



HAL
open science

Présentation du projet ANTIBIO-TOOLS

Chloé Bonnineau, Agnes Bouchez, J. Labanowski, Christophe Dagot, Fabrice
Martin-Laurent

► **To cite this version:**

Chloé Bonnineau, Agnes Bouchez, J. Labanowski, Christophe Dagot, Fabrice Martin-Laurent. Présentation du projet ANTIBIO-TOOLS. 2018. hal-03788451

HAL Id: hal-03788451

<https://hal.inrae.fr/hal-03788451>

Submitted on 26 Sep 2022

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.

ANTIBIO-TOOLS

Chloé Bonnineau, UR RiverLy, Irstea

Agnès Bouchez, UMR CARRTEL, INRA

Jerôme Labanowski, UMR 7285, Université de Poitiers

Christophe Dagot, UMR Inserm 1092, Université de Limoges

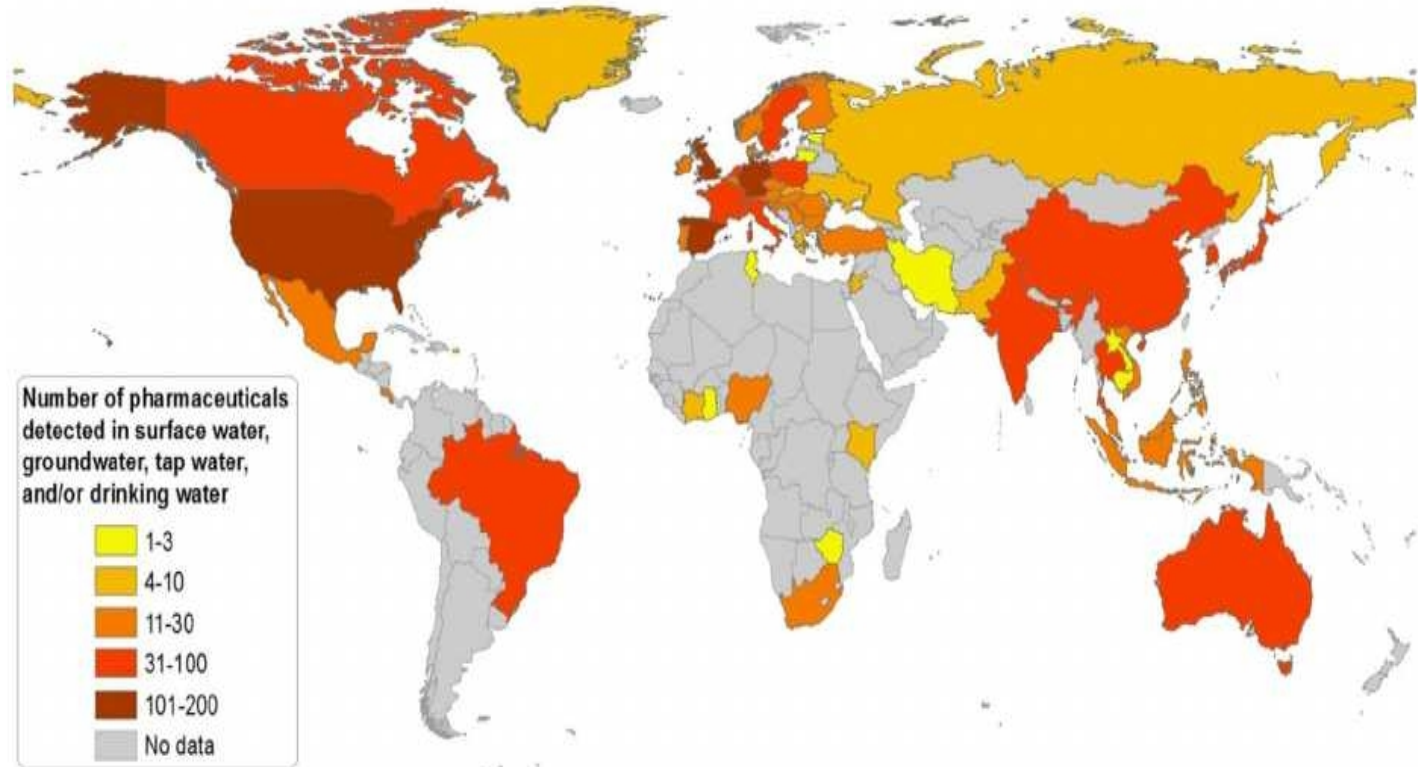
Fabrice Martin-Laurent, UMR Agroécologie, INRA

Sommaire

1. Contexte – *Antibiotiques et antibiorésistances dans l'environnement*
2. Objectifs du projet ANTIBIO-TOOLS
3. Mise en œuvre du projet ANTIBIO-TOOLS
4. Répartition des tâches entre les partenaires
5. Calendrier
6. Résultats attendus et livrables
7. Retombées en santé-environnement - santé-travail

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

Les antibiotiques couramment retrouvés dans les eaux de surface

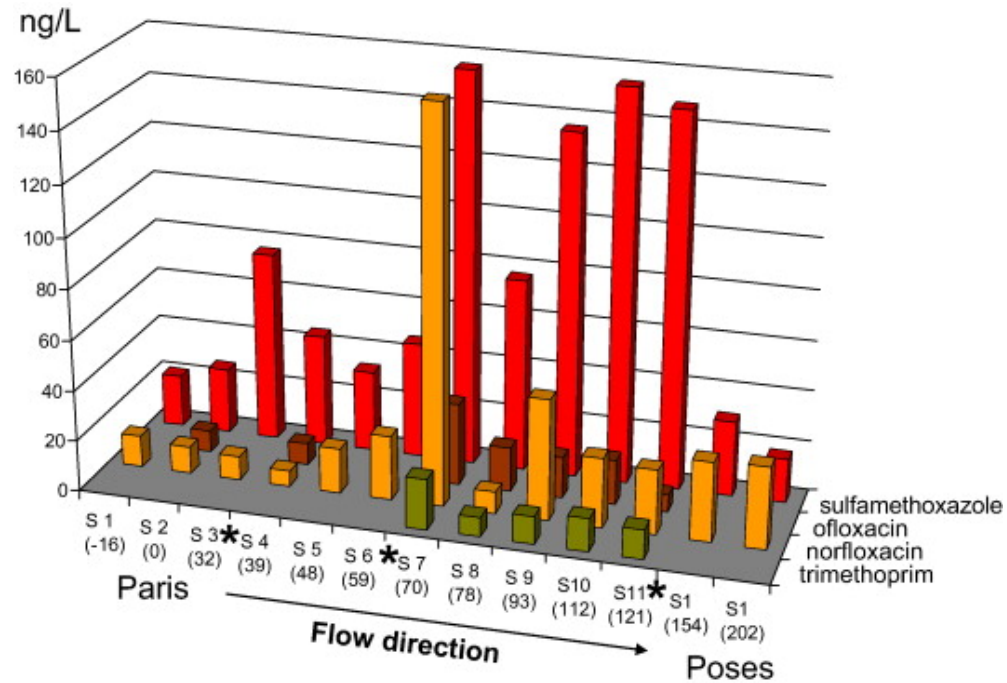


Nombre de médicaments détectés dans les eaux de surface, souterraine et potable

aus der Beek, T., Weber, F.-A., Bergmann, A., Hickmann, S., Ebert, I., Hein, A., Küster, A., 2016. Pharmaceuticals in the environment—Global occurrences and perspectives. ETC 35, 823–835

