



**HAL**  
open science

## Devenir des Indicateurs sanitaires (*E. coli*)

Anne-Marie Pourcher, Anne-Laure Vivant, Stéphanie Prost-Boucle, Sandrine Papias, Alain Hartmann, Géraldine Depret, Christine Ziebal, Sophie Le Roux, Catherine Boutin

### ► To cite this version:

Anne-Marie Pourcher, Anne-Laure Vivant, Stéphanie Prost-Boucle, Sandrine Papias, Alain Hartmann, et al.. Devenir des Indicateurs sanitaires (*E. coli*). Journée de restitution du programme ZRV, Mar 2019, Valence, France. 39 p. hal-02609274

**HAL Id: hal-02609274**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02609274>**

Submitted on 26 May 2021

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



# Devenir des Indicateurs sanitaires (*E. coli*)

Journée de restitution du programme ZRV  
28 mars 2019 – Espace HEMERA – Valence TGV

**Anne-Marie Pourcher<sup>1</sup>**, Anne-Laure Vivant<sup>1</sup>, Stéphanie Prost-Boucle<sup>2</sup>, Sandrine Papias<sup>2</sup>, Alain Hartmann<sup>3</sup>, Géraldine Depret<sup>3</sup>, Christine Ziebal<sup>1</sup>, Sophie Le Roux<sup>2</sup>, Catherine Boutin<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Irstea, UR OPAALE, Rennes

<sup>2</sup> Irstea, UR MAEP, Villeurbanne

<sup>3</sup> INRA, UMR1347 Agroécologie, Dijon



AGENCE FRANÇAISE  
POUR LA BIODIVERSITÉ  
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT



Mionnay  
Porte de la Dordogne

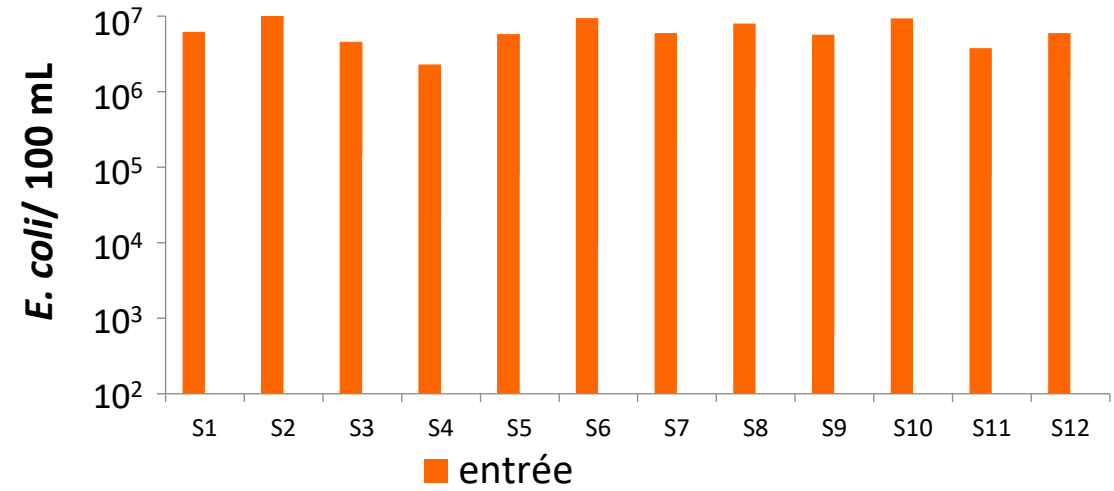


université  
BORDEAUX

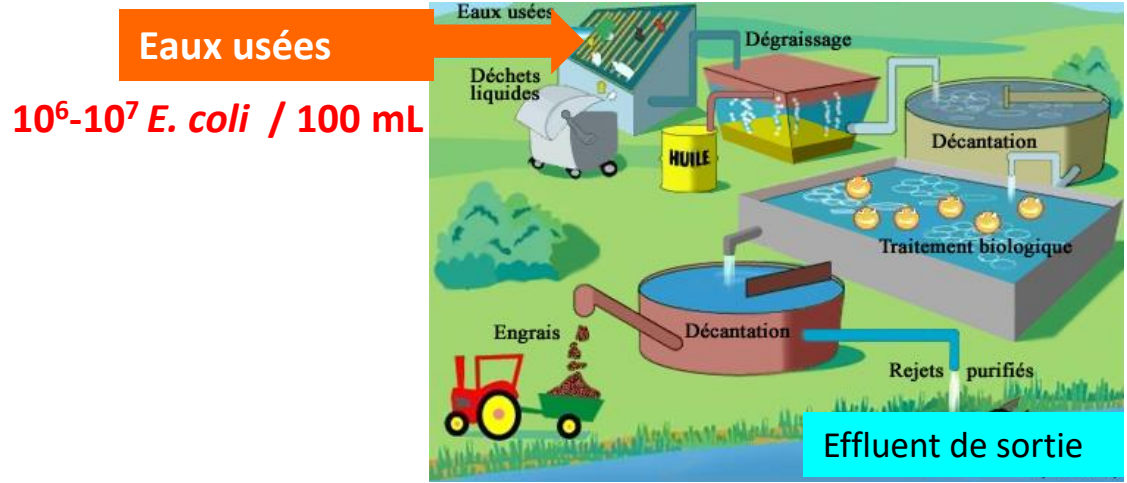


contexte

## ➤ Capacités d'élimination des STEP sur les bactéries indicatrices de contamination fécale



Oliveira *et al.* (2016)



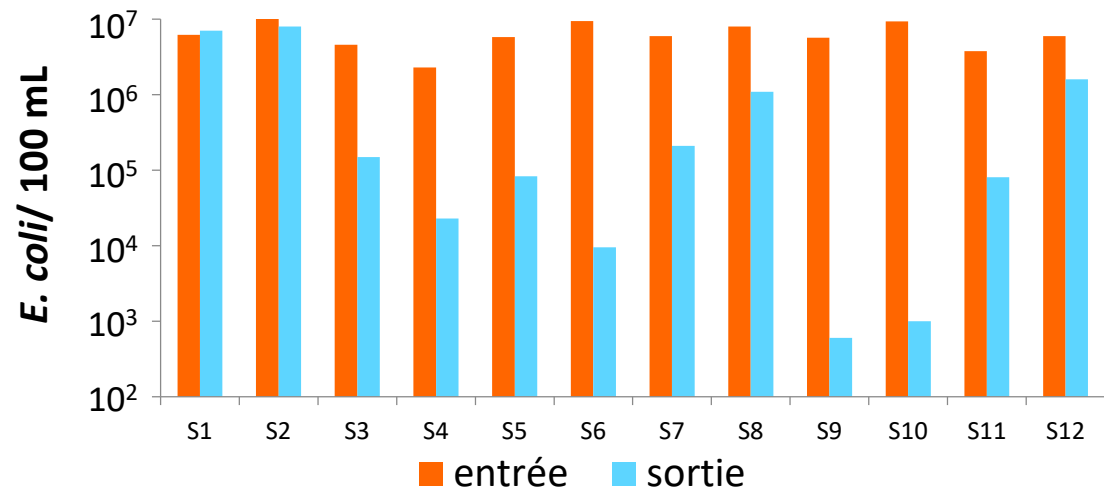
<https://www.huffingtonpost.fr/2018/05/14>



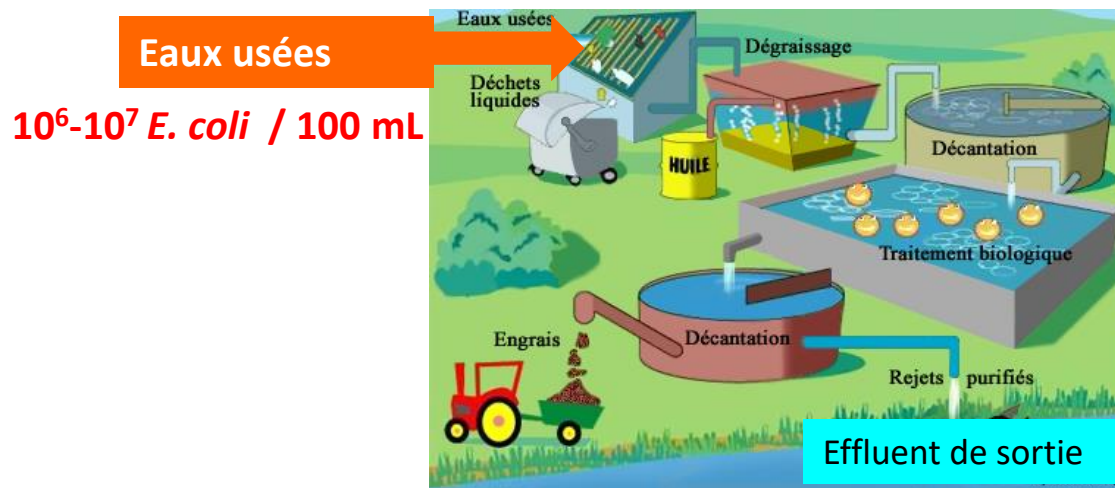
contexte

## ➤ Capacités d'élimination des STEP sur les bactéries indicatrices de contamination fécale

⇒ variables



Oliveira *et al.* (2016)



$10^6-10^7$  *E. coli* / 100 mL

$10^3$  à  $10^6$  *E. coli* / 100 mL

## ➤ Peu de données sur le rôle des ZRV dans la diminution des contaminations bactériennes

## ➤ Très peu d'études sur le devenir des bactéries résistantes aux antibiotiques





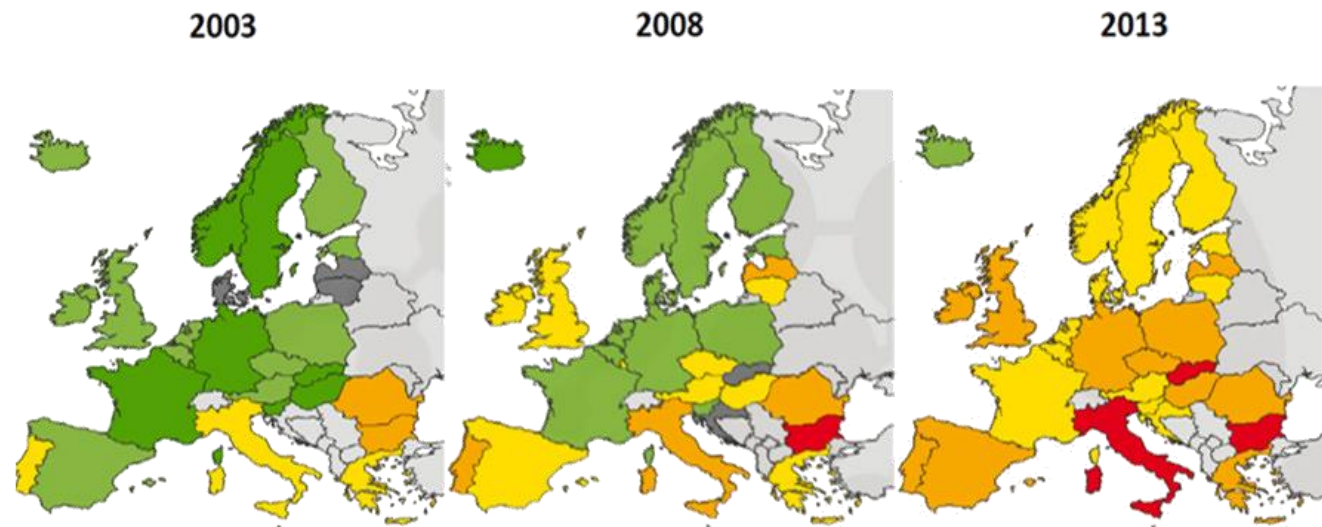
# Les bactéries font de la résistance



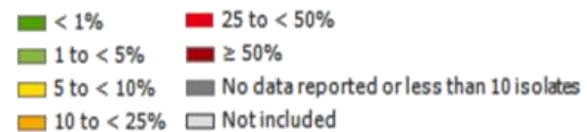
Organisation  
mondiale de la santé

« De nouvelles données révèlent l'existence de niveaux élevés de résistance aux antibiotiques dans le monde »

## *E. coli* résistantes aux Céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération



### Percentage resistance



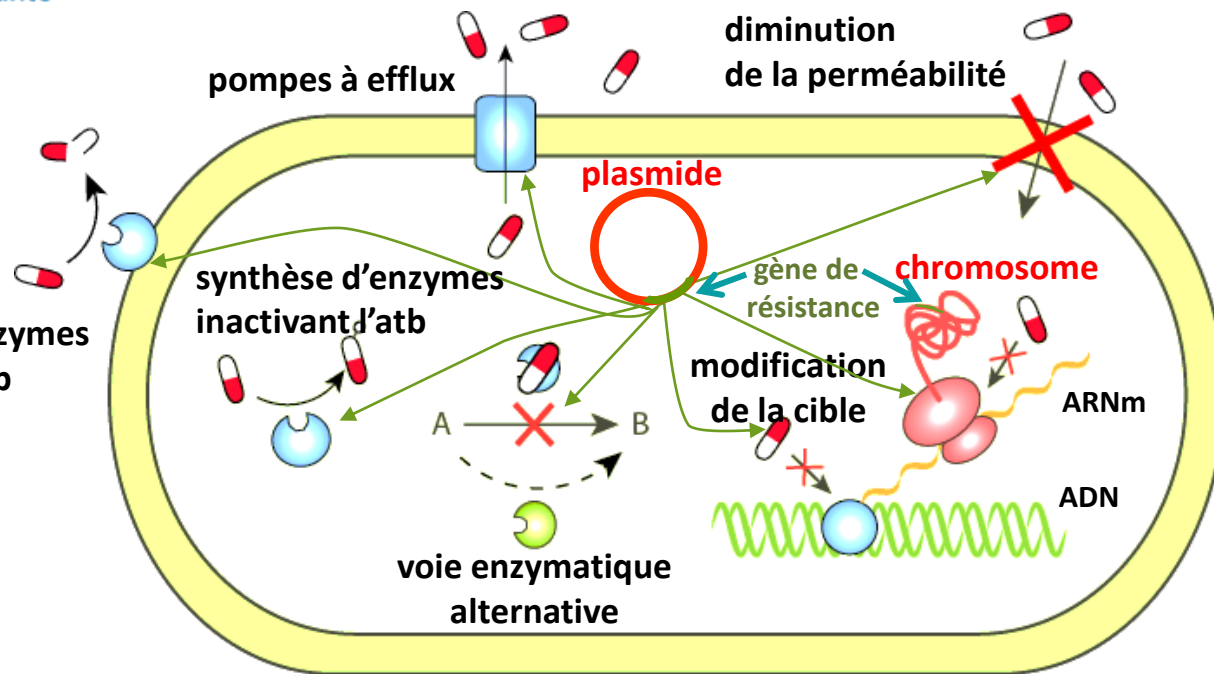


# Les bactéries font de la résistance

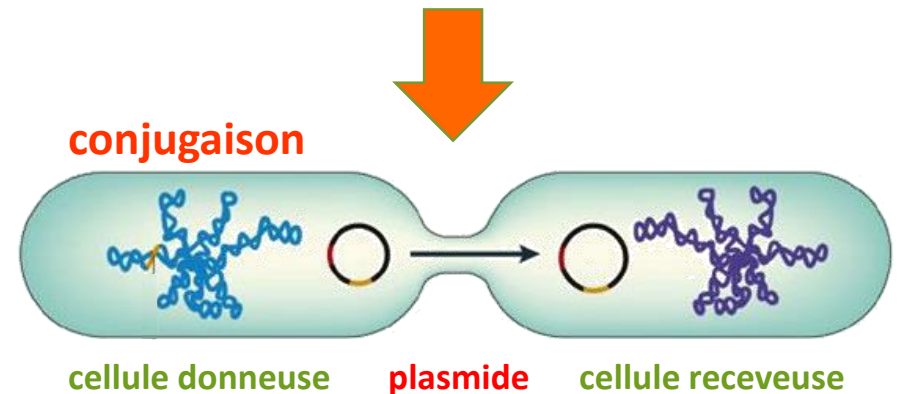


Organisation mondiale de la santé

« De nouvelles données révèlent l'existence de niveaux élevés de résistance aux antibiotiques dans le monde »



