

Effluents hospitaliers : sources de pollution en antibiotiques et de résistances bactériennes potentiellement transmissibles via un biofilm?

Ory Jérôme
Praticien Hospitalier
Service Microbiologie Hygiène
CHU De Nîmes

- **En Europe, plus de 3000 substances sont utilisées en médecine humaine**
- **Les hôpitaux sont de grands consommateurs :**
 - **Pharmaceutiques**
 - **Radionucléides**
 - **Détergents & désinfectants...**

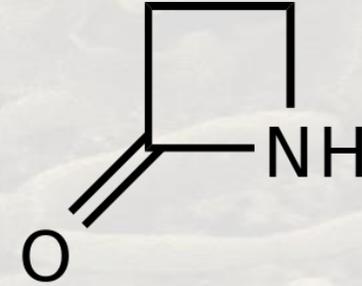


2 μm

- Deux familles d'antibiotiques principalement prescrites :

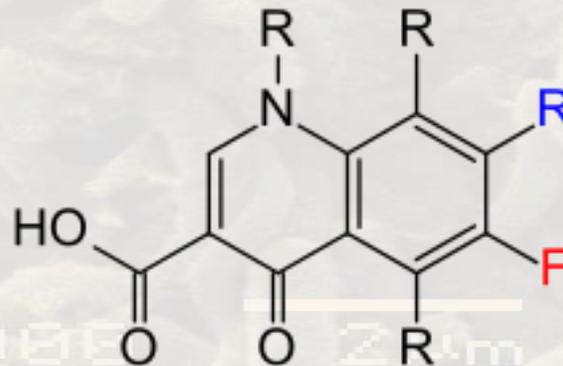
- **Les bêtalactamines**

- Pénicillines
- Céphalosporines
- Monobactames
- **Carbapénèmes** → Imipénème +++