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

Les antibiotiques couramment retrouvés dans les eaux de surface



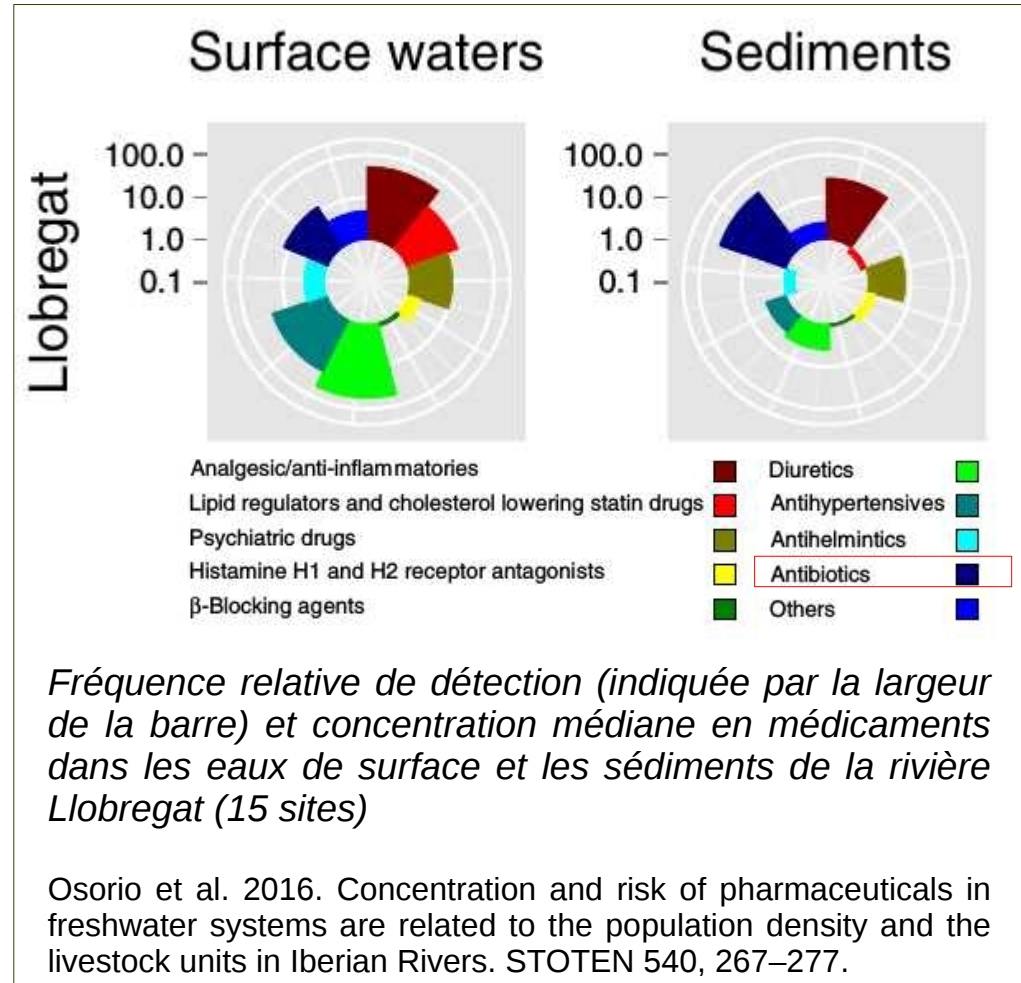
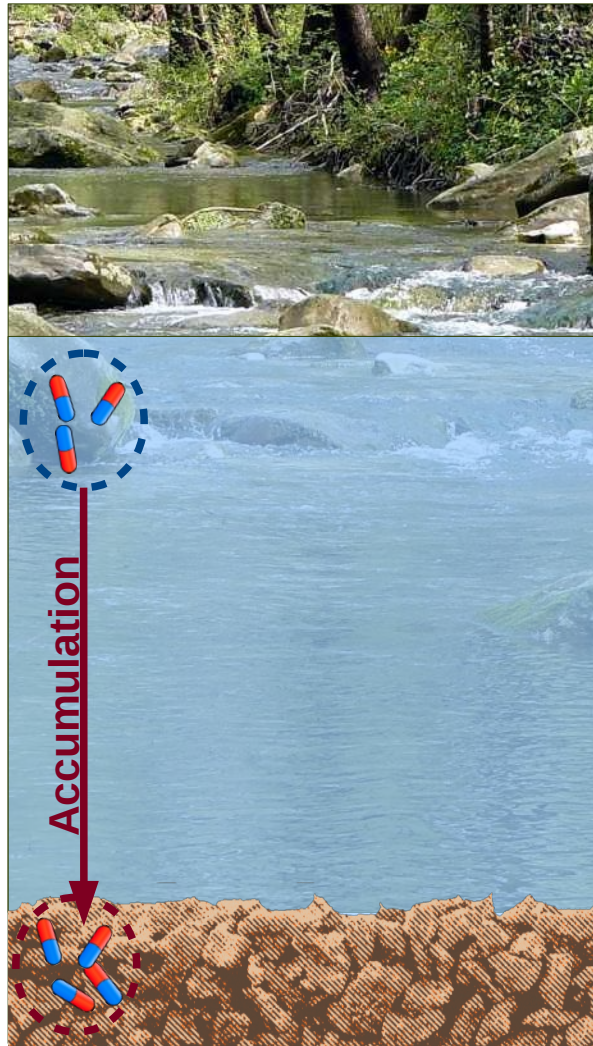
*Concentrations en trimethoprim, sulfamethoxazole, norfloxacin, et ofloxacin dans l'eau de surface de la Seine (campagne d'Août 2006). * indique le rejet de STEU*

Dinh et al. 2017. Occurrence of antibiotics in rural catchments. Chemosphere 168, 483–490.

Apport continu d'antibiotiques et résidus médicamenteux notamment via les stations de traitement des eaux usées (STEU) => [médicaments] ≈ 1- 100 ng/L dans les cours d'eau

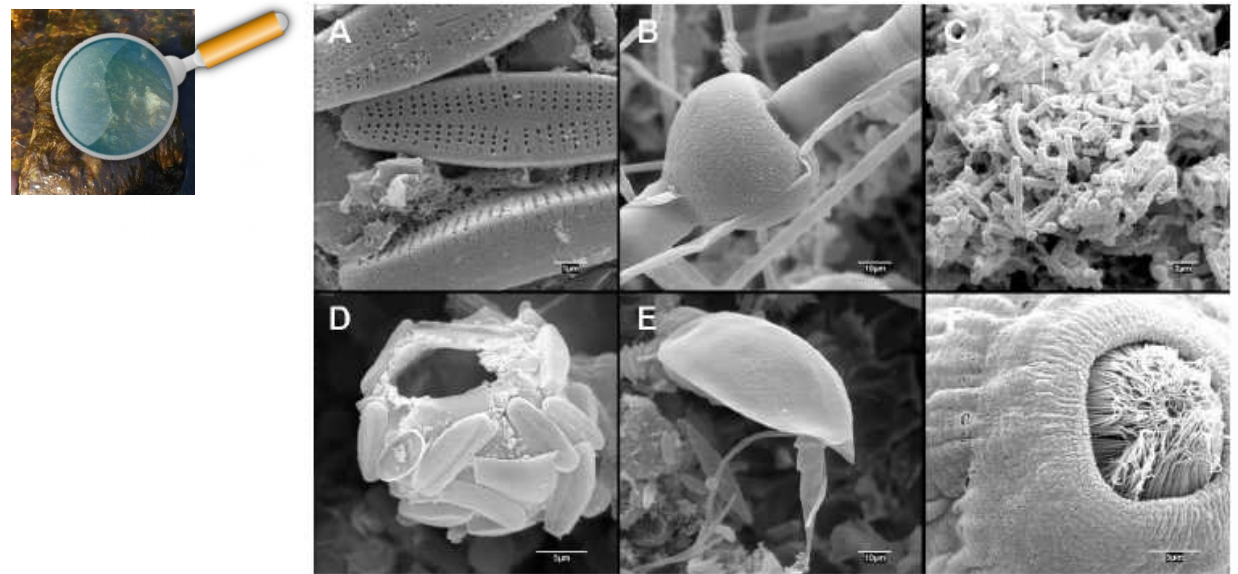
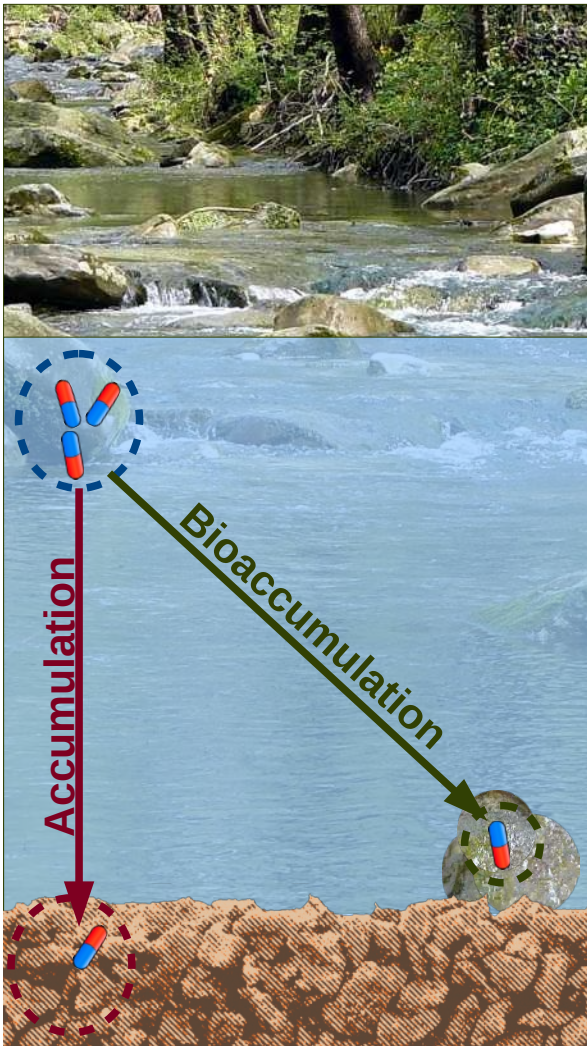
1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