gènes de résistance portés par  
 - chromosome  
 - éléments génétiques mobiles  $\Rightarrow$  plasmides





contexte

# Résistance : dissémination *via* l'environnement

antibiotiques médecine humaine

- liens génétiques entre les microbiotes des réservoirs
- forte pression de sélection des gènes de résistance

population



hôpitaux



clinique vétérinaire



animaux de compagnie



animaux d'élevage



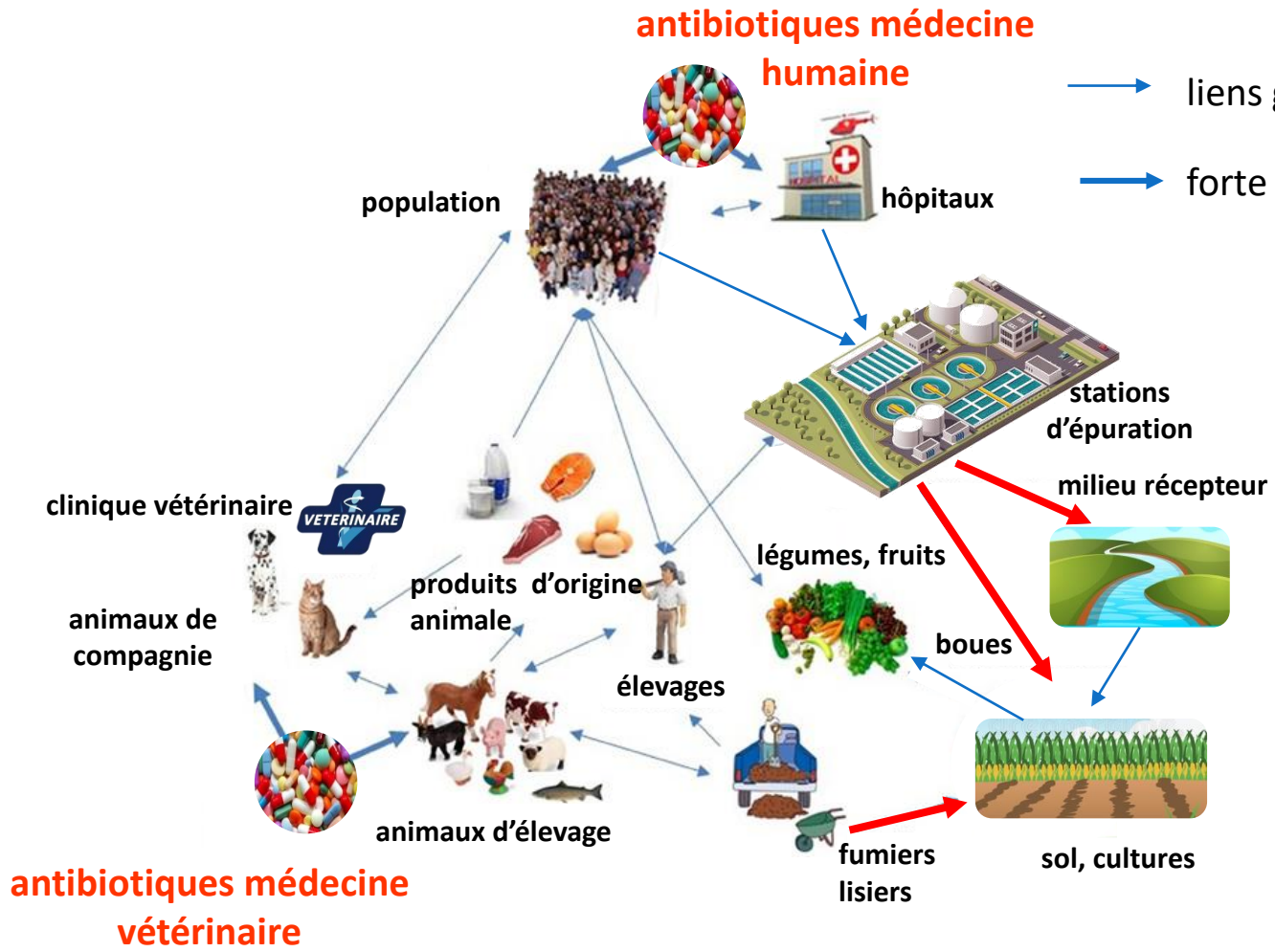
antibiotiques médecine vétérinaire

**Une fraction des antibiotiques non assimilée  
Présence des bactéries résistantes dans les fèces**

**Potentiel de communication entre les microbiotes concernés par l'utilisation d'atbs**



# Résistance : dissémination *via* l'environnement



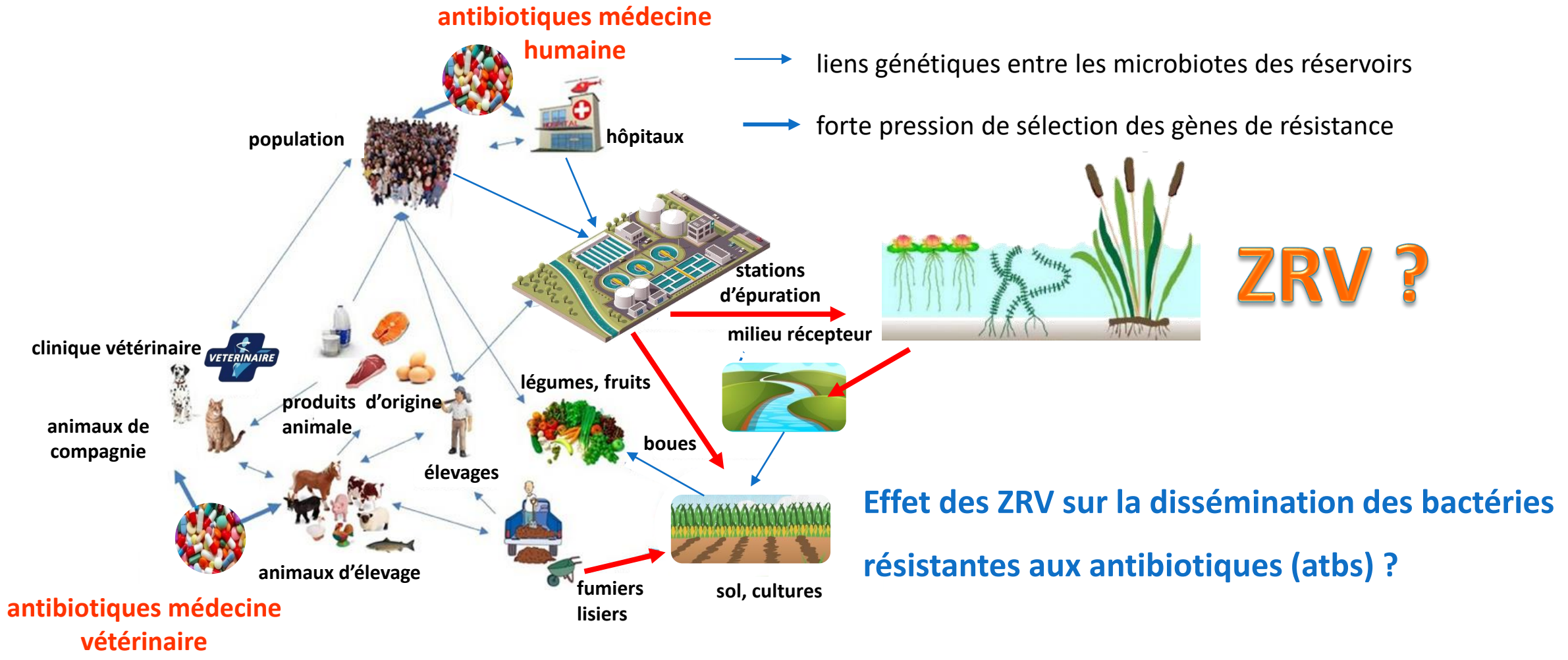
→ liens génétiques entre les microbiotes des réservoirs  
 → forte pression de sélection des gènes de résistance

## Potentiel de communication entre les microbiotes concernés par l'utilisation d'atbs





# Résistance : dissémination *via* l'environnement

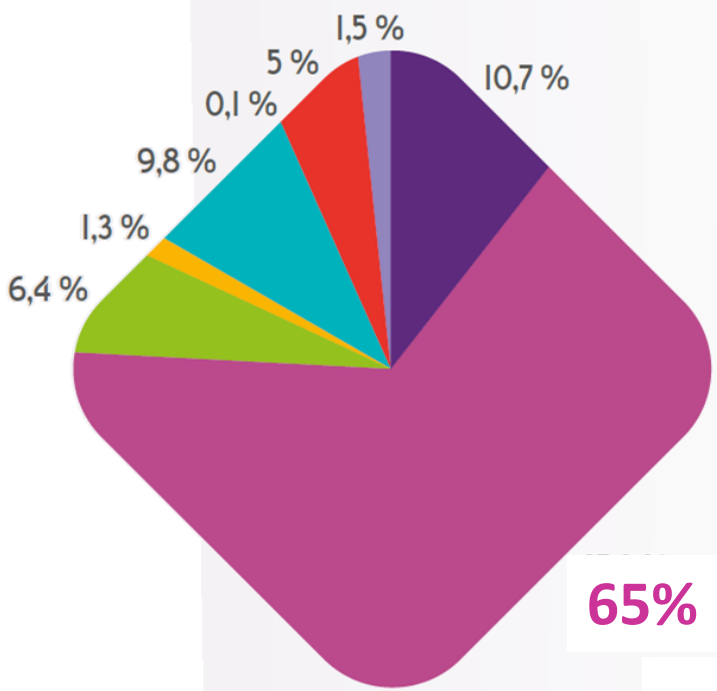


## Potentiel de communication entre les microbiotes concernés par l'utilisation d'atbs

D'après Cantas et al. 2013 Front. Microbiol.

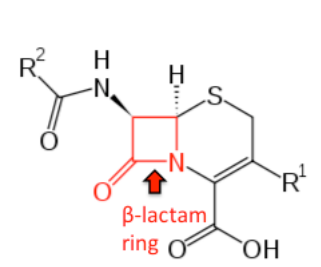


# Répartition en % de la consommation d'atbs en ville mesurée en nombre de Doses Définies Journalières pour 1000 habitants par jour. Données 2016

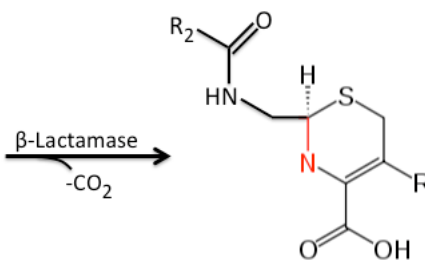


- ◆ Tétracyclines
- ◆ **béta-lactamines, pénicillines : 65 % de la consommation d'atbs en ville et 59 % à l'hôpital**
- ◆ Autres bêtalactamines
- ◆ Sulfamides et triméthoprim
- ◆ Macrolides
- ◆ Aminosides
- ◆ Quinolones
- ◆ Associations et autres antibactériens

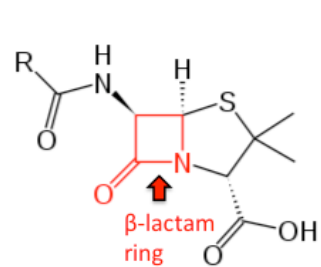
*E. coli* productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (*E. coli* BLSE)



Céphalosporine



Pénicilline





# Objectifs de l'étude

- Evaluer l'impact d'une ZRV sur la qualité bactériologique d'un effluent de station d'épuration
- Localiser les zones de la ZRV conduisant à un abattement significatif des teneurs en bactéries d'origine fécale
- Focus : *Escherichia coli*
  - ⇒ *E. coli* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (*E. coli* BLSE)