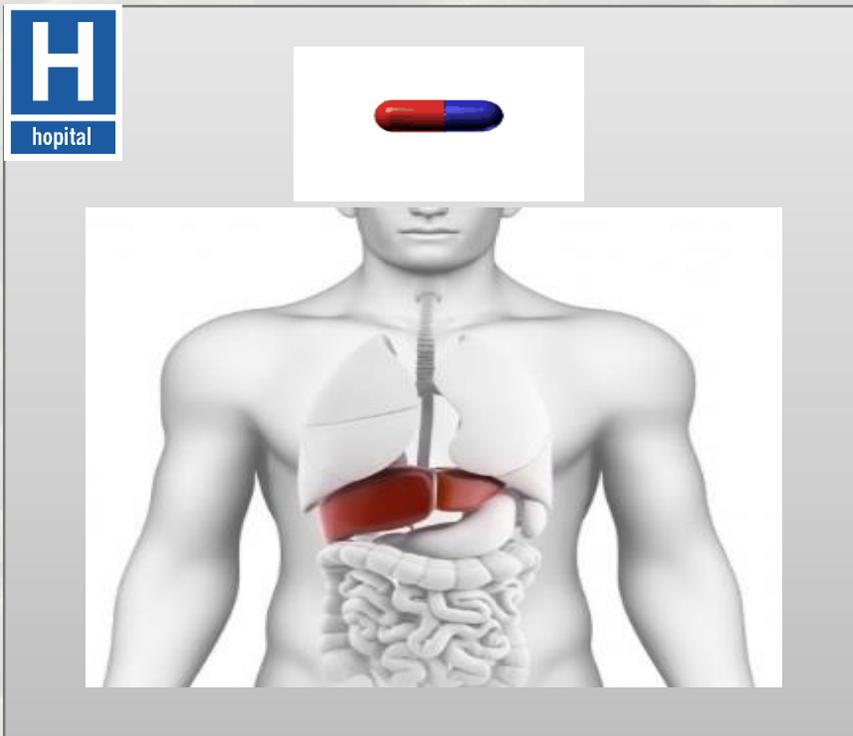


- **Les fluoroquinolones (FQ) :**

- Ciprofloxacin
- Ofloxacin
- Norfloxacin
- Levofloxacin



Administration



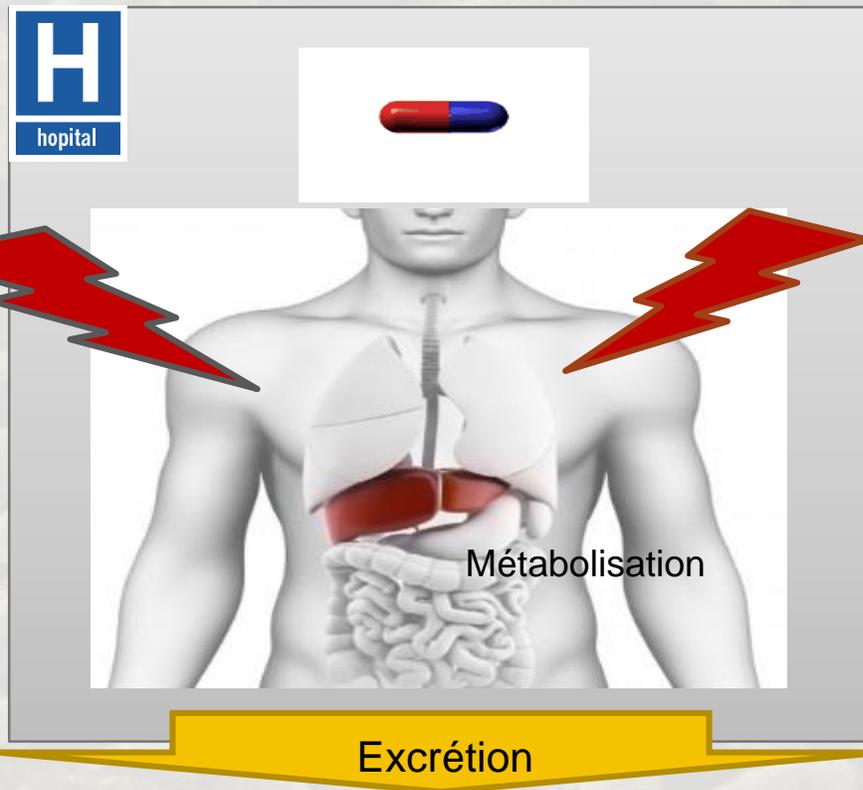
5kV

X7,000

2µm

07 15 SEI

Administration



Microbiote intestinal

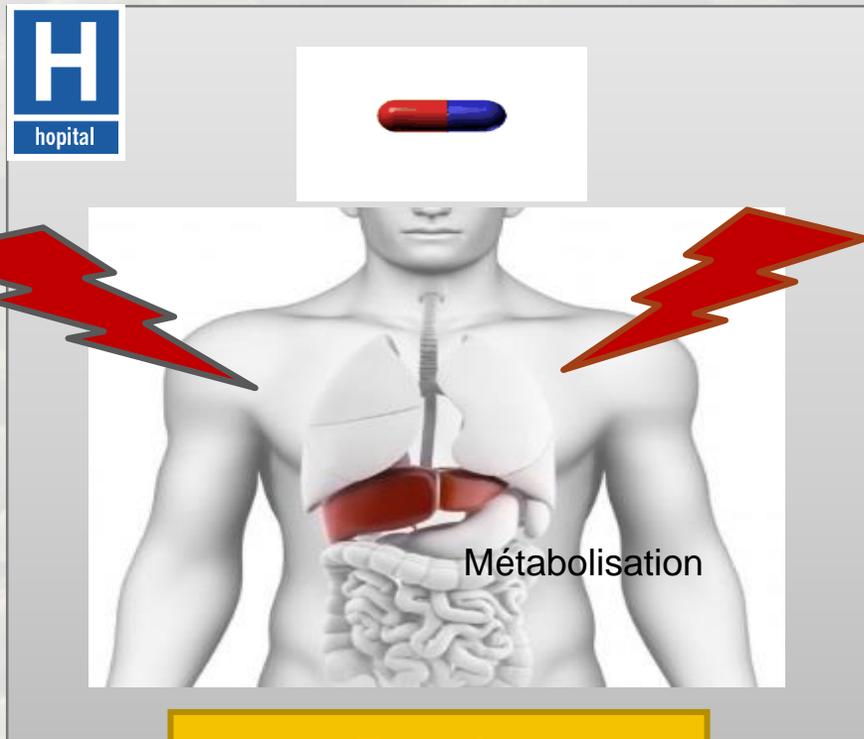
5kV

X7,000

2µm

07 15 SEI

Administration



Microbiote intestinal

Métabolisation

Excrétion

Eaux usées

Bactéries environnementales



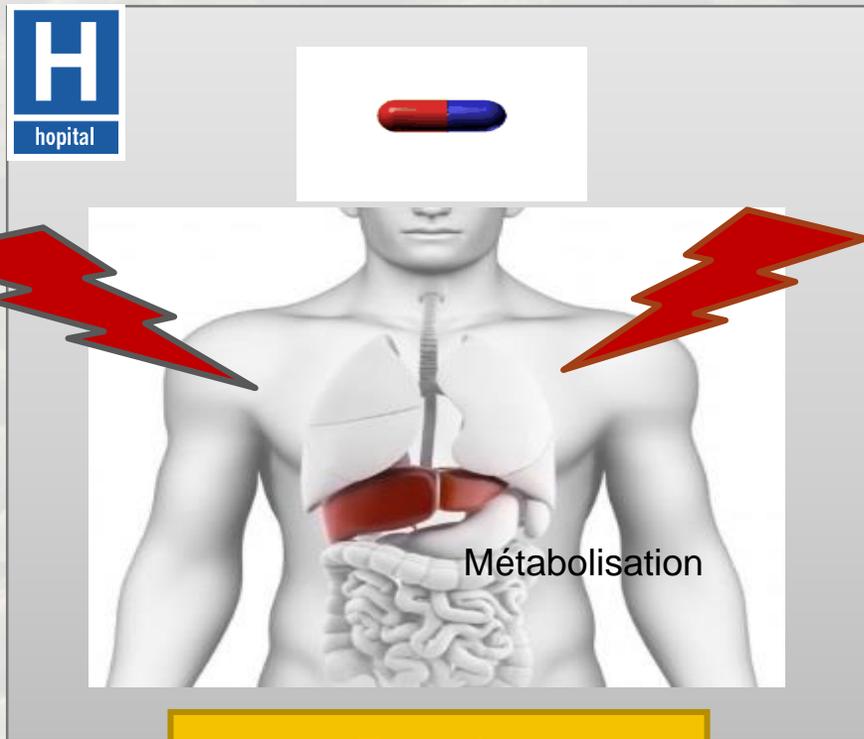
5kU

X7,000

2µm

07 15 SEI

Administration



Métabolisation

Excrétion

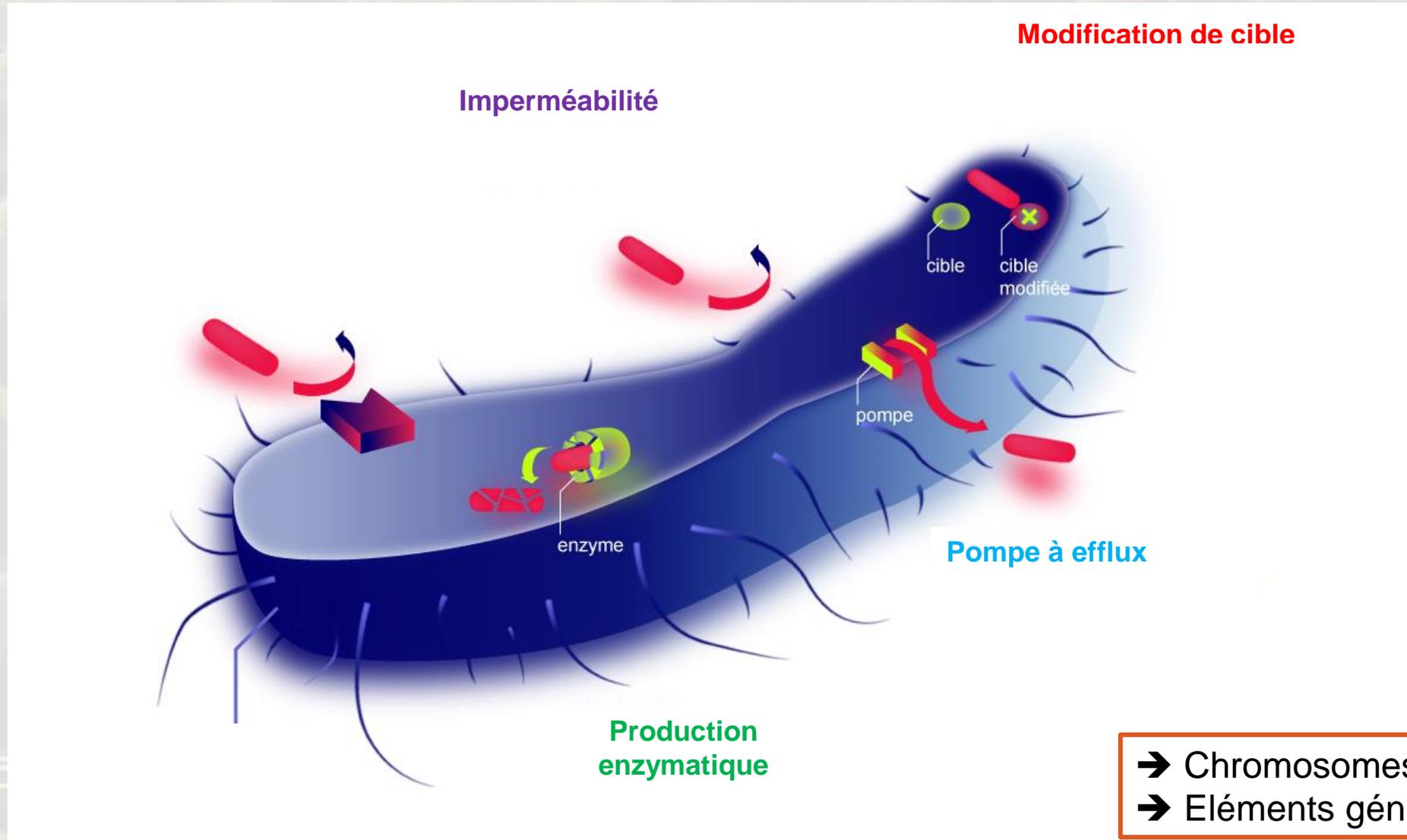
Eaux usées

Microbiote intestinal