Des antibiotiques dans tous les compartiments des milieux aquatiques



1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

Bioaccumulation dans les communautés microbiennes benthiques



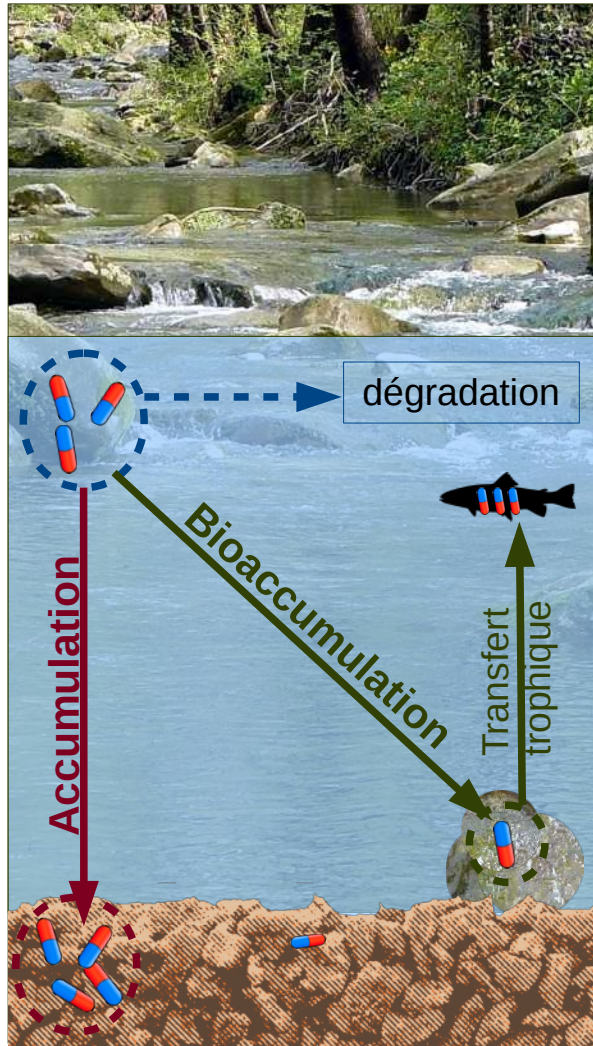
A. Diatomées. B. Algue filamenteuse. C. Aggrégats de bactéries. D. Protozoaire. E. Rotifère. F. Protozoaire. Photos réalisées au microscope électronique à balayage.

Thèse doctorale d'I. Ylla 2017

- Producteurs primaires, à la base de la chaîne trophique
- Rôle dans les cycles biogéochimiques : C, N, P
- Indicateurs de pollution

- Bioaccumulation dans les biofilms :
jusqu'à **15 ng de sulfaméthoxazole /g de biofilm** dans des canaux expérimentaux exposés à des concentrations environnementales d'un mélange de médicaments (Corcoll et al. 2015. *Effects of flow intermittency and pharmaceutical exposure on the structure and metabolism of stream biofilms*. STOTEN 503–504, 159–170)

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques



Devenir et dynamique des antibiotiques et résidus médicamenteux dans les différents compartiments ?

1. Eaux de surface

- Effet de dilution
- Photodégradation possible

2. Communautés microbiennes

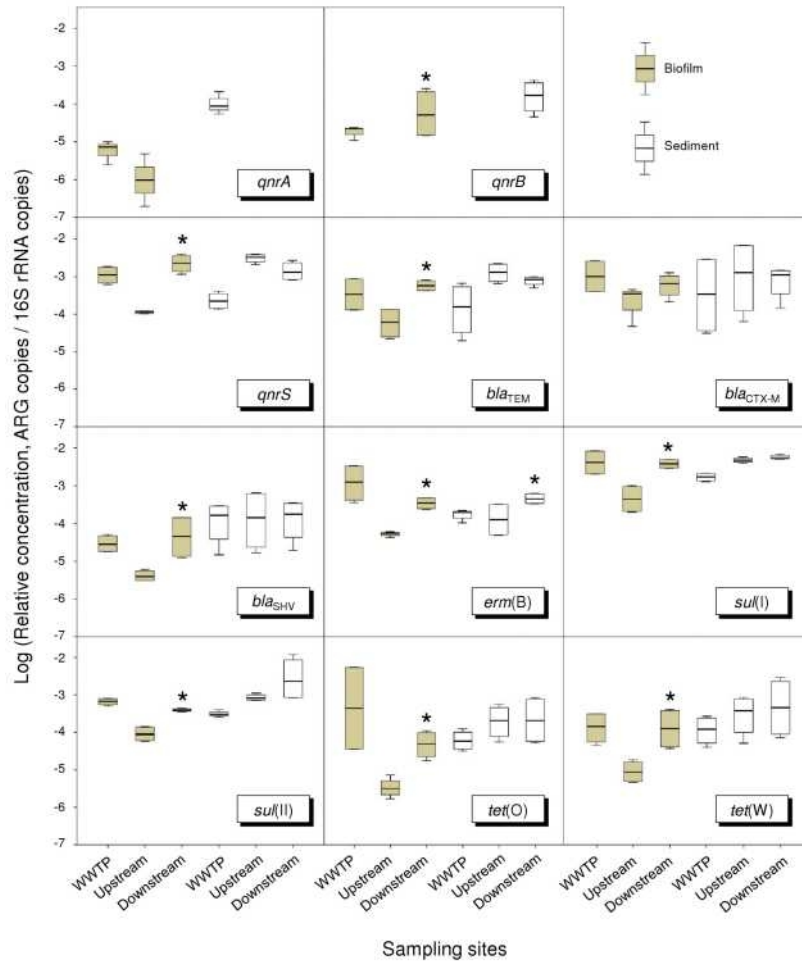
- Transformation / **biodégradation** ?
- **Bioaccumulation**
- Transfert trophique

3. Sédiments

- Transformation / **biodégradation** ?
- **Réservoir**
- Remobilisation ponctuelle