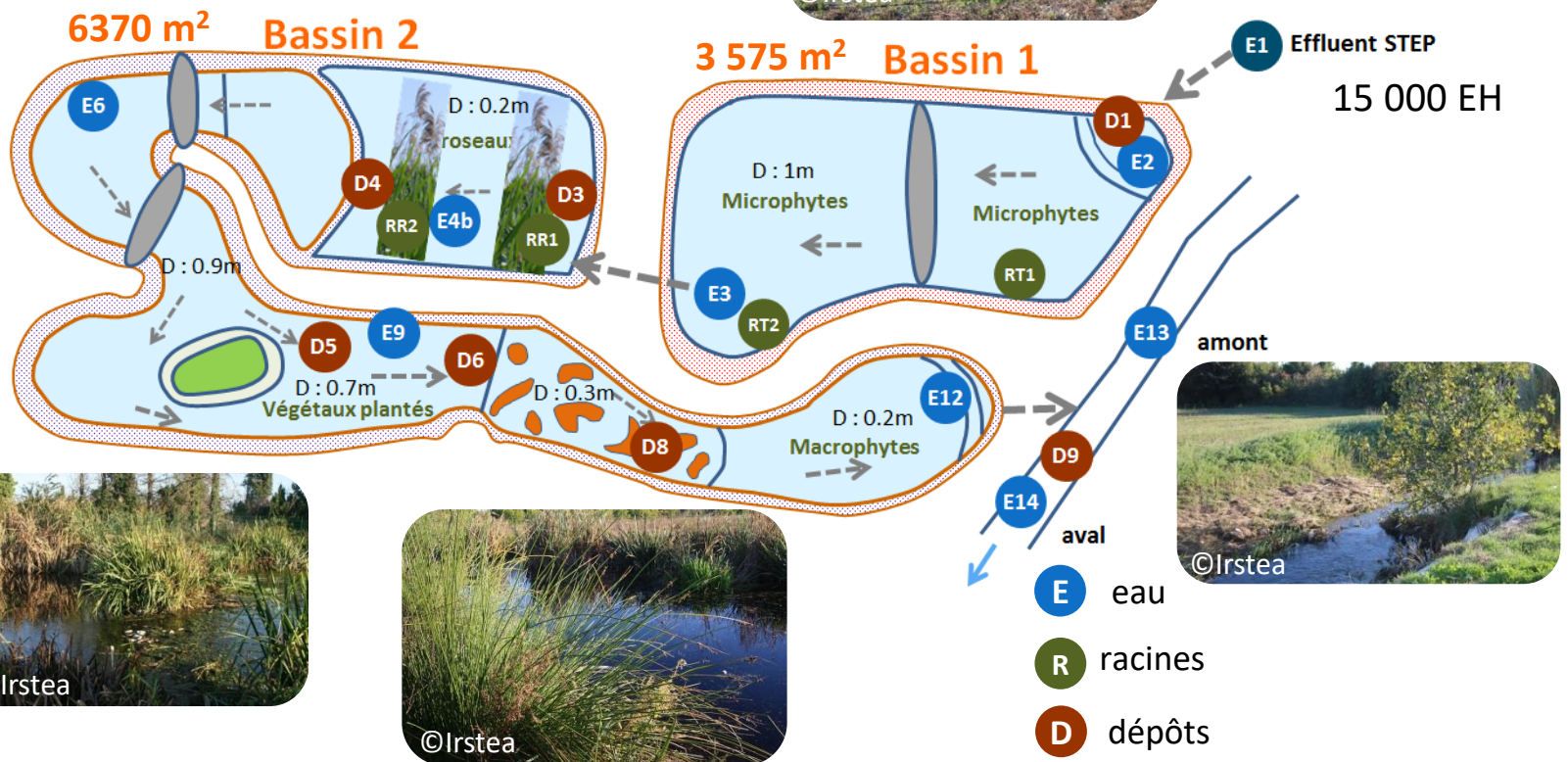


méthode

# Points de prélèvements



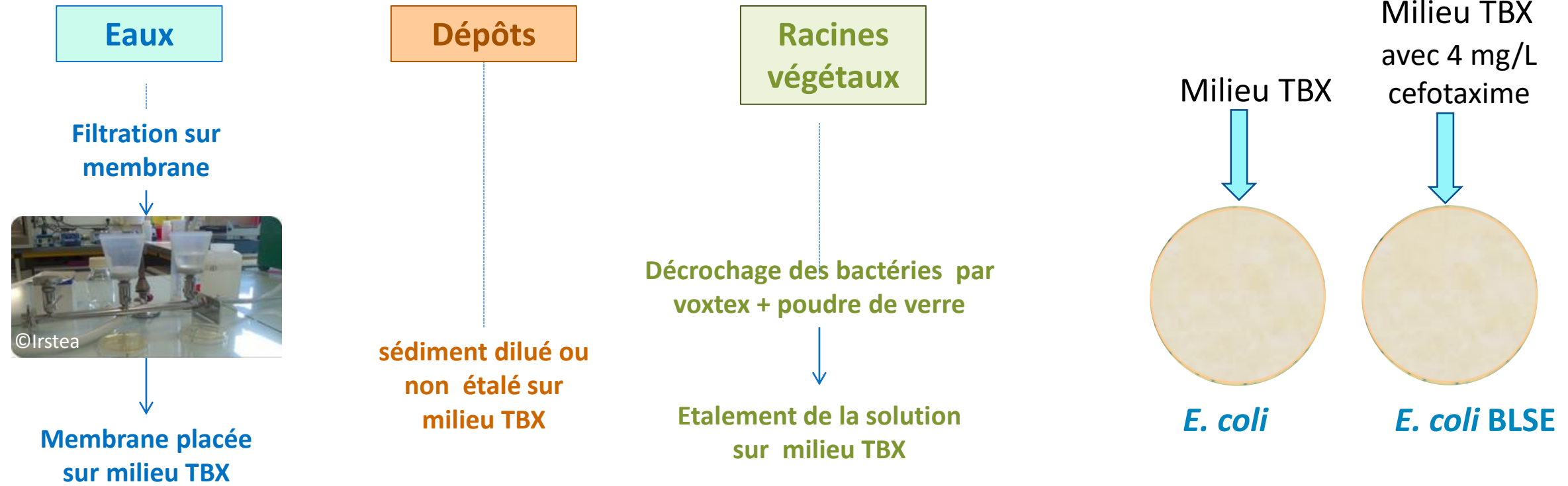
# ZRV de Marguerittes





méthode

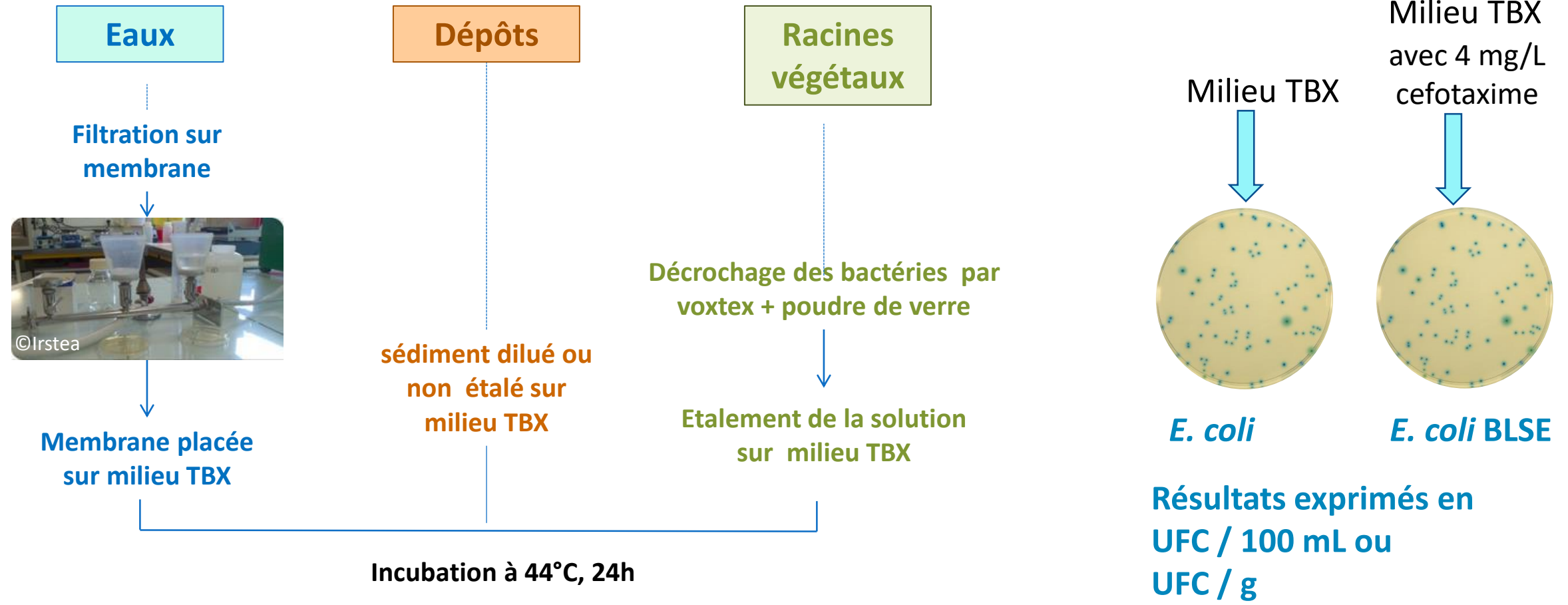
## Dénombrement de *E. coli* et des *E. coli* BLSE





méthode

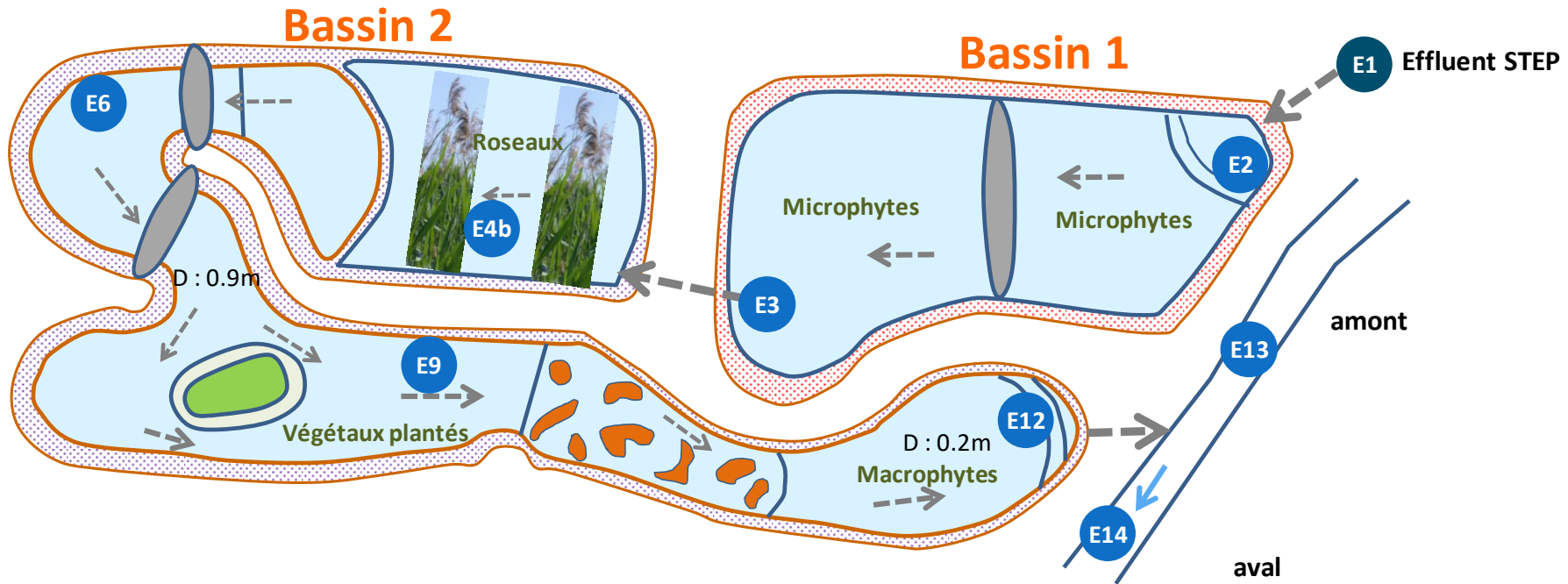
# Dénombrement de *E. coli* et des *E. coli* BLSE





méthode

## Prélèvements d'eau



### 9 points de prélèvements

- 1 ⇒ effluent de sortie de la STEP
- 6 ⇒ ZRV
- 2 ⇒ milieu récepteur

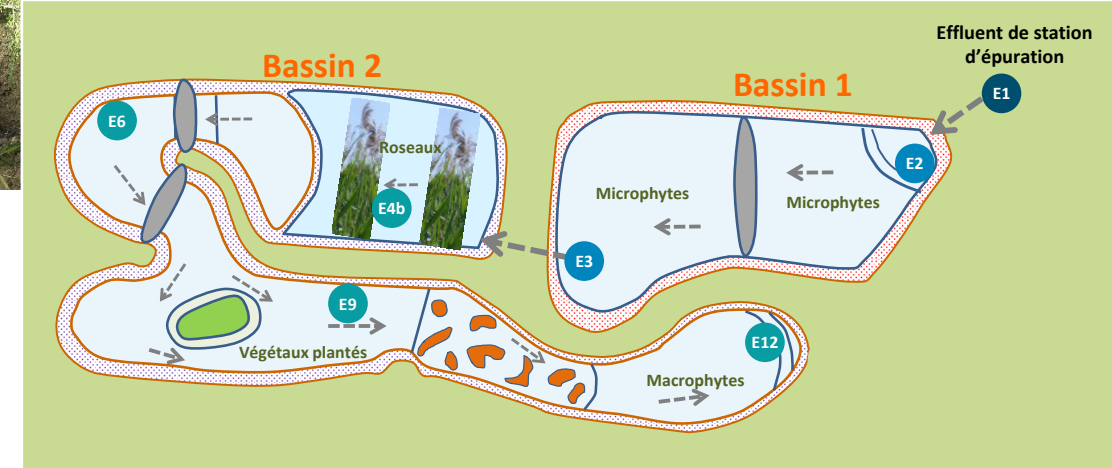
16 collectes d'eau par point de la ZRV



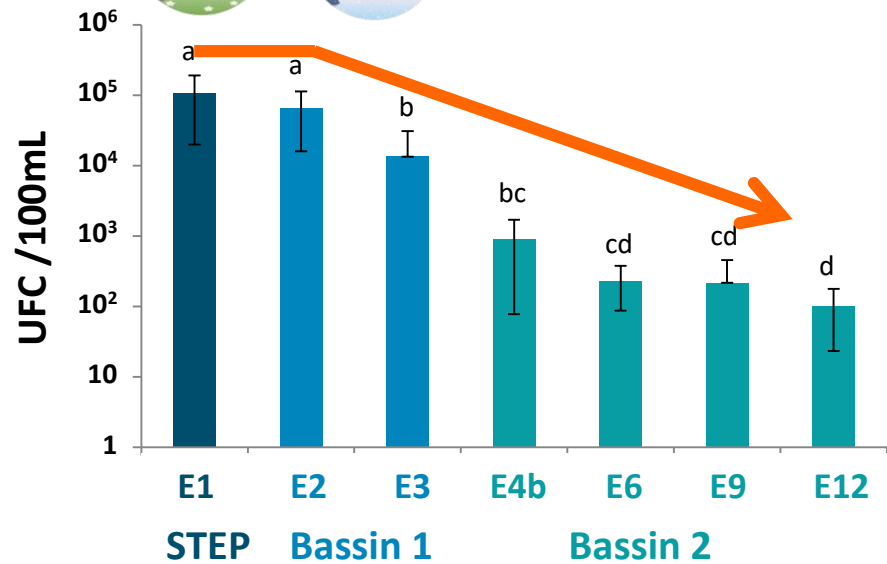
résultats

# Efficacité de la ZRV

de janvier à avril 2015 et décembre 2015



saison froide



ZRV ⇒ diminution progressive des teneurs en *E. coli*

Abattement entrée (E2) vs sortie (E12) : 2,8 Log<sub>10</sub>

En sortie de la ZRV ≈ 10<sup>2</sup> *E. coli* / 100mL

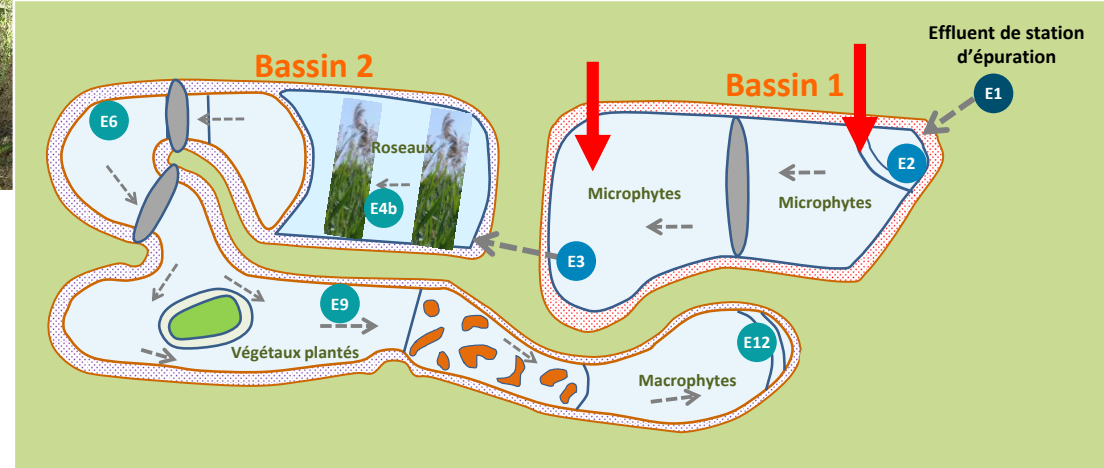




résultats

# Efficacité de la ZRV

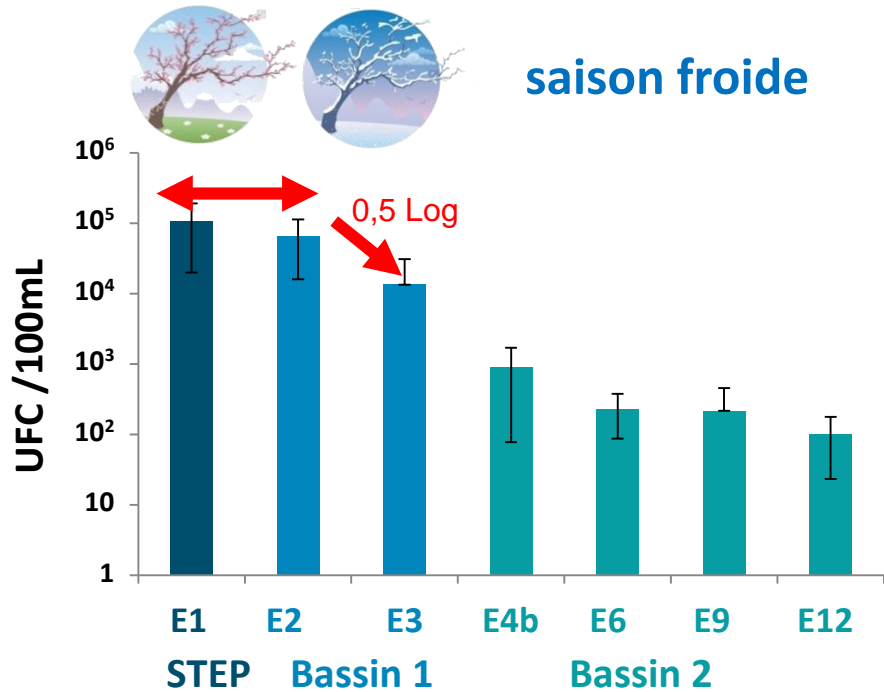
de janvier à avril 2015 et décembre 2015