Bactéries environnementales

→ Résistance aux antibiotiques

- Mécanismes de résistance :



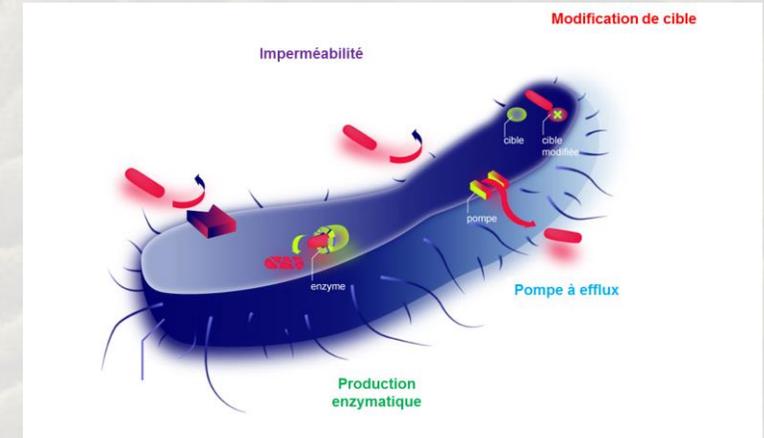
- Mécanismes de résistance :

- Carbapénèmes

- Mécanisme de résistance **le plus fréquent** : → **Carbapénémases**

- *bla*OXA-48
- *bla*NDM
- *bla*KPC
- *bla*GES
- *bla*VIM
- ...

Support plasmidique +++



- Fluoroquinolones

- **ADN gyrase et de la topoisomérase IV**

Support chromosomique

- **Protéine Qnr**: *QnrA*, *QnrB*, *QnrS*...

- *Aac(6')-Ib-cr*

- **Pompes à efflux**: *qepA*

Support plasmidique

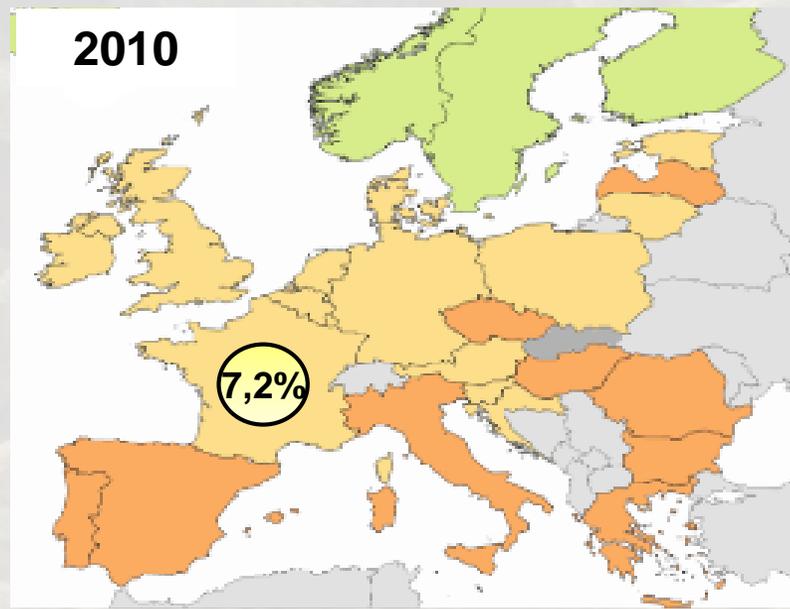
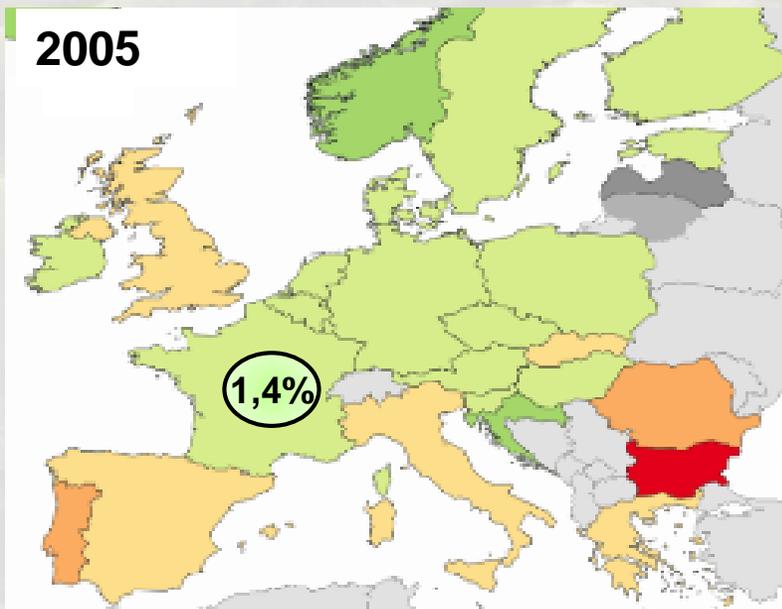
5 k