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

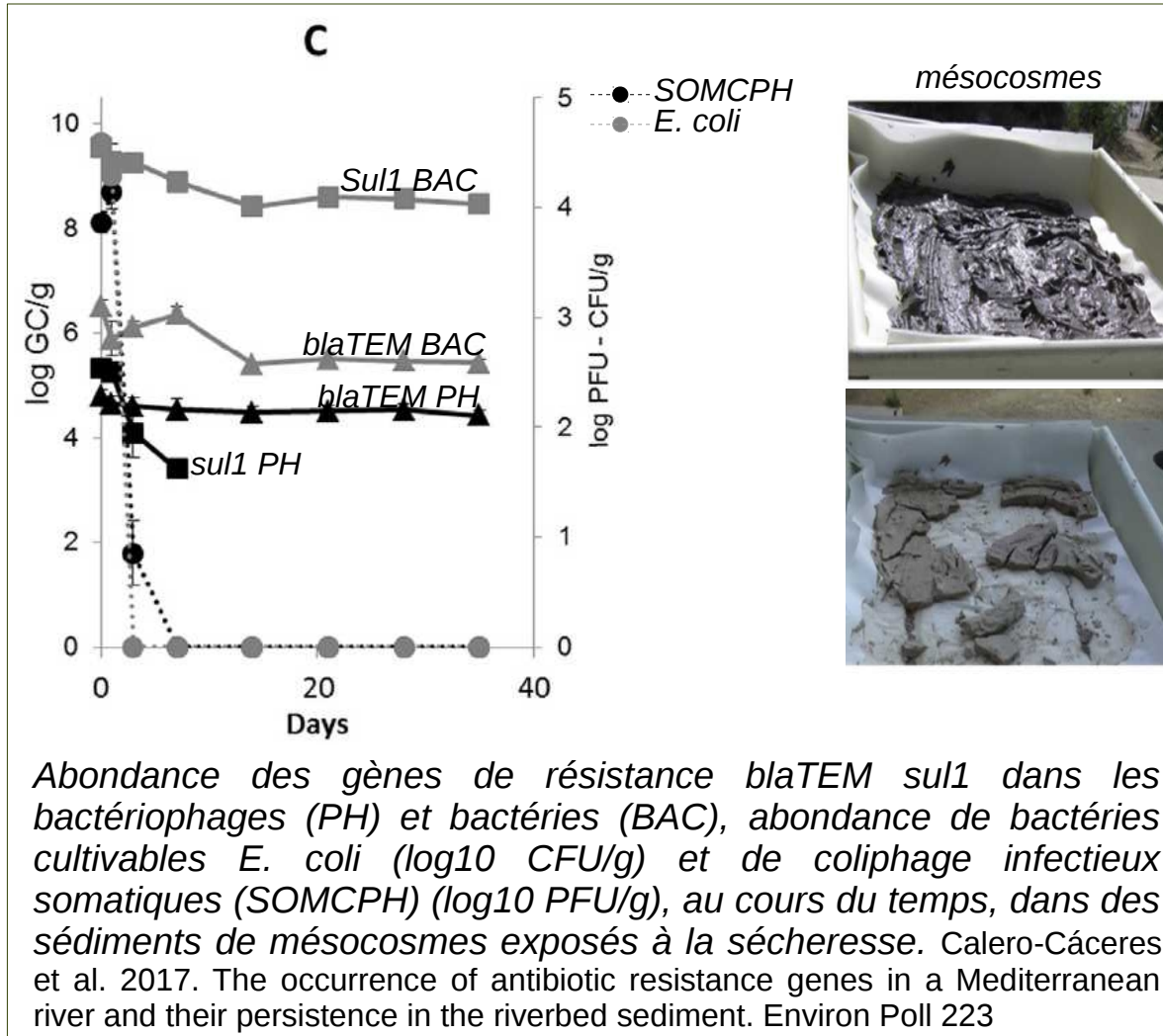
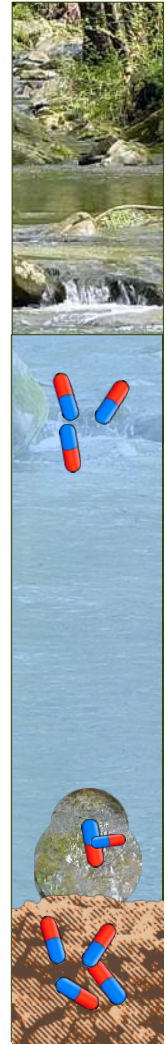


Concentration relative de différents gènes de résistance aux antibiotiques détectés dans des biofilms et dans les sédiments de la rivière Ter. Marti et al. 2013. Prevalence of Antibiotic Resistance Genes and Bacterial Community Composition in a River Influenced by a Wastewater Treatment Plant. PLOS ONE 8, 10

- Gènes de résistance aux antibiotiques dans les biofilms et les sédiments
- Augmentation des niveaux de gènes de résistance aux antibiotiques en aval des STEU
- Différents facteurs peuvent expliquer l'apparition et la persistance de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement :
 - Exposition aux antibiotiques
 - Rejet de bactéries résistantes aux antibiotiques par les STEU
 - Présence de métaux
 - ...

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

La résistance aux antibiotiques dans l'environnement



Persistance des gènes de résistance aux antibiotiques dans les sédiments

=> Quel impact sur la résistance "réelle" des communautés microbiennes aux antibiotiques ?

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Quels outils pour détecter la résistance aux antibiotiques dans les milieux aquatiques ?

1. Abondance des gènes de résistance spécifiques
2. Isolement de souches cultivables résistantes
3. Abondance des intégrons
4. Mesure de l'acquisition de tolérance aux antibiotiques
5. Mesure du potentiel de biodégradation des antibiotiques



1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Quels outils pour détecter la résistance aux antibiotiques dans les milieux aquatiques ?

Abondance des intégrons

- Intégron = élément **mobile** génétique impliqués dans la résistance des bactéries à Gram négatif, véhiculant des **cassettes de gènes de résistance**
- Lien avéré entre **présence d'intégrons et multi-résistances aux antibiotiques** - Stalder et al. 2014. Quantitative and qualitative impact of hospital effluent on dissemination of the integron pool. ISME Journal 8, 768–777.

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

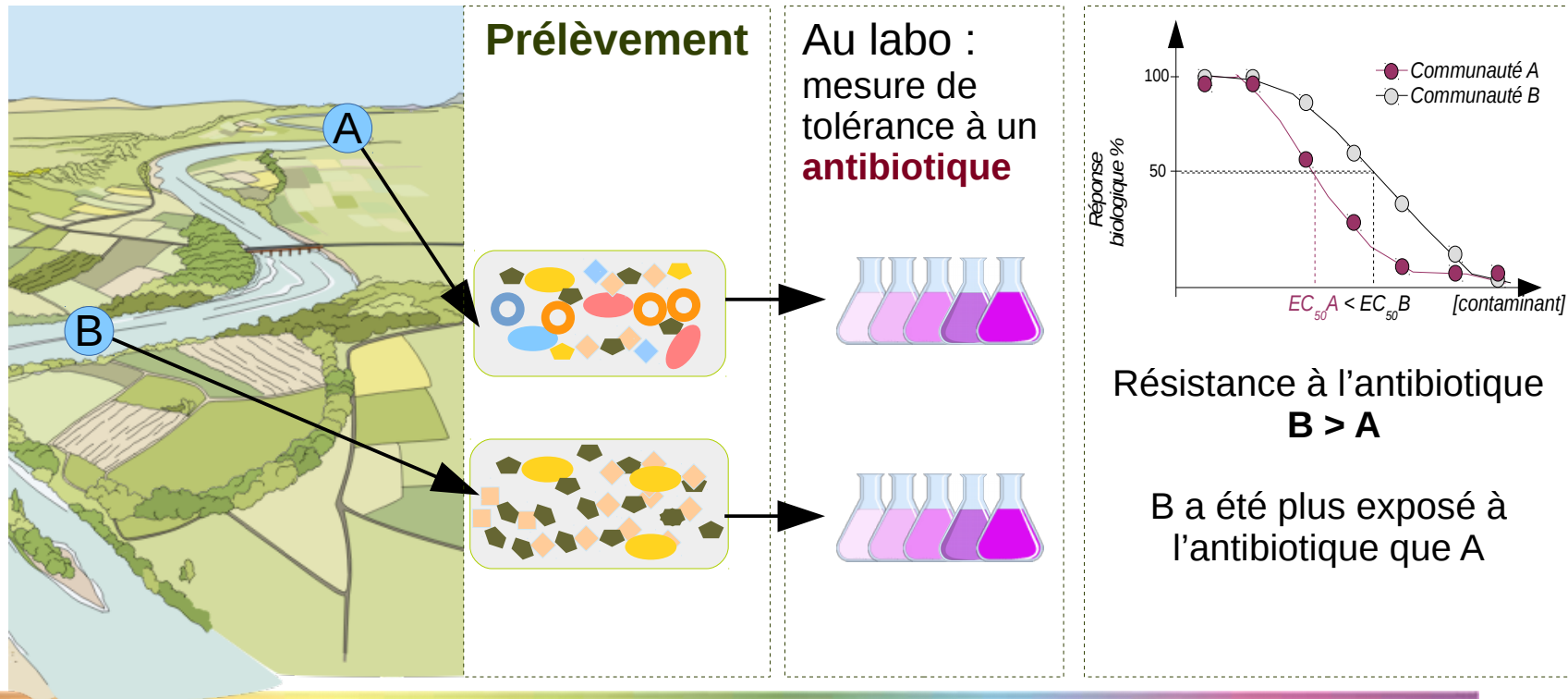
La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Quels outils pour détecter la résistance aux antibiotiques dans les milieux aquatiques ?