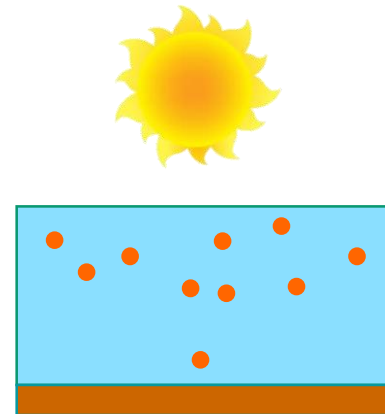
2 zones influencent les teneurs en *E. coli*

**Bassin 1** : 0,5 Log<sub>10</sub> de réduction entre E2 et E3

⇒ Transfert des bactéries vers les dépôts + action des UV



saison froide



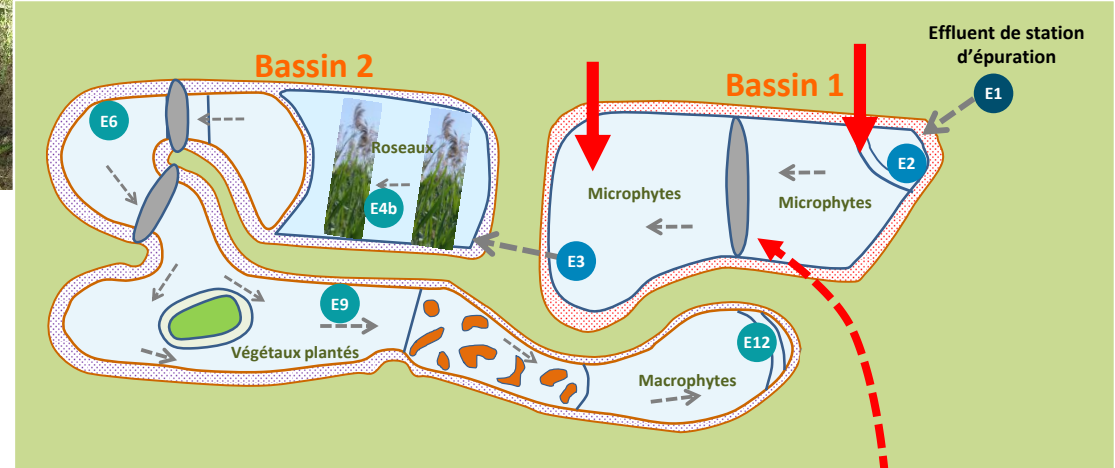
E2 → bassin sédimentation → E3



résultats

# Efficacité de la ZRV

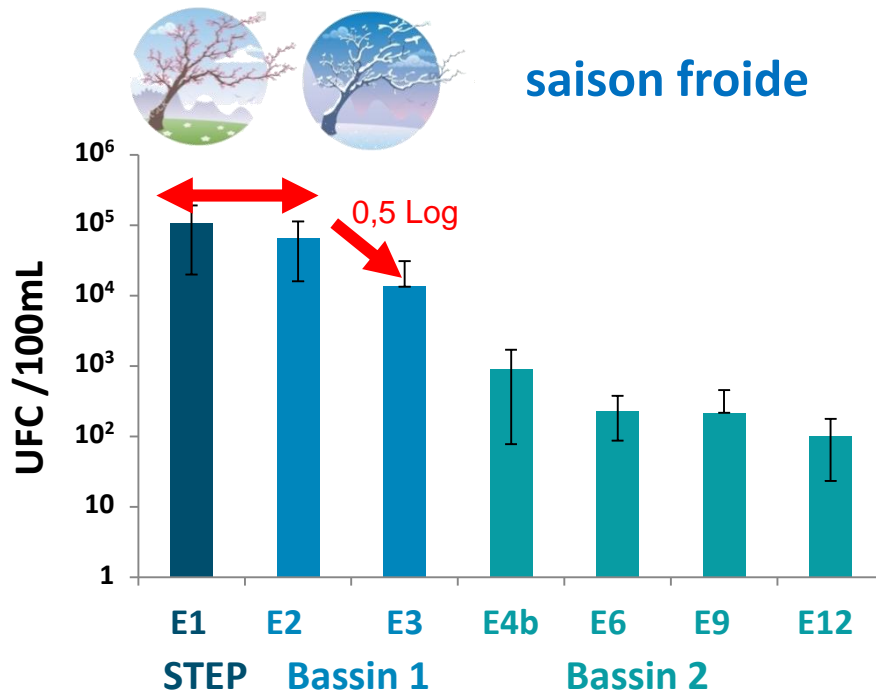
de janvier à avril 2015 et décembre 2015



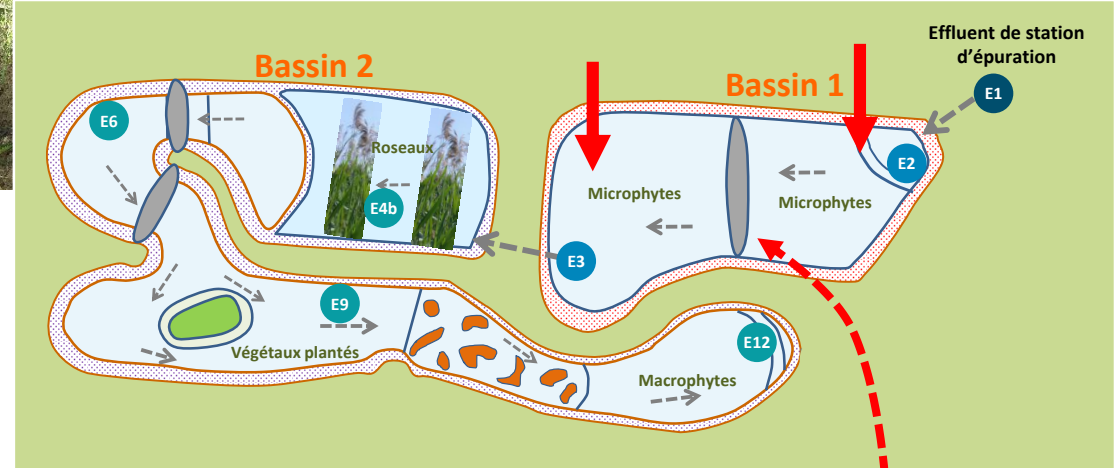
2 zones influencent les teneurs en *E. coli*

**Bassin 1** : 0,5 Log<sub>10</sub> de réduction entre E2 et E3

présence d'une digue de terre (L = 2 m)

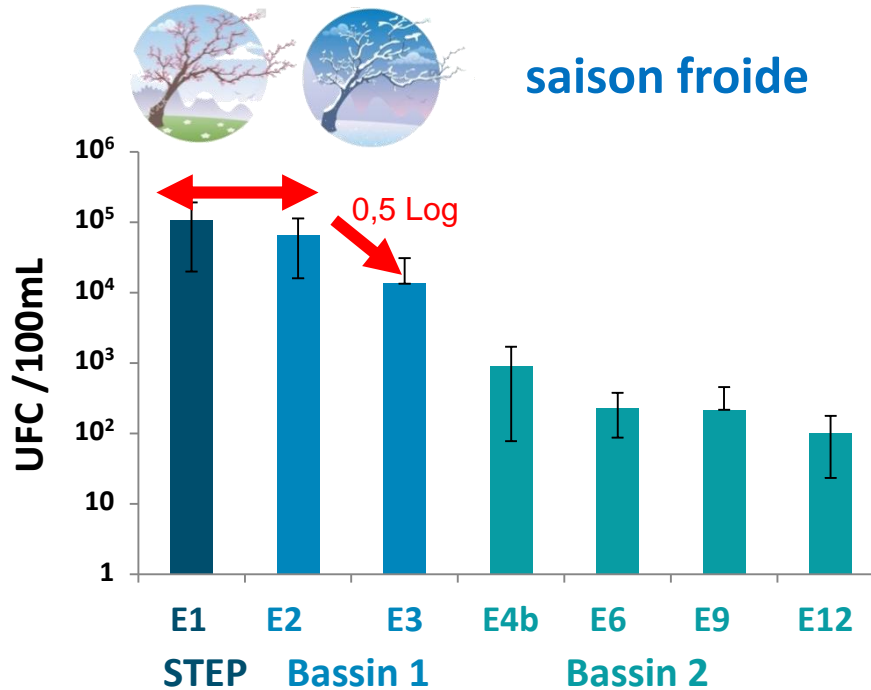


saison froide



# Efficacité de la ZRV

de janvier à avril 2015 et décembre 2015



2 zones influencent les teneurs en *E. coli*

**Bassin 1** : 0,5 Log<sub>10</sub> de réduction entre E2 et E3

présence d'une digue de terre (L = 2 m)

⇒ obstacle physique : crée une lame d'eau de 30 cm

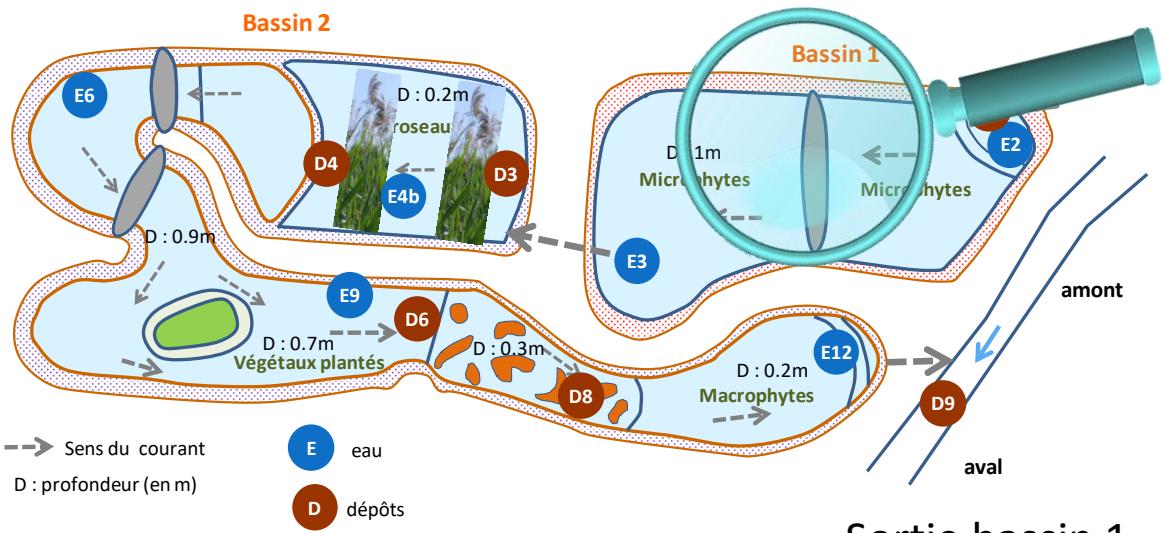
peut accentuer l'accumulation des MES et des bactéries associées à ces matières

intensifie l'impact des UV dans cette zone peu profonde



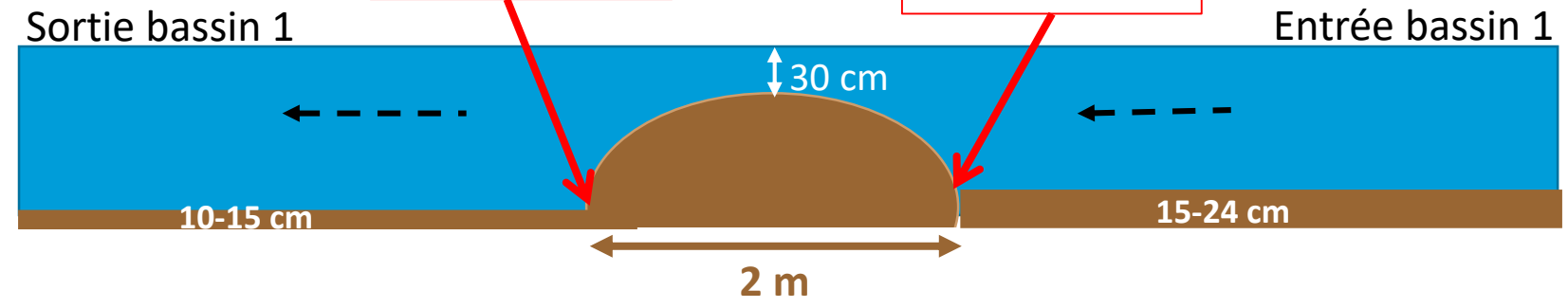
résultats

## Efficacité de la ZRV



**7 10<sup>2</sup>  
UFC/100mL**

**2 10<sup>4</sup>  
UFC/100mL**



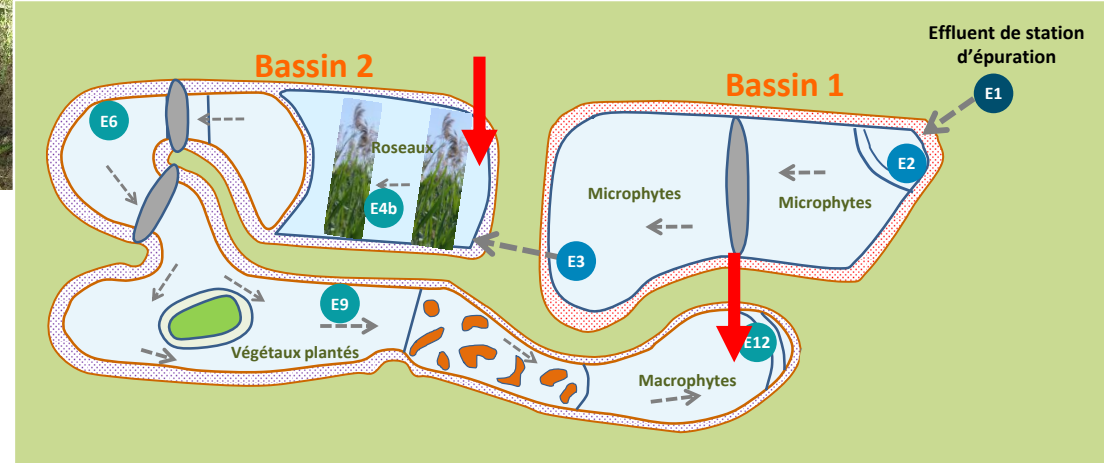
**L'amont de la digue de terre est 30 fois plus contaminé que l'aval**