2 μm

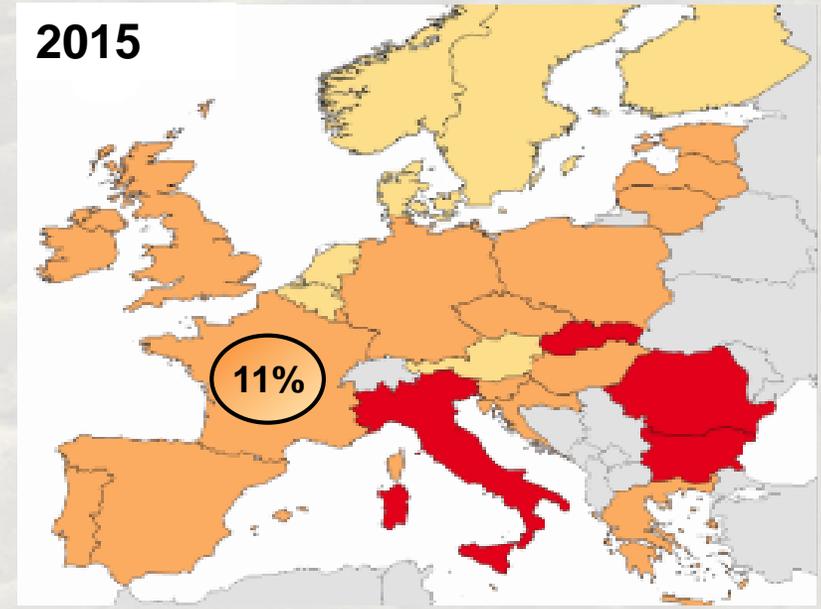
15

SEI

Une résistance mondialisée



64,5% BLSE+



≈ 80% BLSE+

***Escherichia coli* résistants aux Céphalosporines (Bétalactamines)**

Resistant (R) isolates proportion (%)