Mesure de l'acquisition de tolérance aux antibiotiques

- Approche **PICT** : **pollution induced community tolerance**

Identifier les communautés microbiennes, prélevées in situ, les plus tolérantes aux antibiotiques grâce à des tests de toxicité au laboratoire



1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Quels outils pour détecter la résistance aux antibiotiques dans les milieux aquatiques ?

Mesure de l'acquisition de tolérance aux antibiotiques

- Approche **PICT** : **pollution induced community tolerance**

Identifier les communautés microbiennes, prélevées in situ, les plus tolérantes aux antibiotiques grâce à des tests de toxicité au laboratoire

L'approche **PICT** renseigne sur

- l'acquisition **d'antibiorésistance** des communautés microbiennes *in situ*
- **l'historique** de contamination

1. Antibiotiques et antibiorésistances dans les milieux aquatiques

La résistance aux antibiotiques dans l'environnement

Quels outils pour détecter la résistance aux antibiotiques dans les milieux aquatiques ?

Détection du **potentiel de biodégradation des antibiotiques**

- Quantification de **gènes de dégradation**
- Mesure du potentiel de biodégradation **par radiorespirométrie**



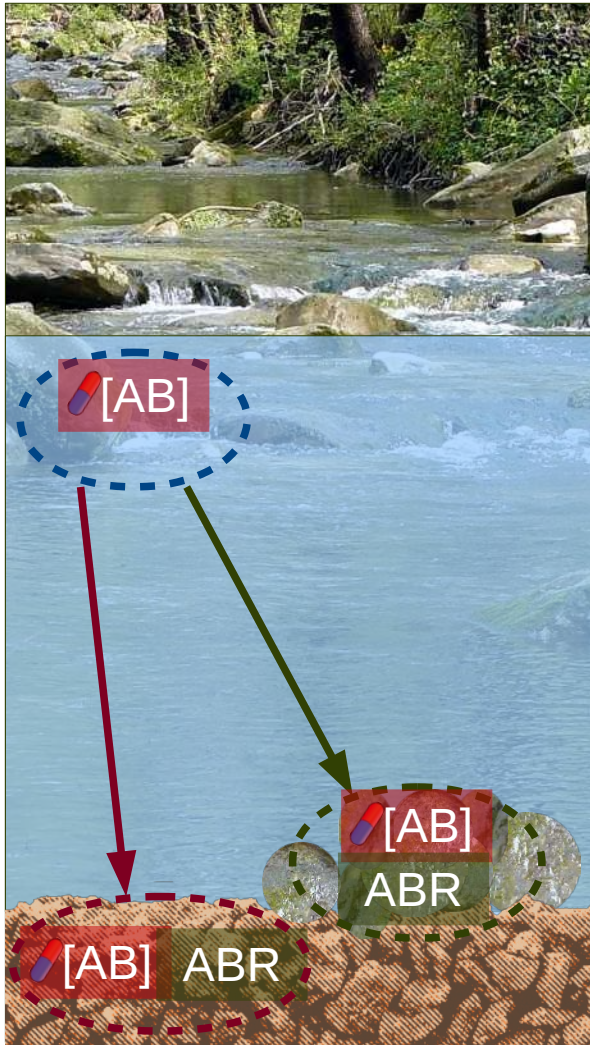
2. Objectifs du projet ANTIBIO-TOOLS

Mieux comprendre la **dynamique des antibiotiques et antibiorésistances** dans les milieux aquatiques

Contribuer à l'**amélioration des outils de suivi des antibiorésistances** dans l'environnement

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS

Volet 1 - *Dynamique et répartition des antibiotiques et antibiorésistances dans les écosystèmes aquatiques*

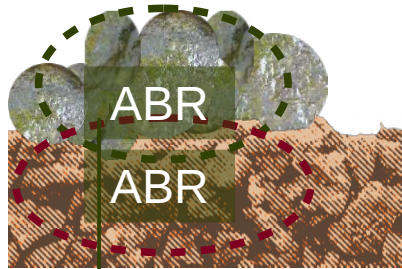


- Identifier, quantifier différents **antibiotiques (AB)** et les **antibiorésistances (ABR)** associées dans différents compartiments aquatiques : **eau de surface, sédiments, biofilm**
- Mettre en relation abondance en antibiotiques/antibiorésistances et facteurs environnementaux : saison, paramètres physico-chimiques, présence de métaux...

- Identifier des zones réservoirs d'AB / ABR
- Mieux comprendre les facteurs environnementaux influençant la dynamique AB / ABR

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS

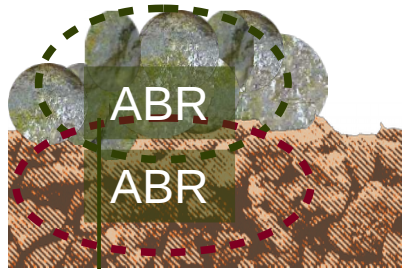
Volet 2 – Comparaison d'outils pour la détection d'*antibiorésistances* dans l'environnement



- ▶ Détection de gènes de résistance aux antibiotiques et à d'autres contaminants (métaux, biocides) (qPCR)
- ▶ Quantification des intégrons de classe 1, 2, 3 (qPCR)
- ▶ Mesure d'acquisition de tolérance spécifique à 2-3 antibiotiques suivant une approche PICT

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS

Volet 2 – Comparaison d'outils pour la détection d'*antibiorésistances* dans l'environnement



- ▶ Détection de gènes de résistance aux antibiotiques et à d'autres contaminants (métaux, biocides) (qPCR)
- ▶ Quantification des intégrons de classe 1, 2, 3 (qPCR)
- ▶ Mesure d'acquisition de tolérance spécifique à 2-3 antibiotiques suivant une approche PICT

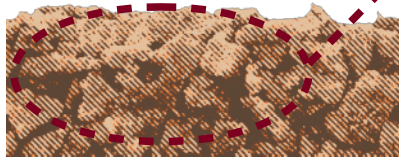
=> Spécificités, relations et limites de chaque approche

=> Corrélations avec les niveaux d'antibiotiques dans l'environnement et les autres paramètres environnementaux mesurés

=> Corrélation avec une analyse poussée de la structure des communautés bactériennes et de diatomées réalisée par métabarcoding + séquençage haut débit

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS

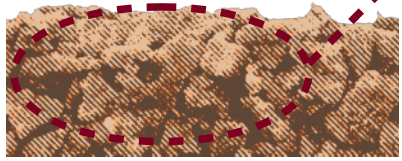
*Volet 3 – Estimer le potentiel naturel de **biodégradation des antibiotiques** par les communautés microbiennes du sédiment*



Mesure du potentiel de **biodégradation**, par radiorespirométrie, de 2 **antibiotiques**, d'un pesticide utilisé comme molécule modèle et d'un composé de référence facilement minéralisable (acetate de sodium)

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS

Volet 3 – Estimer le potentiel naturel de **biodégradation des antibiotiques** par les communautés microbiennes du sédiment



Mesure du potentiel de **biodégradation**, par radiorespirométrie, de 2 **antibiotiques**, d'un pesticide utilisé comme molécule modèle et d'un composé de référence facilement minéralisable (acetate de sodium)

=> Identifier les liens entre **capacités de biodégradation** et

- **exposition aux antibiotiques**
- **antibiorésistance**

=> mieux comprendre le **rôle des communautés microbiennes** dans le devenir **des antibiotiques** dans les milieux aquatiques

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS



Lac Léman

Milieu récepteur de **rejets urbains et hospitaliers** issus de la STEU de Thonon