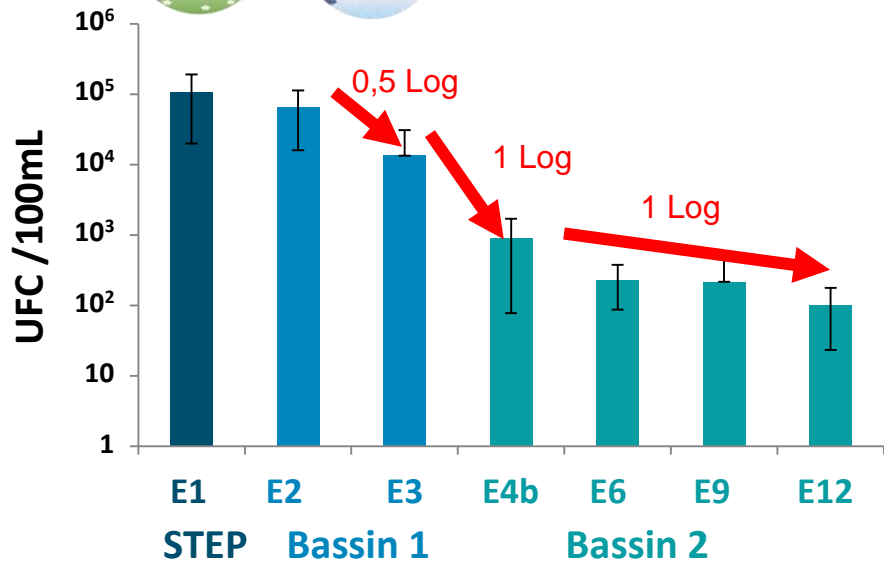
résultats

# Efficacité de la ZRV

de janvier à avril 2015 et décembre 2015



saison froide



2 zones influencent les teneurs en *E. coli*

**Bassin 2 : 2 Log<sub>10</sub> d'abattement**

1 Log<sub>10</sub> dès le passage au travers des roseaux (E4b)

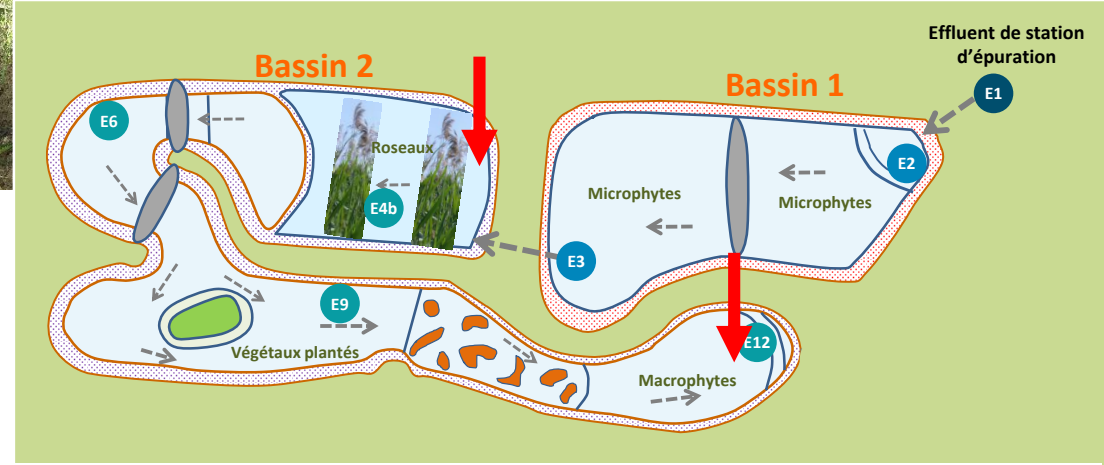




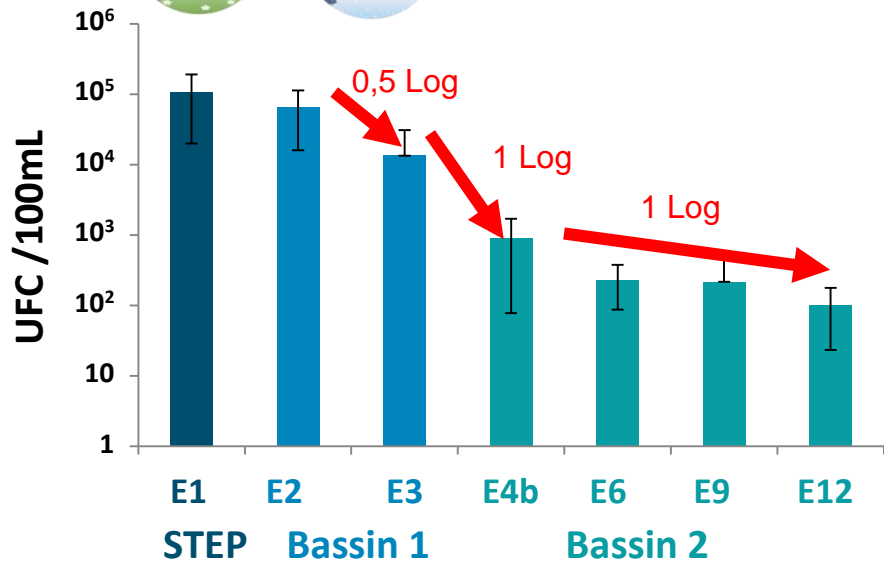
résultats

# Efficacité de la ZRV

de janvier à avril 2015 et décembre 2015



saison froide



2 zones influencent les teneurs en *E. coli*

**Bassin 2** : 2 Log<sub>10</sub> d'abattement

1 Log<sub>10</sub> dès le passage au travers des roseaux (E4b)



©Irstea

Obstacle au déplacement dans la masse d'eau des bactéries ?

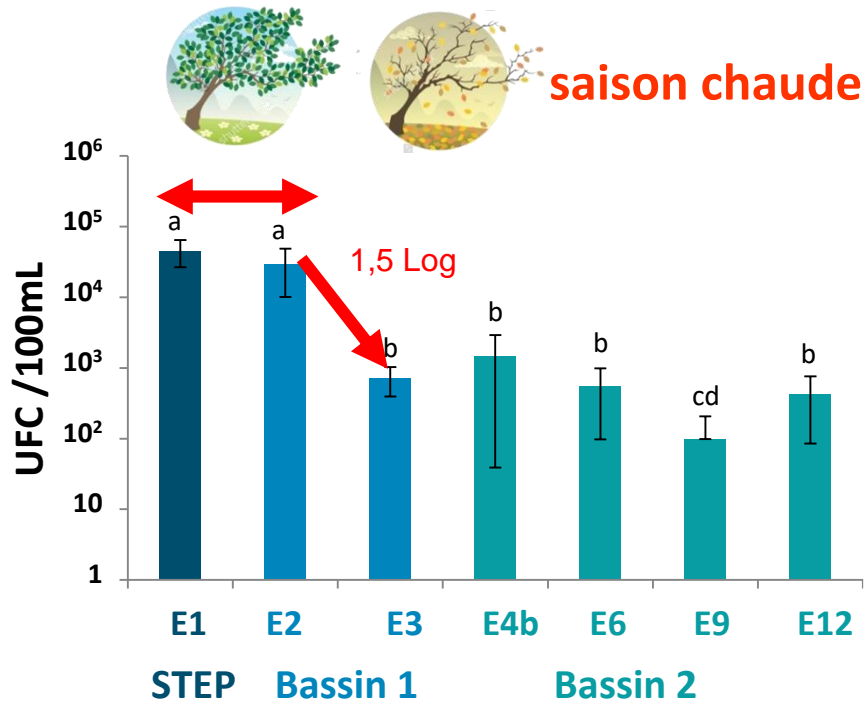
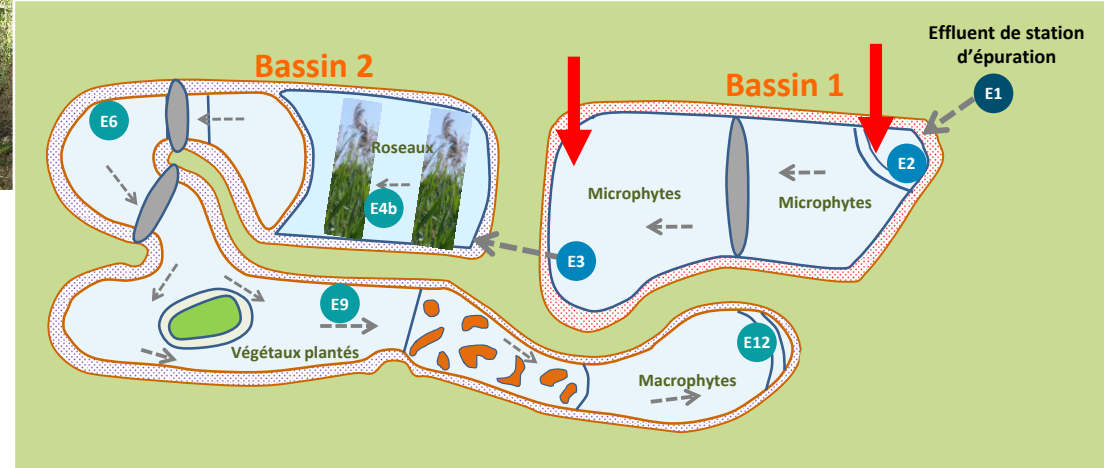
Formation de biofilm sur les parties immergées des plantes ?



résultats

# Efficacité de la ZRV

de mai à novembre 2015



ZRV ⇒ diminution des teneurs en *E. coli* mais non progressive

Abattement entrée (E2) vs sortie (E12) :  $\approx 1,5 \text{ Log}_{10}$

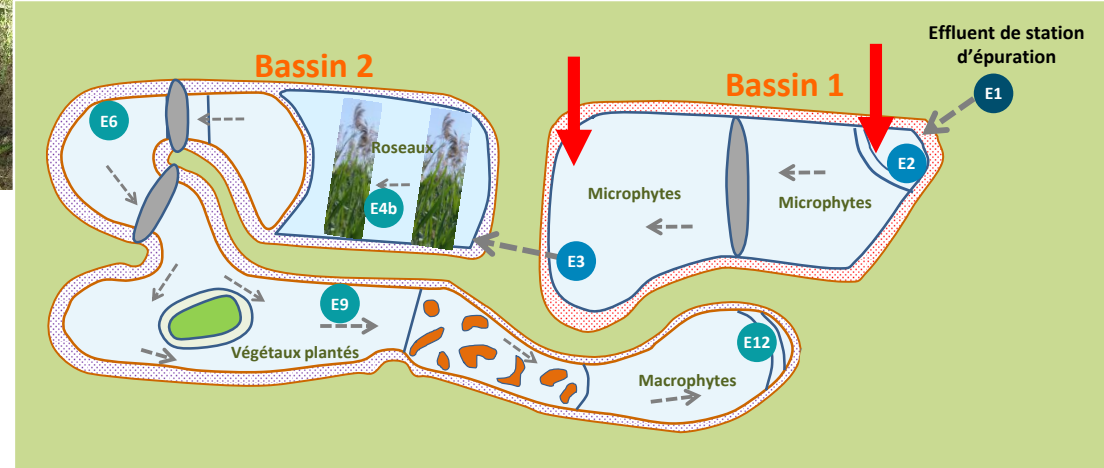
En sortie de la ZRV :  $\approx 4 \cdot 10^2 \text{ E. coli} / 100\text{mL}$



résultats

# Efficacité de la ZRV

de mai à novembre 2015



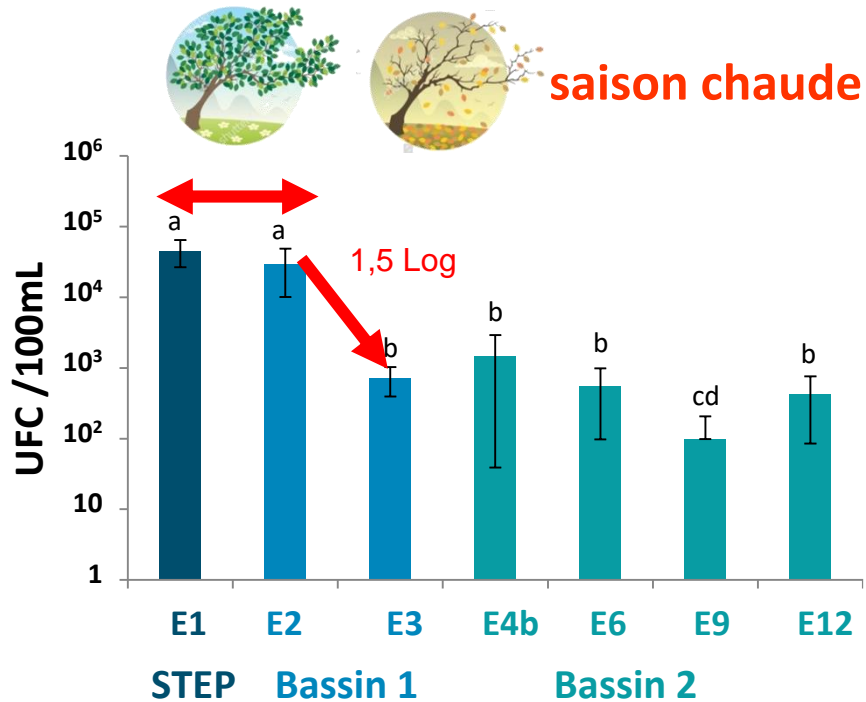
1 zone influence les teneurs en *E. coli*