- <1%
- 1-<5%
- 5-<10%
- 10-<25%
- 25-<50%
- 50-<75%
- ≥75%
- Not calculated

5kU

X7,000

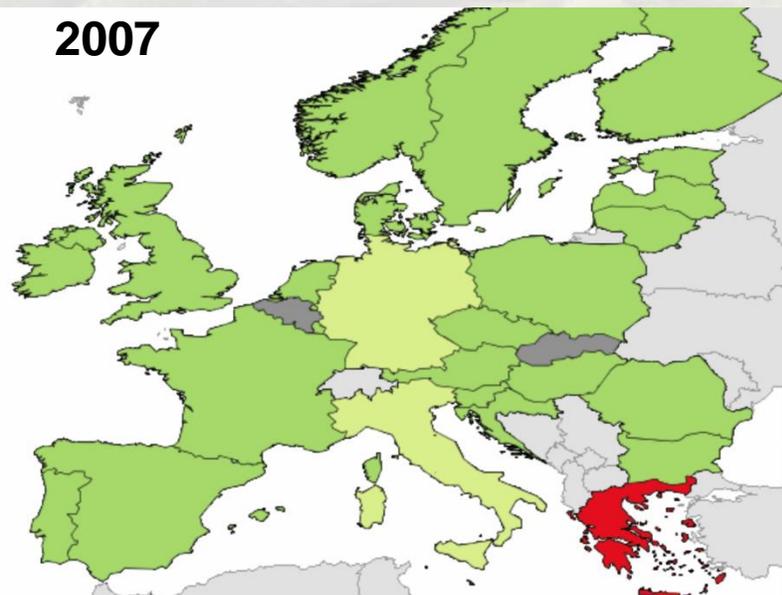
2µm

07-15

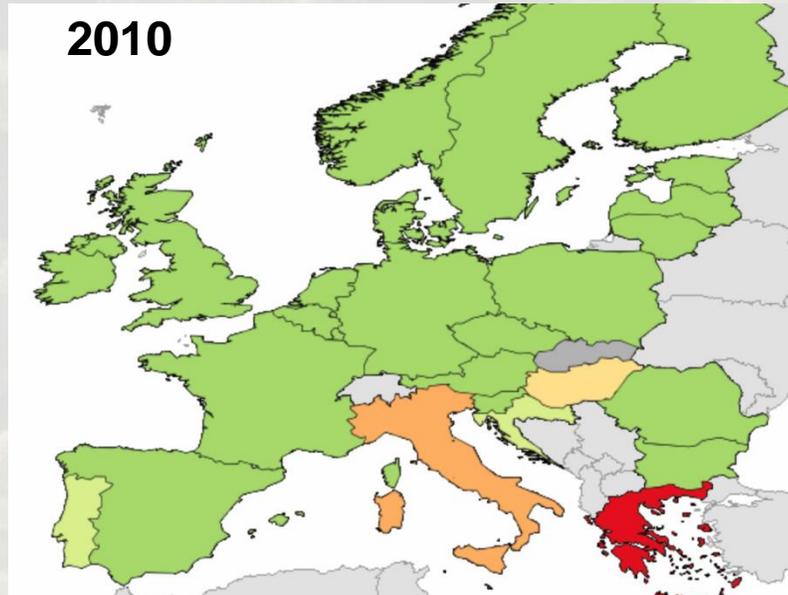
Une résistance mondialisée



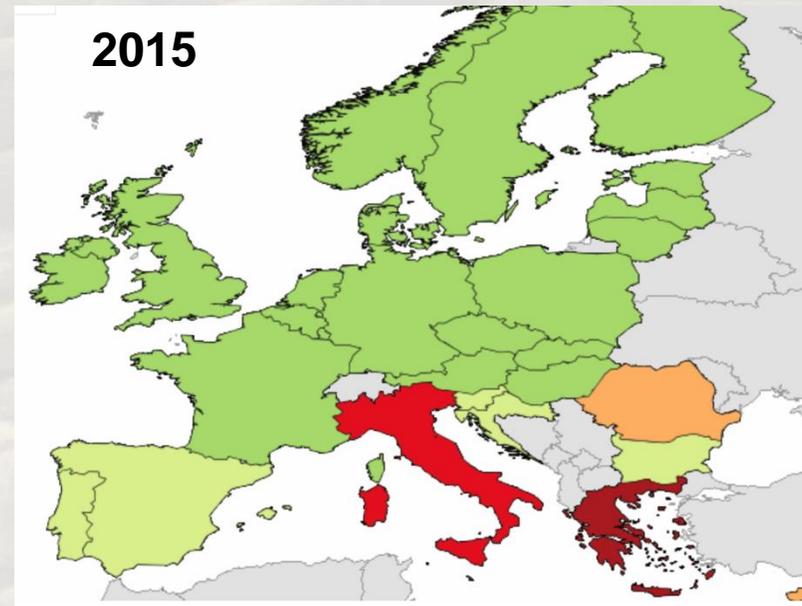
2007



2010

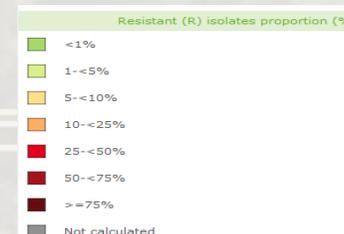


2015

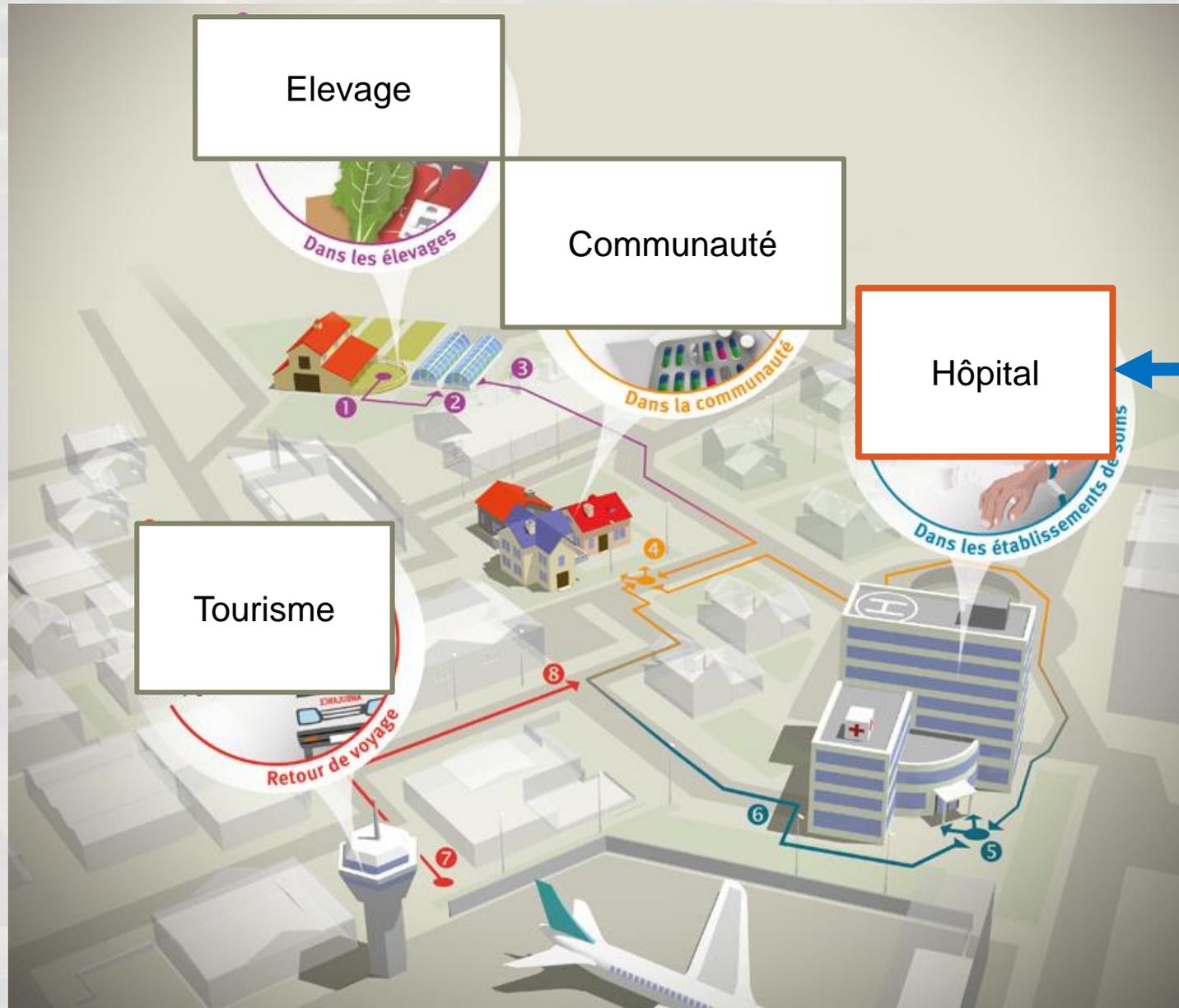


Klebsiella pneumoniae résistants aux carbapénèmes

Une diffusion de l'antibiorésistance...



Une diffusion de l'antibiorésistance...



Lieu d'expérimentation : Hôpital Gabriel Montpied à Clermont-Ferrand

Hôpital : - 1200 lits

- consommation d'eau 300 L/j/lit

Collecteur principal

Echantillonnage : 15 jours



Caractérisation de l'effluent hospitalier :

- Mesures physiques
 - Débit= 21,43 L/s (DREAL)
 - pH= 8
 - T= 26,2°C
 - Conductivité= 873 μ S/Cm
- Mesures chimiques
 - COD, COT
 - NO₃⁻, Cl⁻, NH₄⁺....