=> 160 000 eq. habts + centre hospitalier de 356 lits

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS



Lac Léman

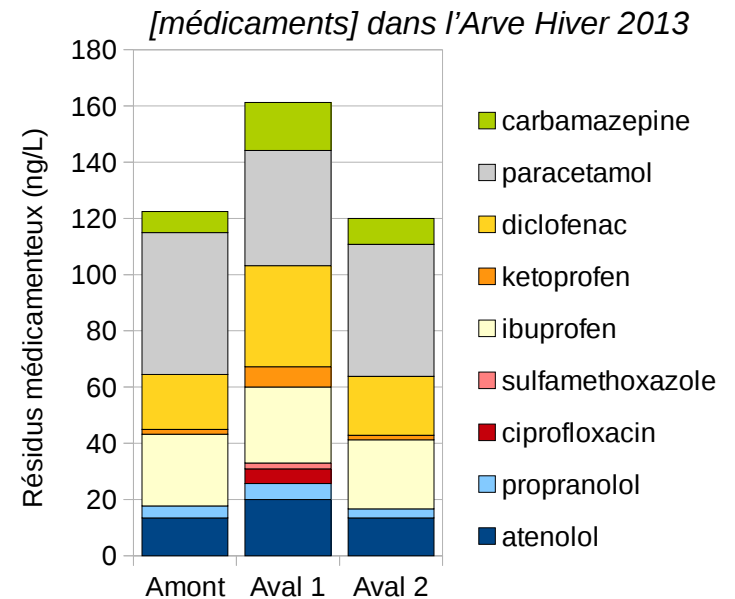
Milieu récepteur de **rejets urbains et hospitaliers** issus de la STEU de Thonon

=> 160 000 eq. habts + centre hospitalier de 356 lits

Rivière Arve – SIPIBEL

Milieu récepteur de **rejets urbains et hospitaliers** issus de la STEU de Bellecombe