**Bassin 1** : 1,5 Log de réduction entre E2 et E3

Abattement plus élevé qu'en saison froide

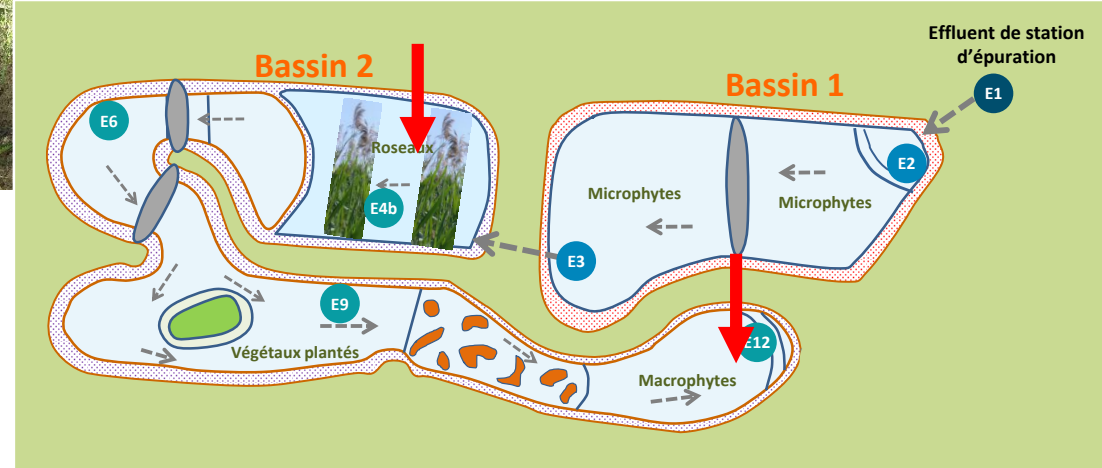
Absence de végétalisation du bassin 1

⇒ eau exposée aux UV dont l'intensité est plus importante en période chaude



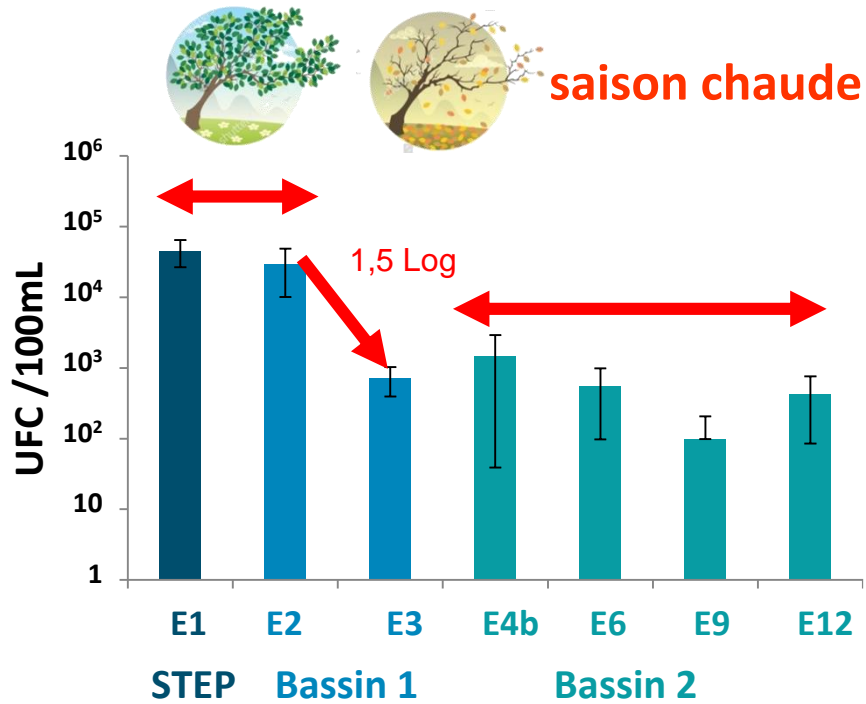
©Irstea





# Efficacité de la ZRV

de mai à novembre 2015



**Bassin 2** : pas de diminution progressive des teneurs en *E. coli*

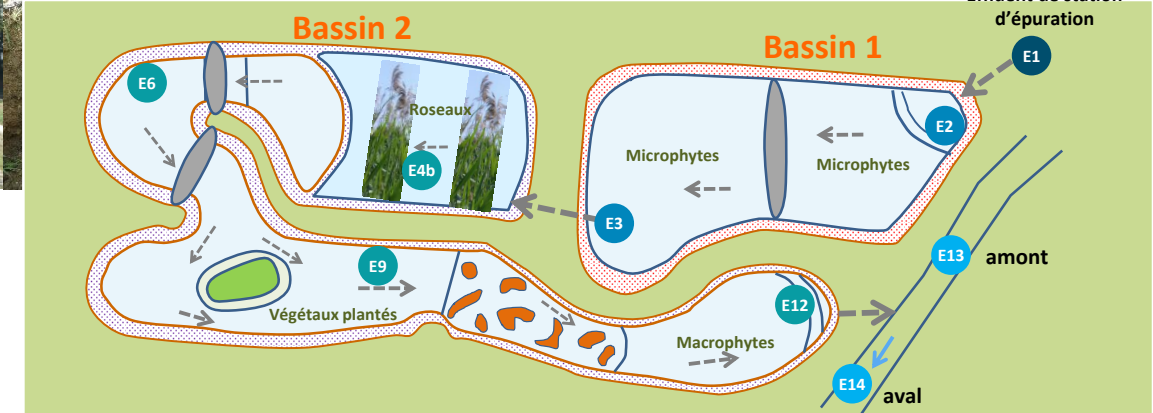
Teneurs en *E. coli* plus élevées dans les espaces végétalisés (roselière au point E4b et macrophytes au point E12).

Effet protecteur des végétaux vis-à-vis des UV ?

Remise en suspension des dépôts par la faune sauvage ?

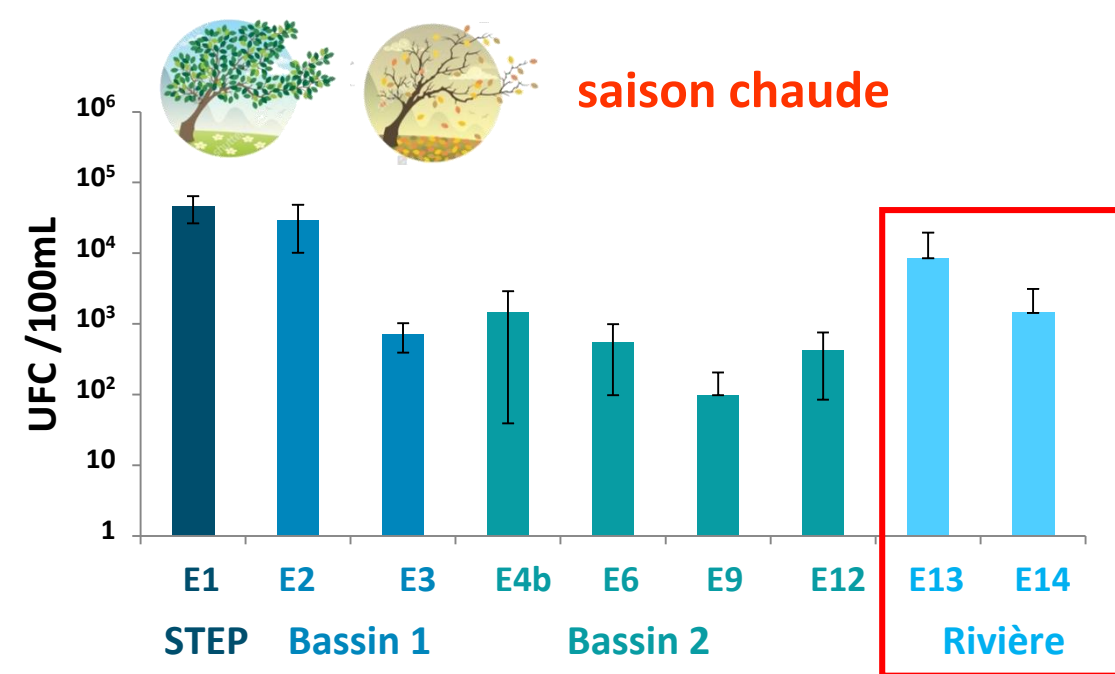
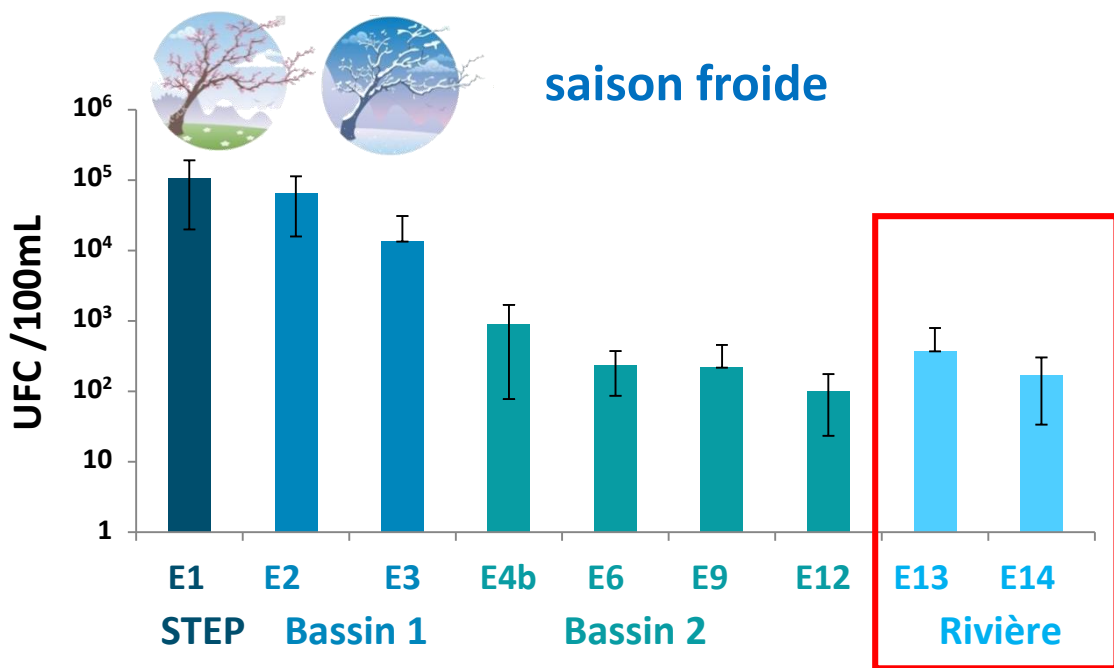


résultats



## Efficacité de la ZRV

*E. coli* dans l'effluent de la ZRV et le milieu récepteur



Teneur en *E. coli* dans le cours d'eau récepteur :

plus élevée en amont (E13) qu'en aval du rejet de la ZRV (E14)