Biofilms
(15 jours)



5kV

X7,000

2µm

07 15 SEI



Biofilms
(15 jours)

Caractérisation générale du biofilm

5kV

X7,000

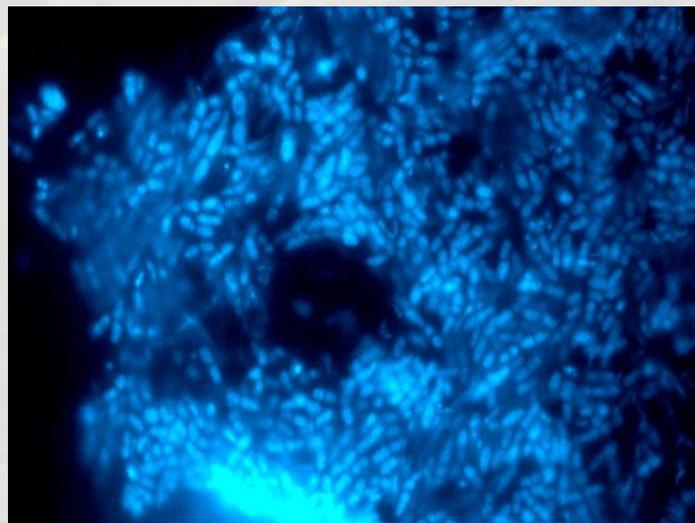
2µm

07 15 SEI

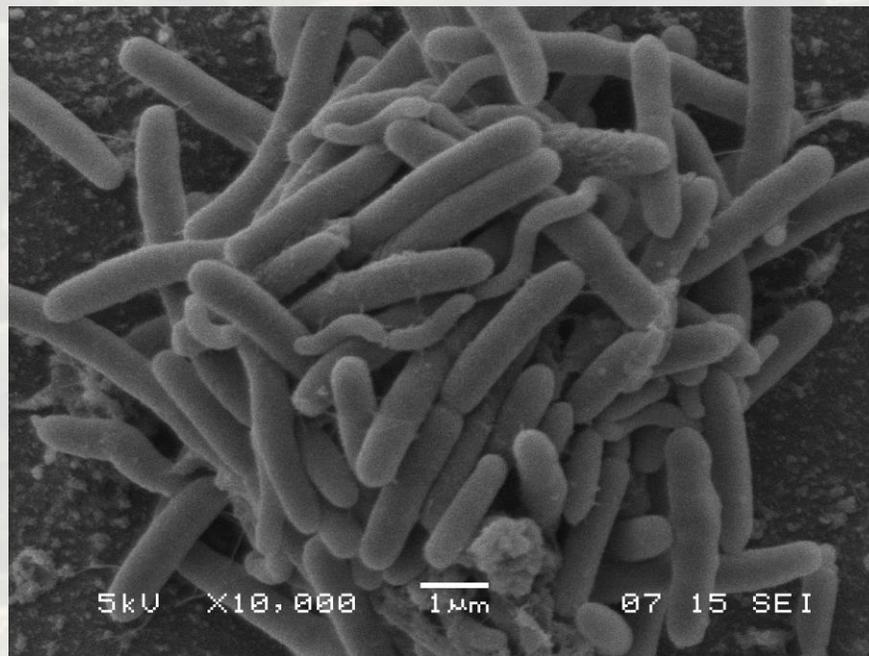


Biofilms
(15 jours)

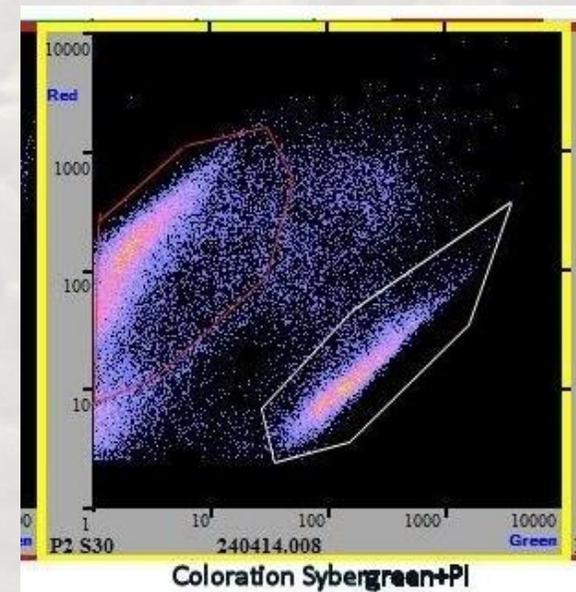
Caractérisation générale du biofilm



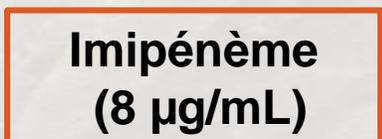
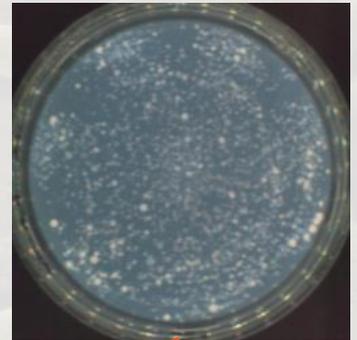
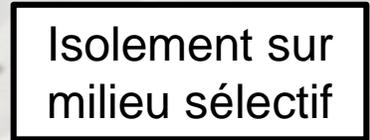
Observation au microscope optique à fluorescence (DAPI)



Observation au MEB



Cytométrie après marquage au Sybergreen et iodure de propidium (PI)
-Cellules vivantes: 49%
-Cellules endommagées: 41%



