l'élaboration des politiques publiques pour des problèmes environnementales
 Les sigles DPSIR D: Driving Forces (Forces Motrices) ; P: Pressures (Pressions) ; S: State (Etat) ; I: Impacts (Impacts) ; R: Response (Réponses)

Figure : Démarche DPSIR appliquée à l'étude de la contamination des eaux de rivières par des antibiotiques et de bactéries antibiorésistantes (Projet FLASH)

• Proposition de Pascal Simonet

Manque d'harmonisation entre le médicament animal et humain.

- **Proposition de Fabienne Petit et Andoïne Andremont**

On est confronté à une multitude d'études sur impact d'un contaminant, mais sans standardisation (quels dosages, etc.), d'où l'impossibilité de conclure. **Il faut harmoniser au niveau national, avec des normes, avec des cahiers expérimentaux.**

On retrouve ce constat au niveau international. On est au cœur des recommandations que le groupe peut faire. Il faut des normes de mesures.

Actuellement un indicateur simple pourrait être proposé c'est celui de la quantification des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération. Cet indicateur a l'avantage d'être facile à mettre en œuvre pour deux raisons :

1. La quantification des *E. coli* est une technique déjà réalisée en routine dans les environnements, notamment les eaux. Il suffirait donc de rajouter un milieu sélectif à cette mesure sur les mêmes prélèvements, avec les mêmes techniques d'ensemencement.
2. Les milieux sélectifs commerciaux pour cela sont disponibles en santé humaine et pourraient être utilisés facilement.

Ils sont convaincus que la mise en place de cet indicateur apporterait très rapidement beaucoup d'informations fiables et comparatives qui permettraient d'associer les analyses de risque sur des données solides.

- **Propositions d'Hélène Soubelet**

Bases juridiques fondant la décision :

Dans le domaine environnemental, depuis 2004 la charte de l'environnement a fait du principe de précaution un principe constitutionnel qui autorise, voire, oblige à prendre en compte les dommages potentiellement causés à l'environnement :

Article 5. Lorsque la réalisation d'un dommage, bien qu'incertaine en l'état des connaissances scientifiques, pourrait affecter de manière grave et irréversible l'environnement, les autorités publiques veillent, par application du principe de précaution et dans leurs domaines d'attributions, à la mise en œuvre de procédures d'évaluation des risques et à l'adoption de mesures provisoires et proportionnées afin de parer à la réalisation du dommage.

L'absence de décision publique si un problème grave de santé publique apparaît posera nécessairement la question de la responsabilité des acteurs en position de décision.

Il s'agit donc, de gérer un problème complexe en situation d'incertitude et ceci pose deux sortes de contraintes aux décideurs :

- l'obligation d'évaluer le dommage potentiel
- l'obligation d'agir

Le code de l'environnement, propose une démarche pour gérer ces situations complexes : la démarche éviter / réduire / compenser.

Un préalable indispensable à la mise en œuvre et à l'efficacité de cette démarche **est l'évaluation du risque environnemental.**

Evaluer le risque.

Des dispositifs existent déjà. L'autorisation de mise sur le marché des médicaments vétérinaires comporte une évaluation environnementale.

La question de sa pertinence dans sa forme actuelle reste posée, notamment en terme d'action sur les espèces non cibles, de prise en compte des effets cocktails et de prise en compte des effets à

faibles doses.

A contrario, le dispositif d'évaluation du médicament humain, qui ne bénéficie pas d'une telle approche pourrait être encore plus fragile face au risque politique.

Renforcer l'évaluation du risque environnemental, notamment pour le médicament humain est donc indispensable : action de gestion potentielle ?

Favoriser le développement et la validation de méthodes de détection des antibiotiques dans différentes matrices (eau, sol, végétaux) afin de caractériser le risque correctement revêt également une importance cruciale : action de recherche potentielle ?

Eviter et réduire le risque

Le ministère de l'agriculture met en œuvre depuis quelques années le plan ECOANTIBIO pour réduire l'utilisation des antibiotiques. Ce plan présente une certaine réussite avec diminution de l'utilisation des antibiotiques dans des filières à l'origine fortement consommatrices comme les volailles, les porcs ou les animaux domestiques.

Néanmoins, ce plan s'intéresse peu au devenir des antibiotiques dans l'environnement.

Sociologiquement, il a été déterminé que **les populations d'acteurs** réagissent souvent en suivant la règle des trois tiers :

- Le premier tiers est tout à fait d'accord pour prendre en charge de façon volontaire la limitation de ses propres impacts.
- **Le second tiers est une fraction hésitante qui a besoin d'incitations (parfois fortes) pour mettre en œuvre les pratiques vertueuses.**
- Le dernier tiers est réfractaire au changement de pratiques. Il s'agit d'une fraction sceptique (qui ne croit pas au danger, quel qu'il soit et qui refuse sa responsabilité. Ce dernier tiers n'évoluera que si la population de référence à laquelle il appartient est massivement engagée dans des pratiques vertueuses et qu'elles deviennent les normes (ce qui n'est pas le cas actuellement). Aucune incitation, même financière, ne permet, en première intention de les faire basculer.

Cf les recherches menées dans le cadre du programme Pesticides (projet AversionRisk) et le sondage BVA conduit par le ministère de l'agriculture qui a caractérisé ces trois groupes d'éleveurs.

L'action publique doit donc se concentrer sur le second tiers, par des actions incitatives.

Compenser ?

Compenser le déversement massif d'antibiotiques dans l'environnement ne paraît pas une solution à explorer. Leurs impacts sont encore mal connus et la capacité des milieux à absorber et à prendre en charge cette pollution n'est pas garantie.