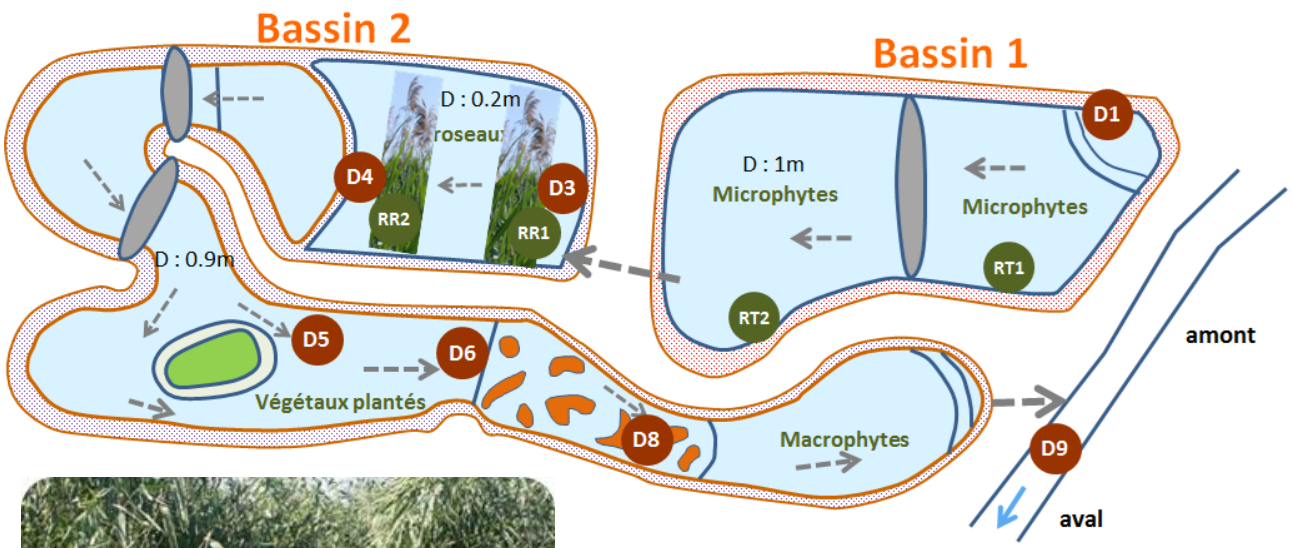
©Irstea



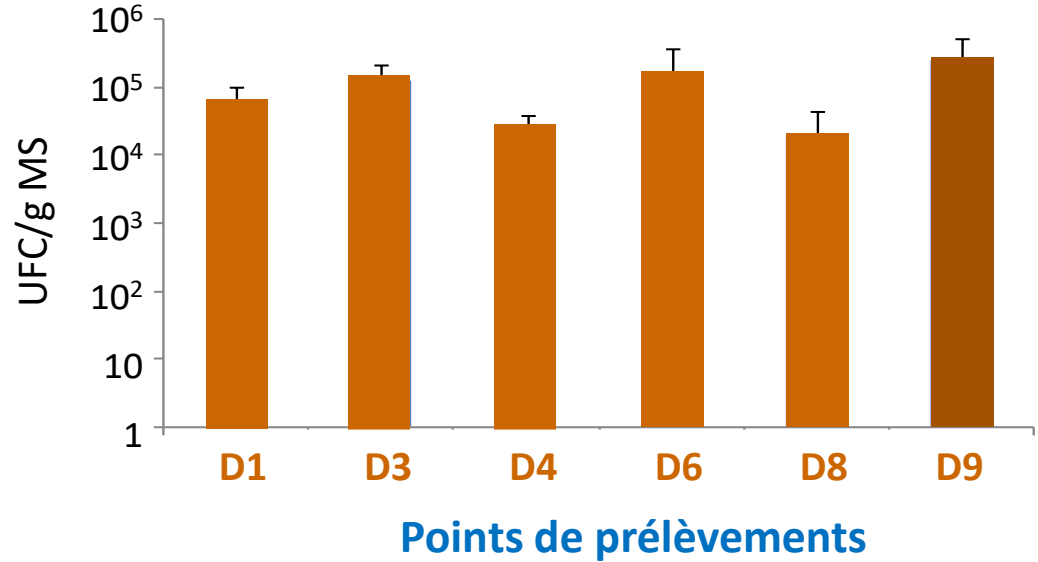
résultats

# Efficacité de la ZRV

*E. coli* dans les dépôts et les racines des végétaux



©Irstea



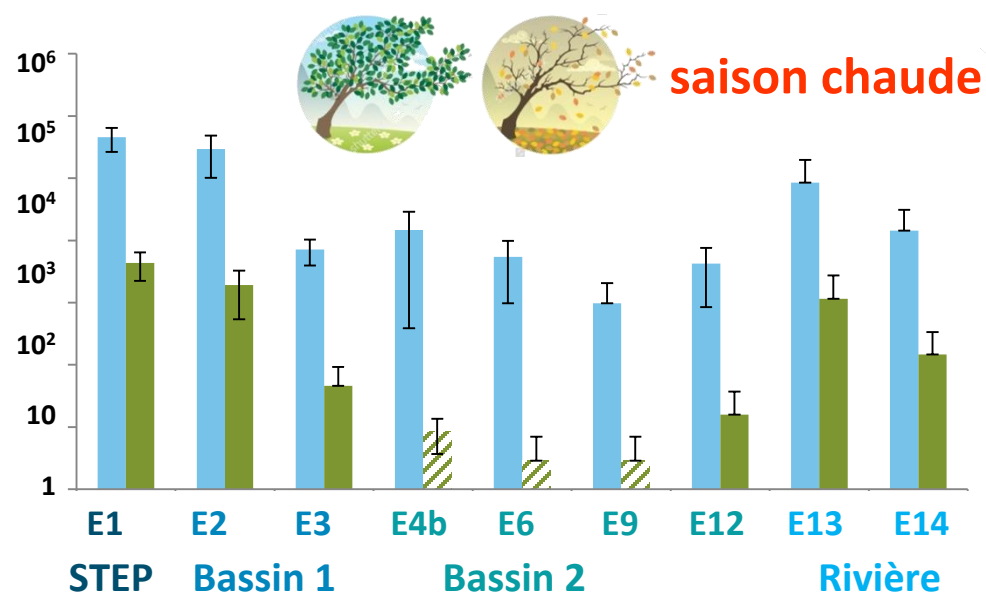
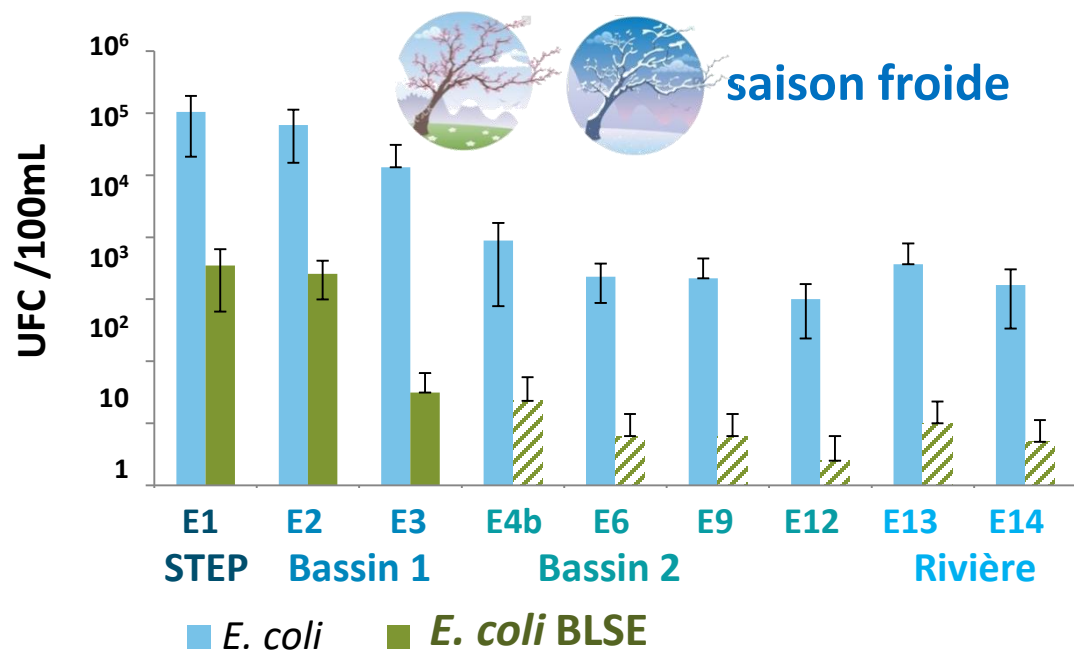
Dépôts : contamination stable  
 ⇒ 10<sup>4</sup> et 10<sup>5</sup> UFC/g MS

Présence de *E. coli* sur les racines des phragmites : 10<sup>3</sup> UFC/g de racine



résultats

## E. coli BLSE



hachures : détectées mais non quantifiées

**E. coli BLSE : détectées dans tous les échantillons**

**1 - 10<sup>3</sup> UFC/100mL**

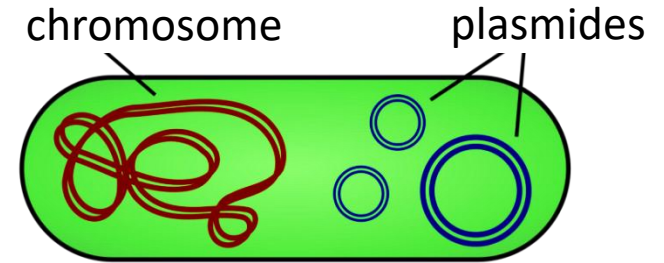
**⇒ 0,1 à 1 % de la population des E. coli**





## Caractérisation de 369 souches de *E. coli* BLSE isolées

- Gènes *bla* portés par les *E. coli* BLSE
- Localisation des gènes ?
- Antibiorésistance
  - 16 antibiotiques testés
  - Déterminer si le profil de résistance des bactéries évolue dans la ZRV
- Diversité génotypique
- Circulation des bactéries





résultats

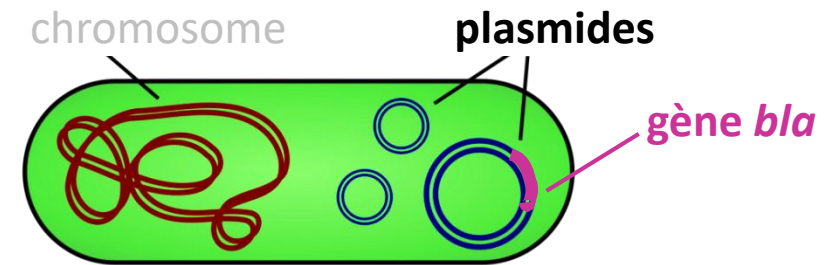
## Caractérisation des *E. coli* BLSE isolées

- Gènes *bla* portés par les *E. coli* BLSE

369 *E. coli* BLSE isolées des eaux



55% ont un portage plasmidique des gènes *bla*



Transfert des gènes de résistance *via* les plasmides dans la ZRV ?

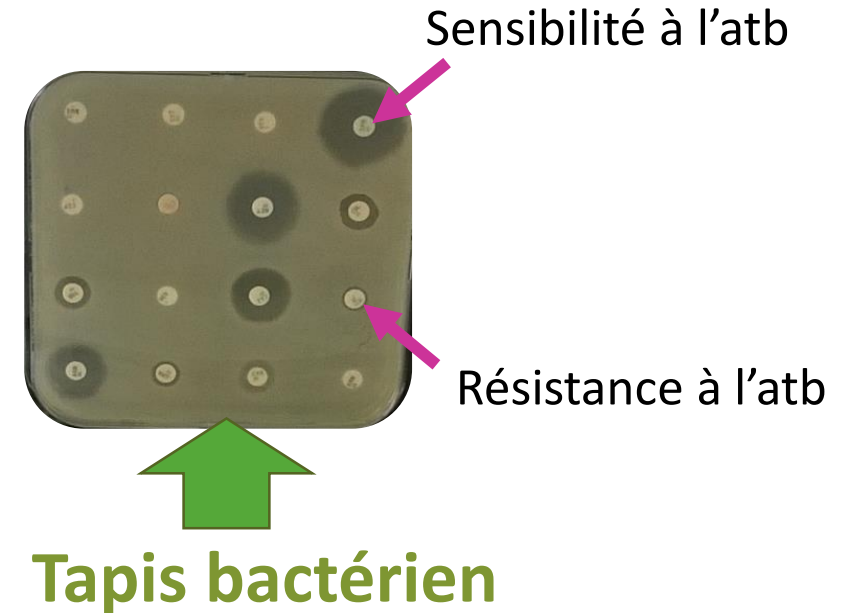
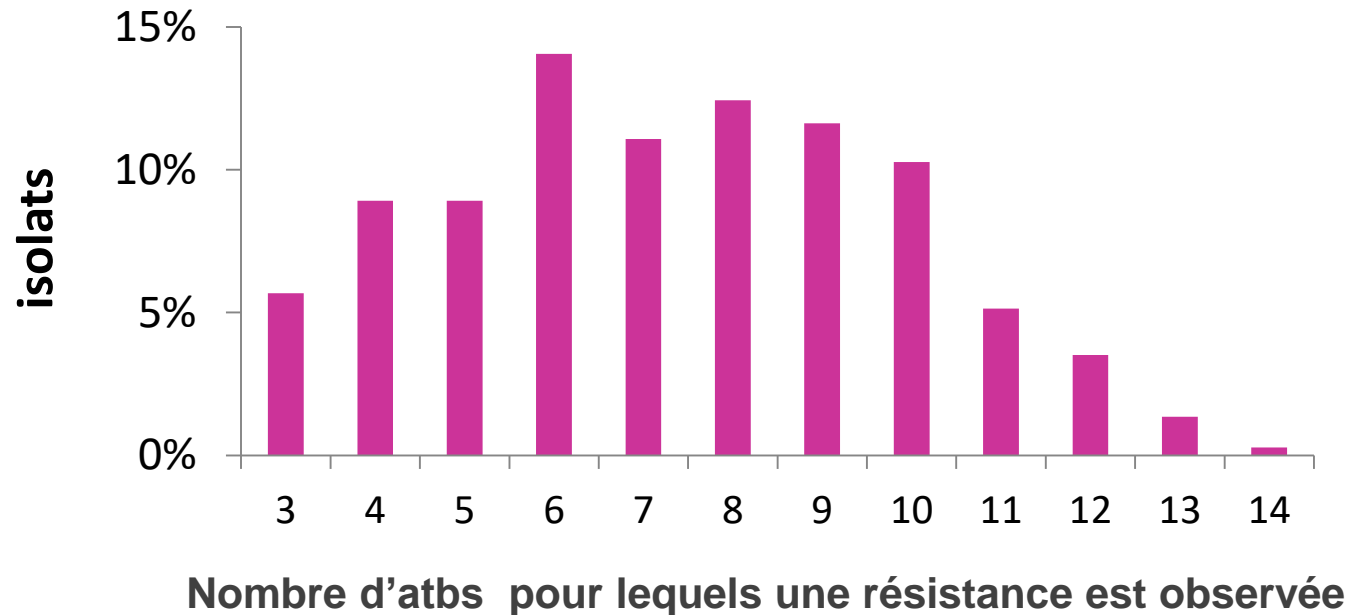


résultats

## Caractérisation des *E. coli* BLSE isolées

- Spectre de résistance :

16 antibiotiques testés par la méthode de diffusion en milieu gélosé

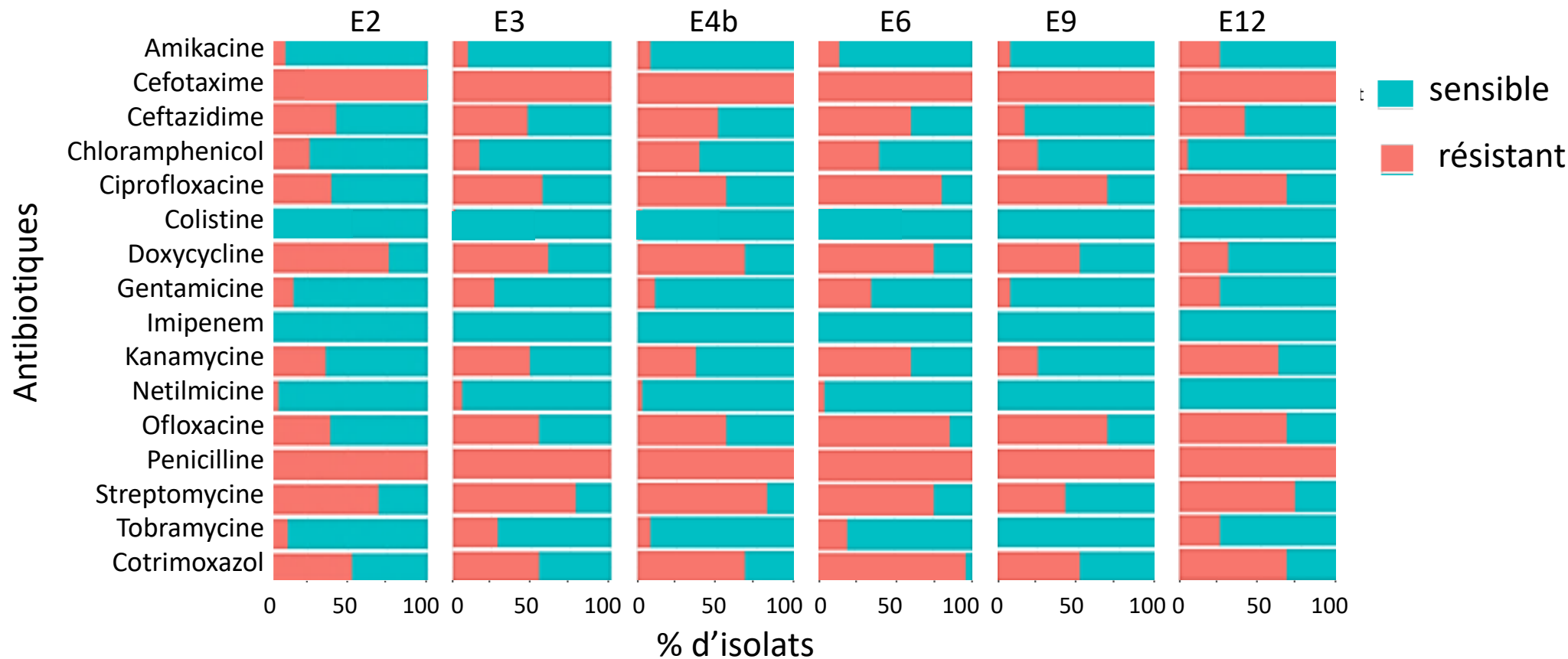
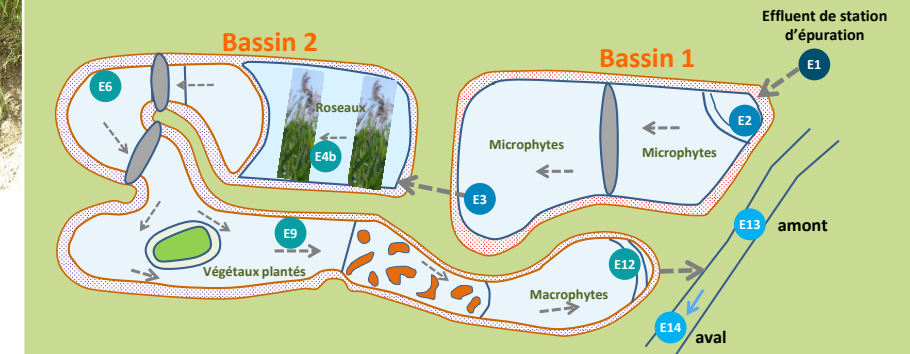


**93% des *E. coli* BLSE ⇒ multi-résistantes aux atbs**



résultats

# Distribution des profils de résistance des *E. coli* BLSE



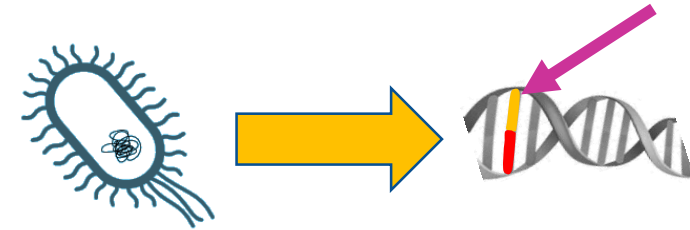
⇒ le passage des *E. coli* au travers de la ZRV ne modifie pas leur résistance