5kV

X7,000

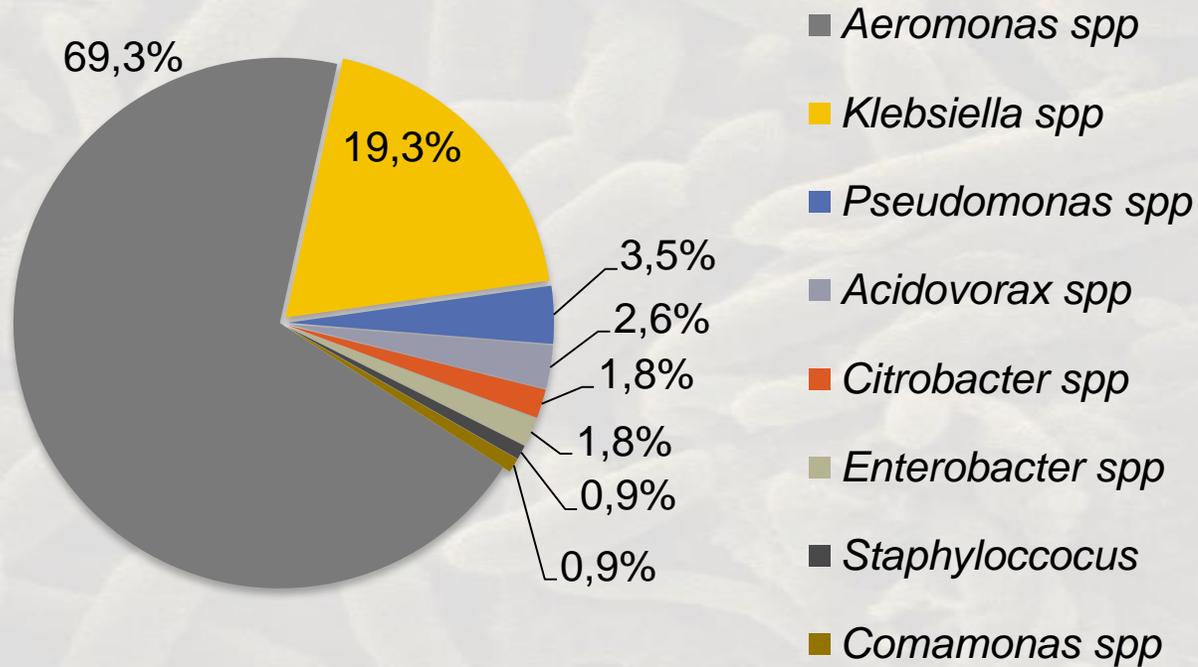
2µm

07 15

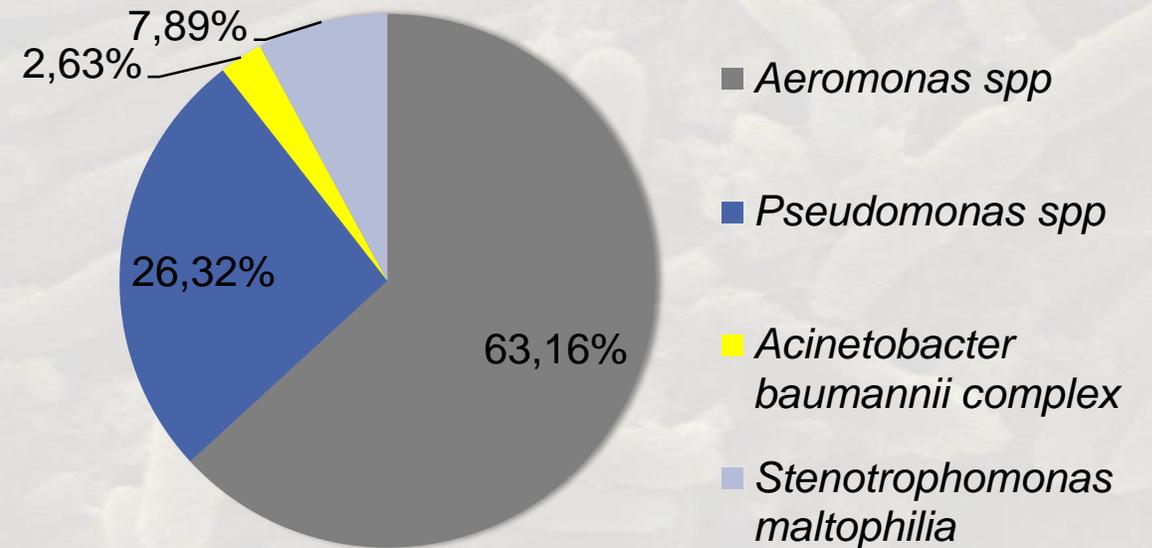
SEI

- Identification bactérienne par spectrométrie de masse ou séquençage

Ciprofloxacine
(1 µg/mL)
n=115



Imipénème
(8 µg/mL)
n=37



5kV

X7,000

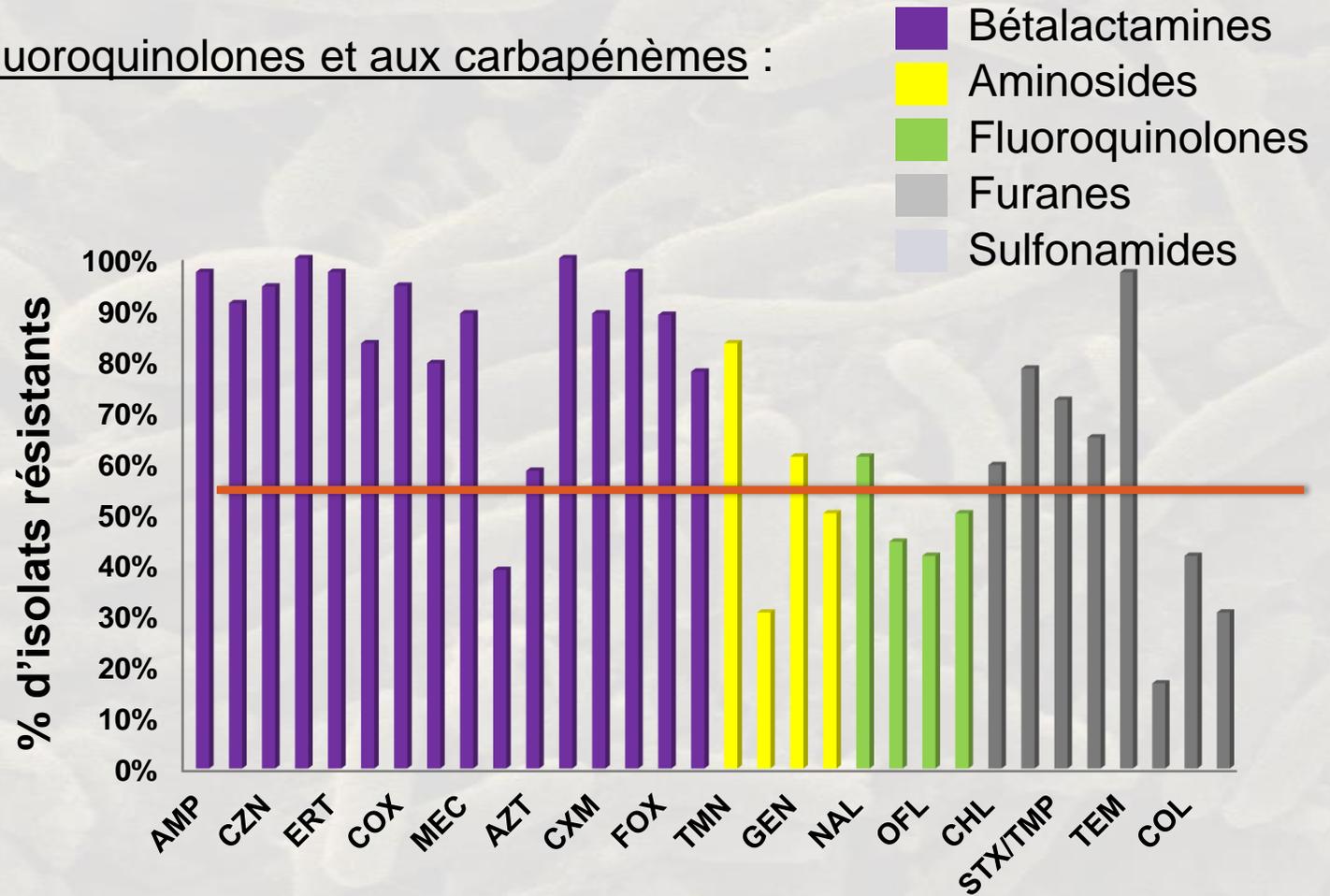
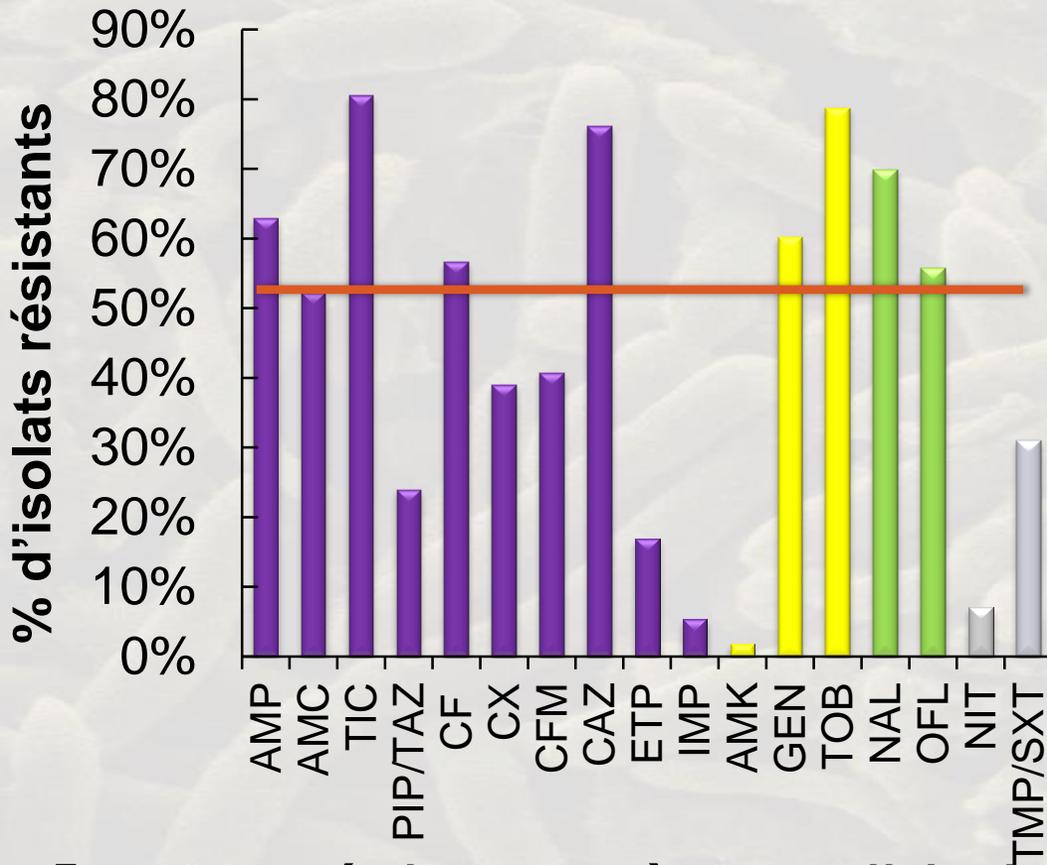
2µm