=> 32 000 eq. habts + centre hospitalier de 500 lits



Chonova et al. 2017 ESPR

3. Mise en oeuvre du projet ANTIBIO-TOOLS



4 sites

- 2 sites sur le lac Léman
- 2 sites sur la rivière Arve

Suivi trimestriel régulier pendant 2 ans

- Total : **8 prélèvements**



Lames de verre colonisées par du biofilm



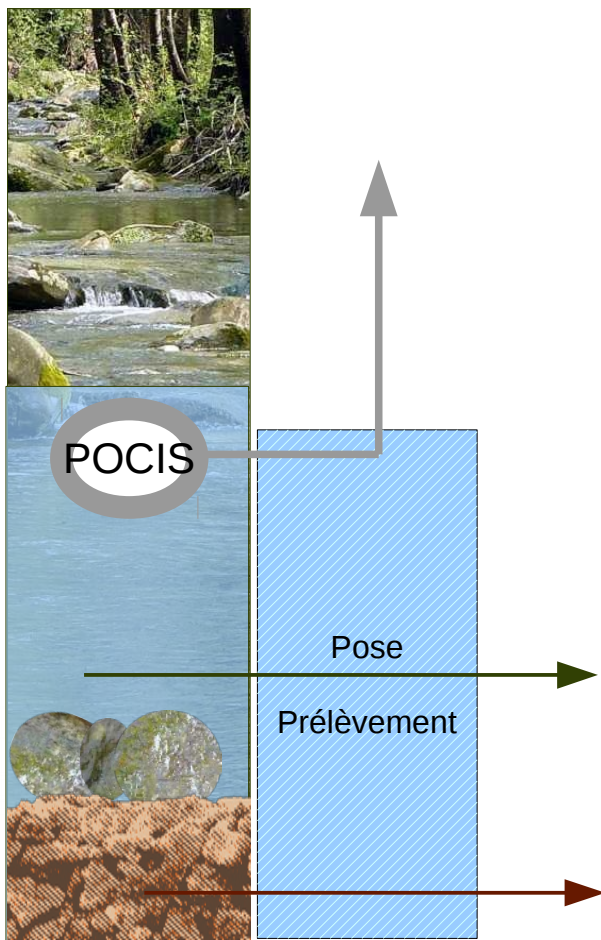
Prélèvement de sédiment



Echantillonneur passif

Lucie Liger / irstea

4. Répartition des tâches

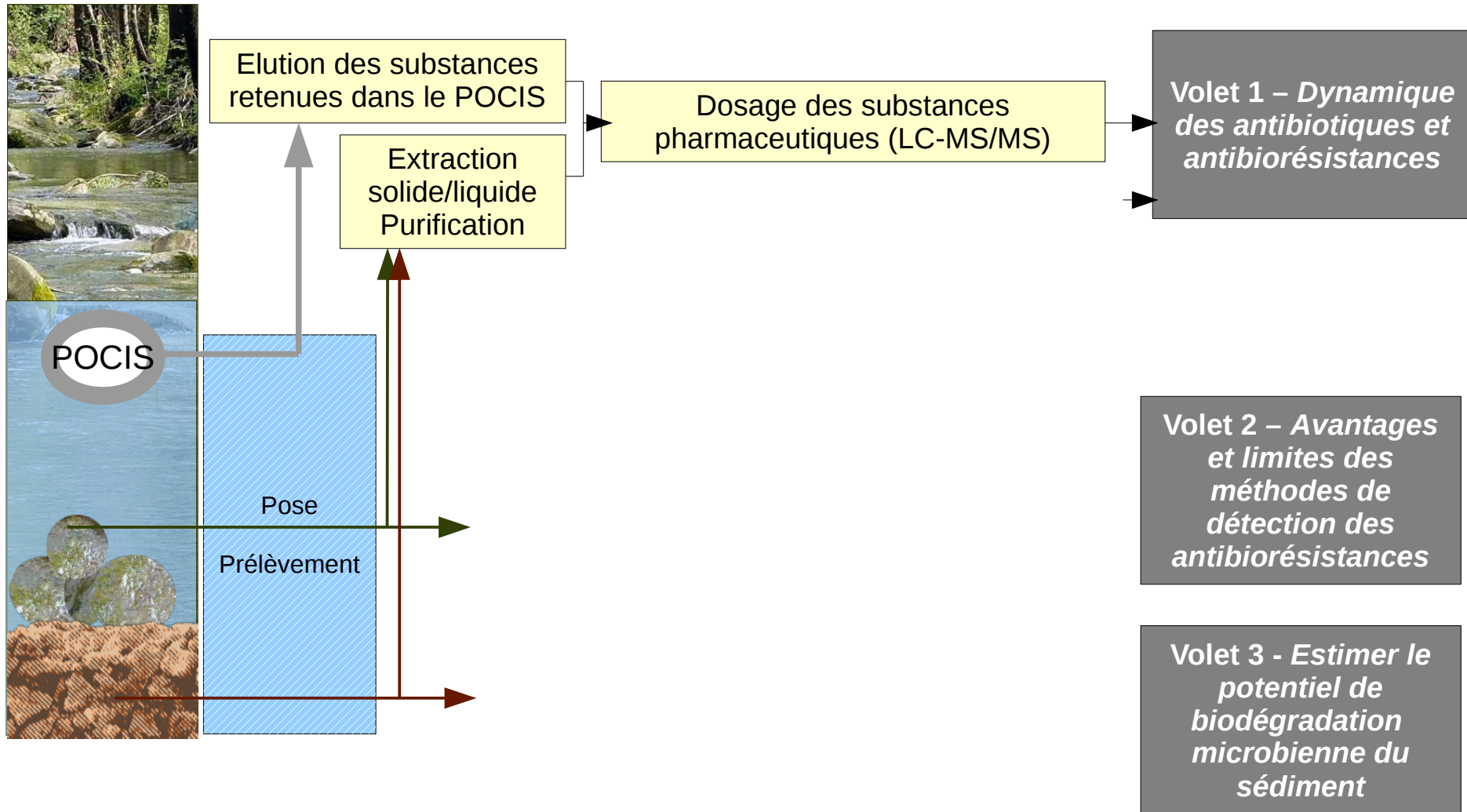


Volet 1 – *Dynamique des antibiotiques et antibiorésistances*

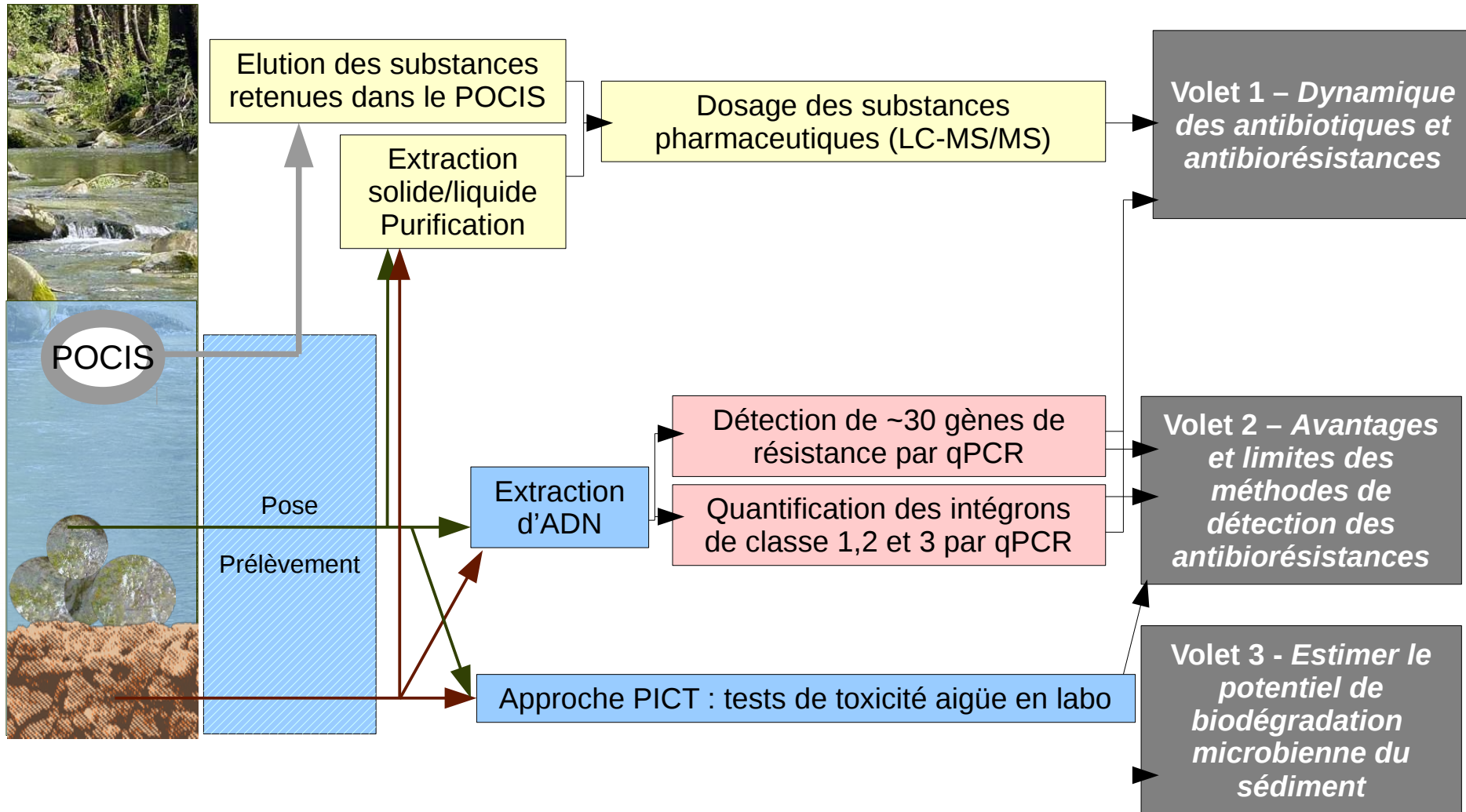
Volet 2 – *Avantages et limites des méthodes de détection des antibiorésistances*