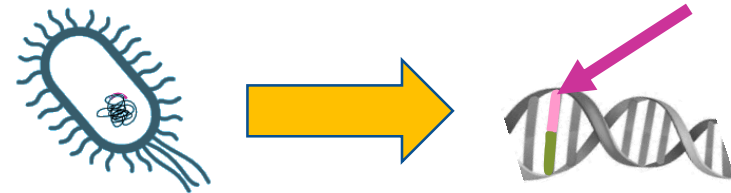


## Répartition des souches dans la ZRV

- Génotypage de 78 *E. coli* BLSE
  - 44 : eau
  - 16 : **dépôts**
  - 8 : **racines de végétaux**
  - 10 : **fèces de ragondins**



*E. coli* BLSE, génotype A



*E. coli* BLSE, génotype B

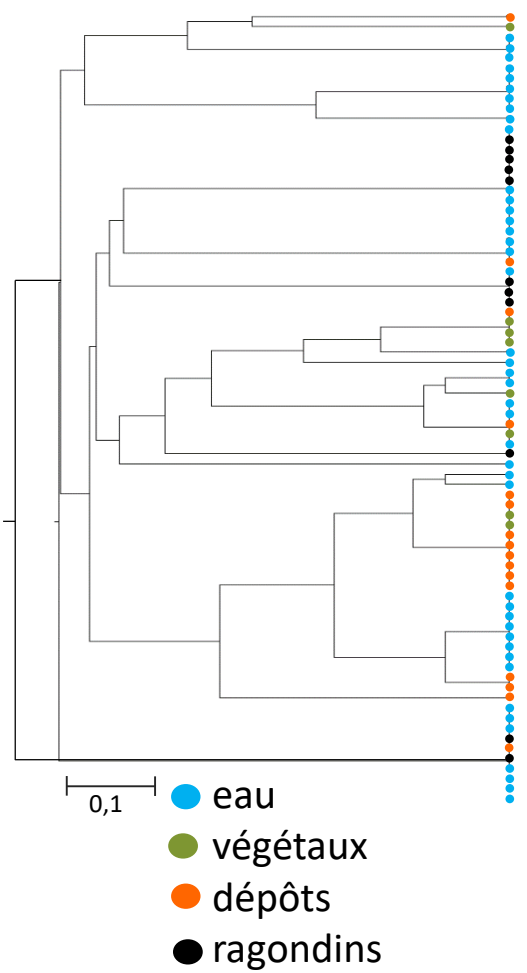
Typage MLST (multilocus sequence typing)

Profils ST analysés par une classification ascendante hiérarchique



résultats

# Répartition dans les compartiments de la ZRV (eaux, dépôts, végétaux, fèces de ragondins)

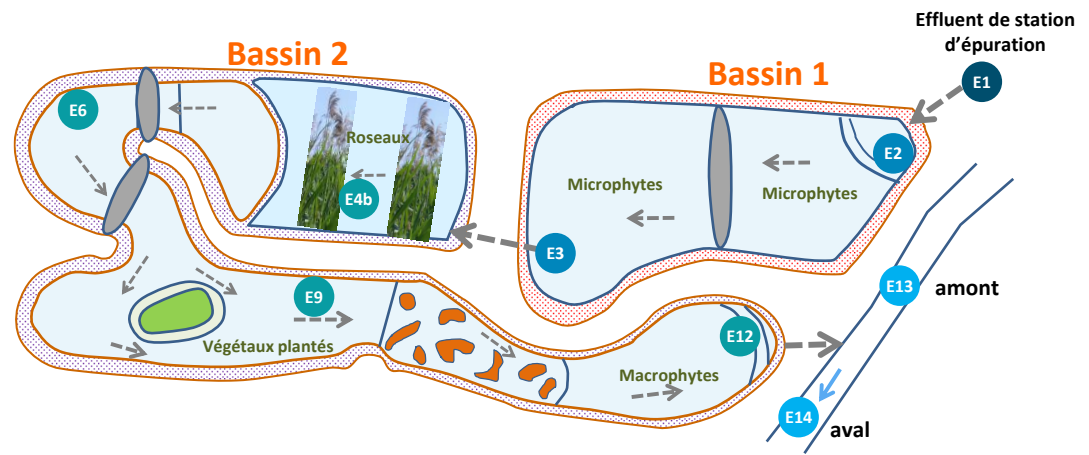
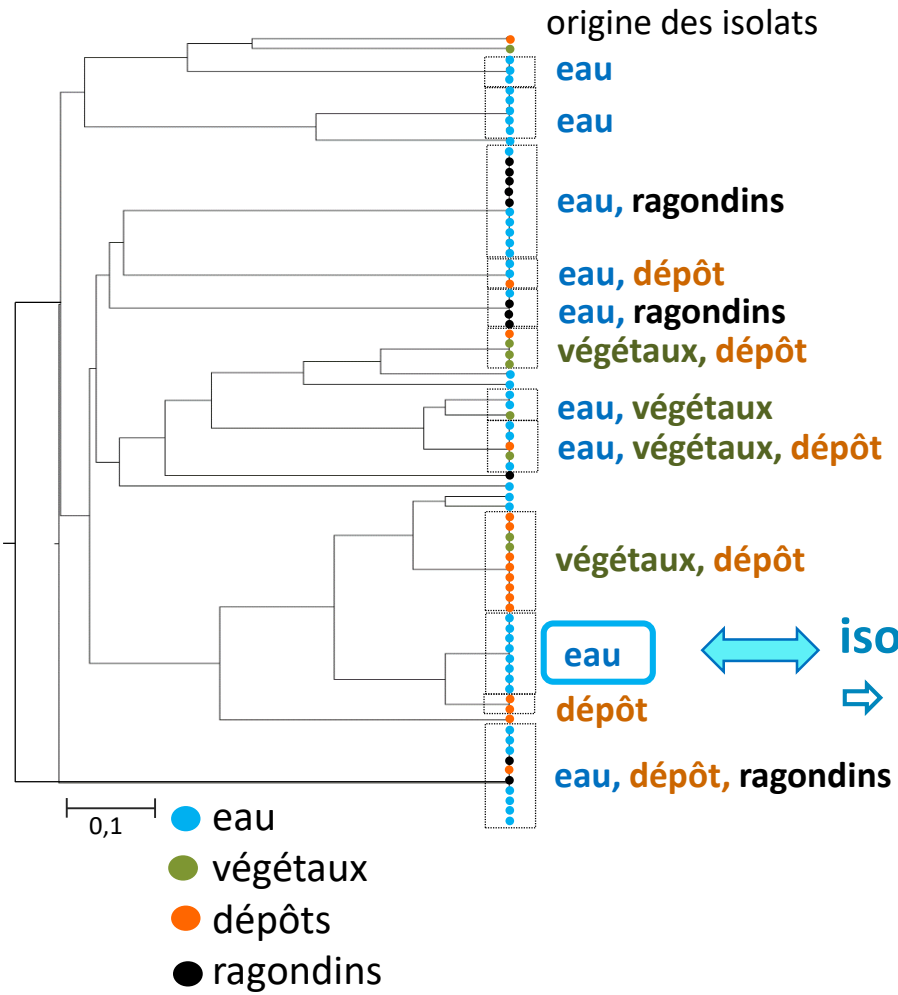




résultats

# Répartition dans les compartiments de la ZRV (eaux, dépôts, végétaux, fèces de ragondins)

## 12 profils génotypiques



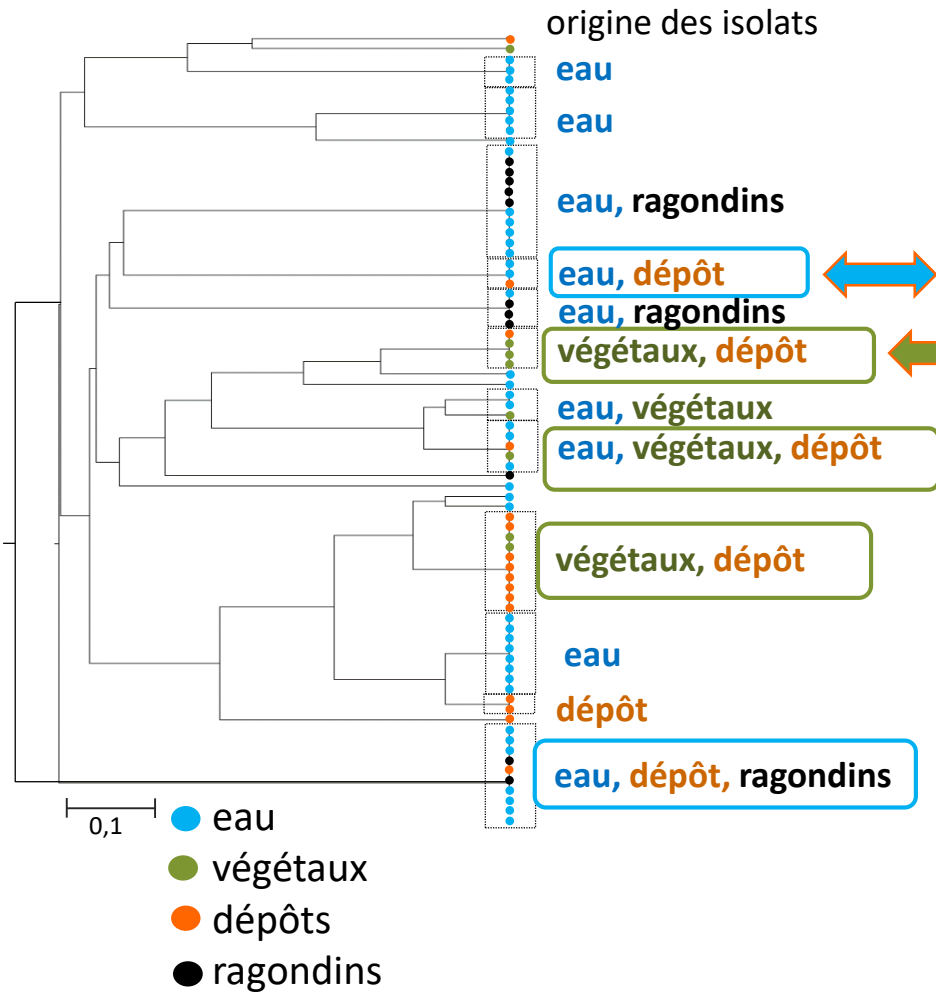
eau ↔ isolats présents dans l'eau des 2 bassins  
 ⇒ circulation des *E. coli* BLSE le long de la ZRV



résultats

# Répartition dans les compartiments de la ZRV (eaux, dépôts, végétaux, fèces de ragondins)

12 profils génotypiques  
7 sont communs à 2 ou 3 compartiments



Profils d'isolats communs eau / dépôts ⇒ transfert vers les dépôts

Profils d'isolats communs végétaux / dépôts



©Irstea

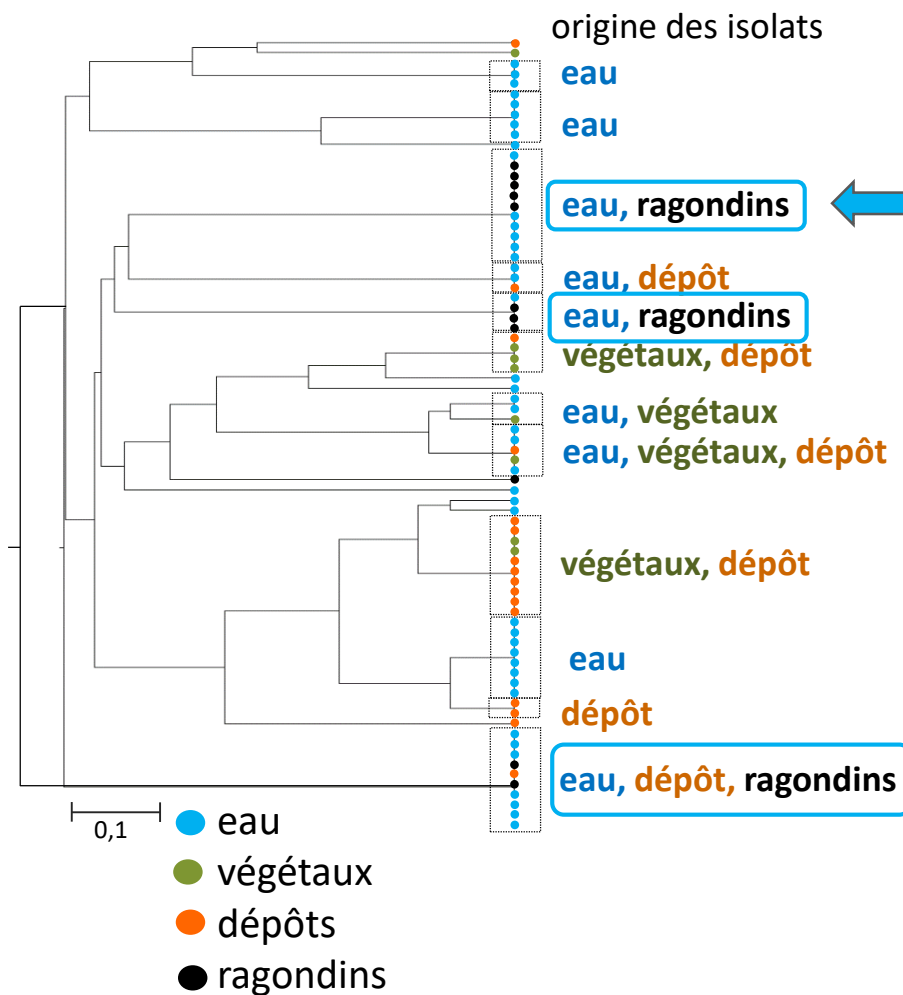


résultats

## Répartition dans les compartiments de la ZRV (eaux, dépôts, végétaux, fèces de ragondins)

12 profils génotypiques

7 sont communs à 2 ou 3 compartiments



Profils communs d'isolats issus de l'eau et des fèces de ragondin  
 ⇒ circulation *via* les animaux





## Conclusion (1)



- ZRV de Marguerittes  $\Rightarrow$  abattement d'un facteur 100 à 1 000 des teneurs en *E. coli*
- Effet saison  $\Rightarrow$  élimination de *E. coli* plus importante en hiver qu'en été
- Bassin B1 et roselière du bassin 2  $\Rightarrow$  principaux éléments impactant le devenir des *E. coli*
- Le rejet contribue à améliorer la qualité sanitaire du milieu récepteur



$\Rightarrow$  90 % des bilans 24h montrent une réduction de 1 à 3  $\text{Log}_{10}$  des *E. coli* après passage en ZRV



- Transfert d'une partie des bactéries dans les dépôts
- Digue surélevée du bassin 1 joue un rôle dans la diminution des teneurs en *E. coli*



- Transfert d'une partie des bactéries vers la rhizosphère
- Végétation impacte le devenir des bactéries mais l'impact diffère selon la saison



## Conclusion (2)

*E. coli* BLSE de la ZRV : multirésistantes aux antibiotiques



Antibiorésistance des isolats n'augmente pas le long de la ZRV

Génotypage ⇒ circulation des *E. coli* BLSE entre les différents compartiments de la ZRV (eau, dépôt, végétation) et la faune sauvage (ragondin)

☹ La persistance de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les dépôts pourrait favoriser l'antibiorésistance des bactéries environnementales.

☺ ZRV : élimine une partie des *E. coli* BLSE



# Merci de votre attention



Merci à l'équipe de Lyon et à Anne-Laure Vivant