Volet 3 - *Estimer le potentiel de biodégradation microbienne du sédiment*

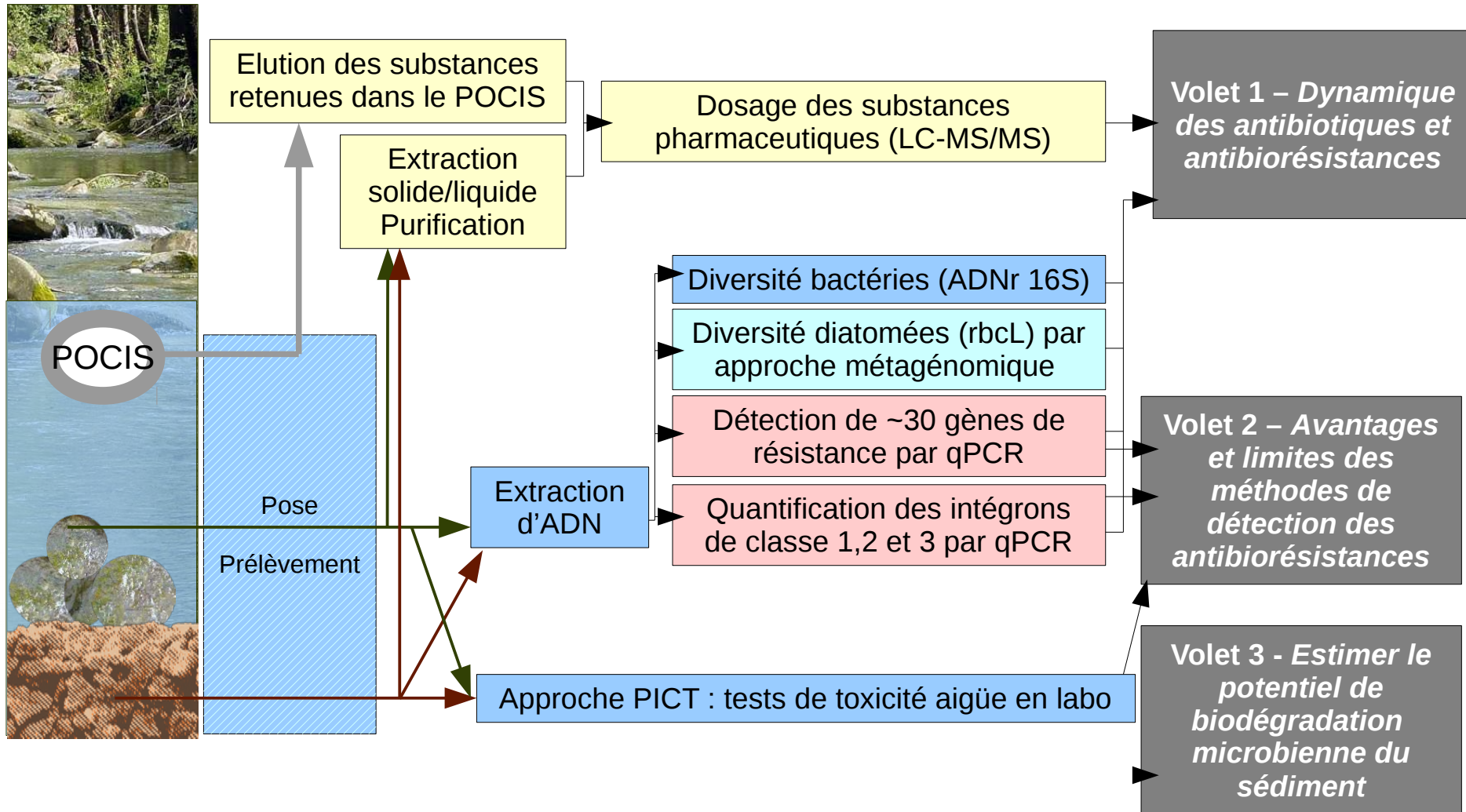
4. Répartition des tâches



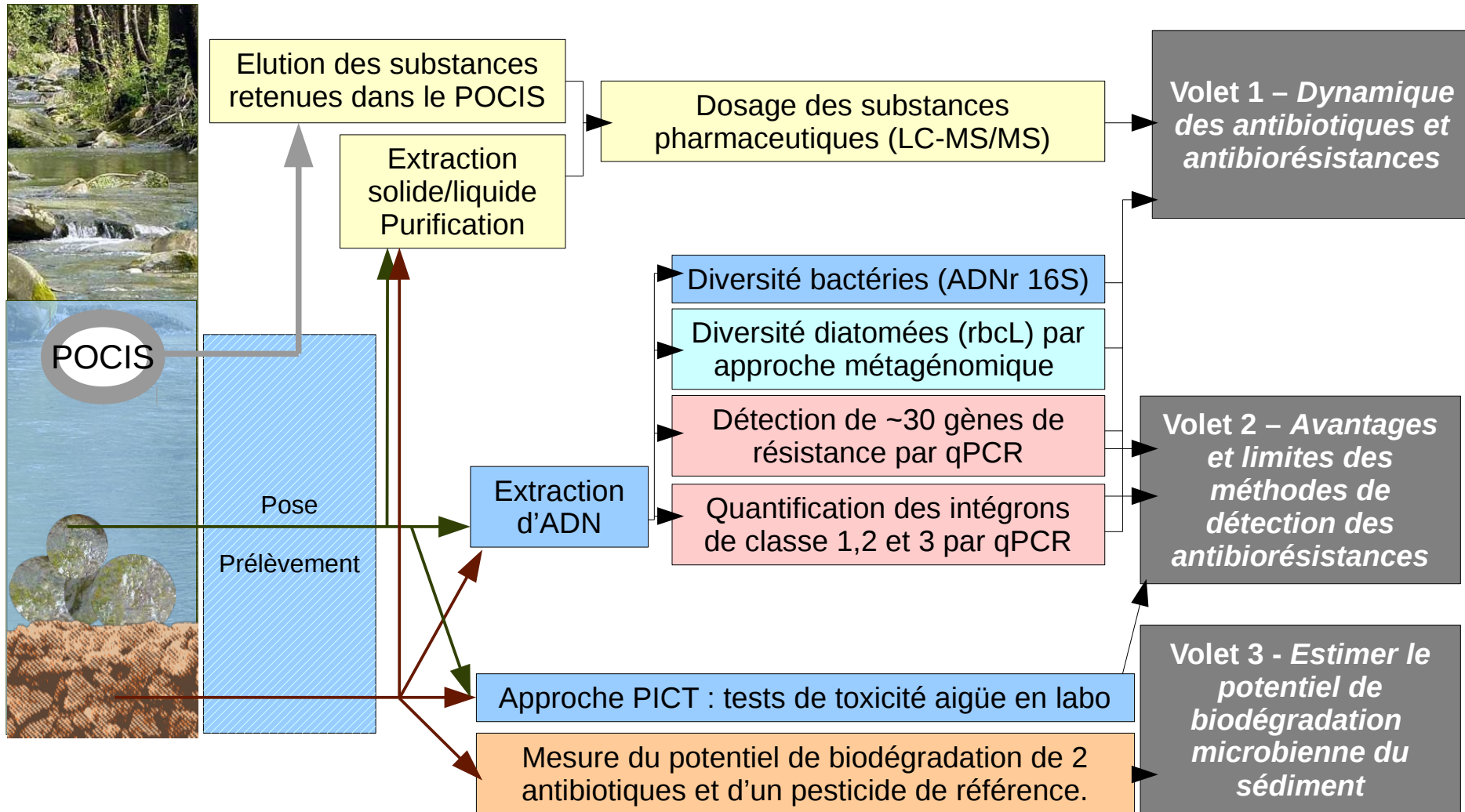
4. Répartition des tâches



4. Répartition des tâches



4. Répartition des tâches



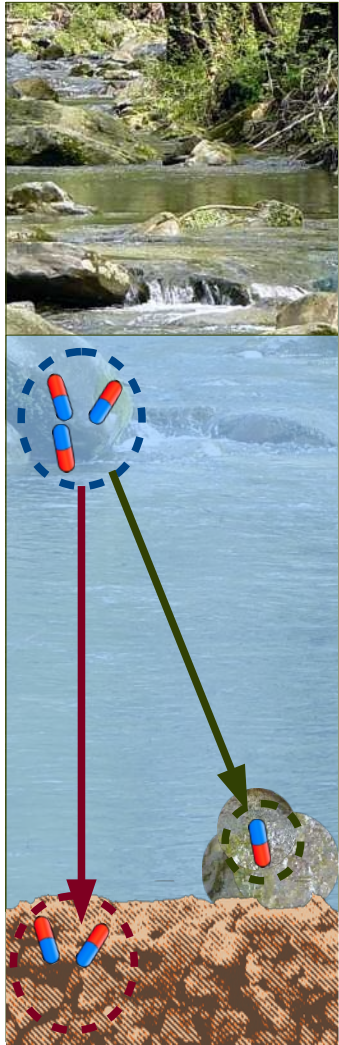
5. Calendrier prévisionnel

Tâches	2018											2019											2020											2021					
	UR	Rily	Irstea	UMR CARRETEL INRA	UMR 7285 U. Poitiers	UMR Inserm 1092	UMR Agroécologie INRA	Février	Mars	Avril	Mai	Jun	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Jun	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
Réunions des partenaires du projet										X																													X
Finalisation du choix des molécules – tests préliminaires							X	X	X	X																													
Pose POCIS et substrats artificiels															X	X			X	X		X	X				X	X											
Prélèvements (POCIS et/ou périphyton, sédiments)																			X	X		X	X				X	X											
Analyse physico-chimiques de l'eau de surface										X	X				X	X			X	X		X	X				X	X											
Dosage des métaux dans les sédiments																																							
<i>Volet 1</i> - Calibration des POCIS en labo										X	X	X	X	X																									
<i>Volet 1</i> - Dosage et analyse résidus médicamenteux (3 matrices)																																							
<i>Volet 1&2</i> - Extraction ADN																			X			X																	
<i>Volet 1&2</i> – Caractérisation du résistome (gènes de résistance/intégrons)																																							
<i>Volet 1&2</i> – Diversité bactérienne et des diatomées																																							
<i>Volet 1&2</i> – Tests PICT																																							
<i>Volet 3</i> - Mesure du potentiel de biodégradation des antibiotiques																																							
Synthèse des résultats et valorisation																																							

6. Résultats attendus et livrables

Résultats attendus

- **Dynamique** temporelle de la **répartition** des **antibiotiques** et **antibiorésistances** entre eau de surface, biofilm et sédiments
- **Specificités et limites** des différents **outils** pour détecter les **antibiorésistances**
- Lien entre gènes de résistance, résistance fonctionnelle des communautés (approche PICT), capacité de biodégradation et structure des communautés (biodiversité)
- Première **estimation de la capacité des communautés microbiennes du sédiment à dégrader les antibiotiques**



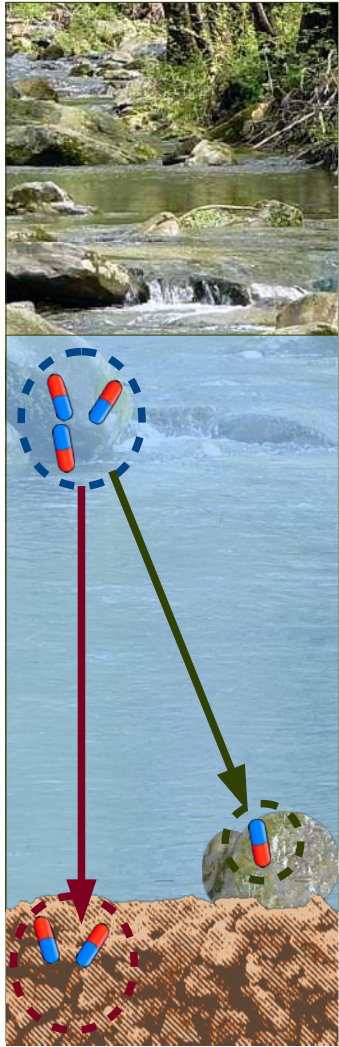
6. Résultats attendus et livrables

Résultats attendus

- **Dynamique** temporelle de la **répartition** des **antibiotiques** et **antibiorésistances** entre eau de surface, biofilm et sédiments
- **Specificités et limites** de différents **outils** pour détecter les **antibiorésistances**
- Lien entre gènes de résistance, résistance fonctionnelle des communautés (approche PICT), capacité de biodégradation et structure des communautés (biodiversité)
- Première **estimation de la capacité des communautés microbiennes du sédiment à dégrader les antibiotiques**

Livrables

- 4-5 **publications scientifiques** + communications dans des congrès
- 2 rapports d'avancement intermédiaires et 1 **rapport final** présentant la comparaison des différents outils de détection des antibiorésistances
- **Données** du projet **mise à disposition** au travers du site du GRAIE + base de données SIPIBEL
- **Valorisation et transfert vers les opérationnels** : journées de restitution SIPIBEL, journées techniques ZABR



7. Retombées en santé-environnement



Le projet Antibio-tools contribuera à

- Une meilleure connaissance des **zones réservoirs d'antibiotiques et d'antibiorésistances** dans les écosystèmes aquatiques.
- Une meilleure estimation de l'influence des rejets de STEU et d'autres paramètres environnementaux sur les niveaux d'antibiotiques / antibiorésistances.
- L'utilisation de **méthodes** adéquates pour **détecter les antibiorésistances** dans les écosystèmes aquatiques.
- Une meilleure compréhension du rôle des communautés microbiennes aquatiques dans le devenir des antibiotiques (potentiel de biodégradation) et la dynamique des antibiorésistances.

Merci pour votre attention

ANTIBIO-TOOLS