07

15

SEI

- Profil de résistance des isolats résistants aux fluoroquinolones et aux carbapénèmes :



- Bêtalactamines
- Aminosides
- Fluoroquinolones
- Furanes
- Sulfonamides

➔ 50% résistants à 9 antibiotiques

➔ 50% résistants à 23 antibiotiques

➔ Souches multirésistantes

Source

Effluent hospitalier

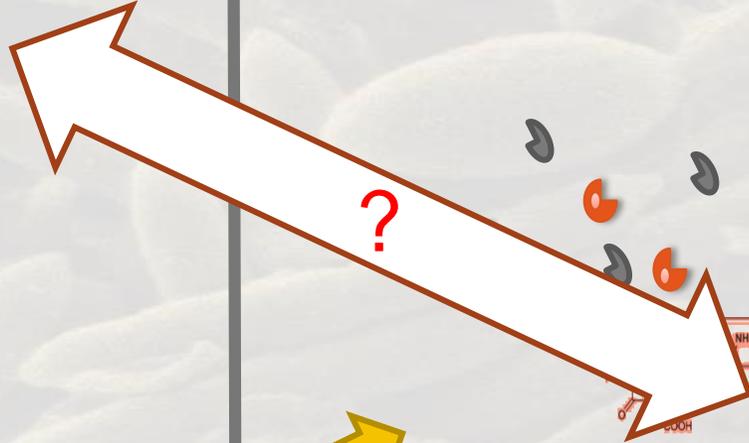


ATB



Métabolites

PA : 70-100%



- Comparaison entre les isolats issus du biofilm des effluents hospitaliers et l'hôpital



Hôpital Universitaire

1 247 isolats
R FQ



**Etude du
biofilm formé
*in situ***

115 isolats
R FQ



SKU XPS 000 2 μm 07 15 CEI

- Comparaison entre les isolats issus du biofilm des effluents hospitaliers et l'hôpital



Hôpital Universitaire

1 247 isolats
R FQ



→ 5 espèces communes



Etude du
biofilm formé
in situ

115 isolats
R FQ



- Comparaison entre les isolats issus du biofilm des effluents hospitaliers et l'hôpital



Hôpital Universitaire

1 247 isolats
R FQ

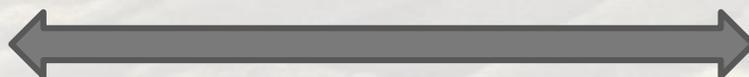
1 isolat
R Carba



**Etude du
biofilm formé
*in situ***

115 isolats
R FQ

37 isolats
R Carba



2 µm

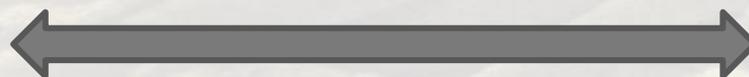
- Comparaison entre les isolats issus du biofilm des effluents hospitaliers et l'hôpital



Hôpital Universitaire

1 247 isolats
R FQ

1 isolat
R Carba



→ **Aucune espèce
commune**



Etude du
biofilm formé
in situ

115 isolats
R FQ

37 isolats
R Carba

Source

Effluent hospitalier

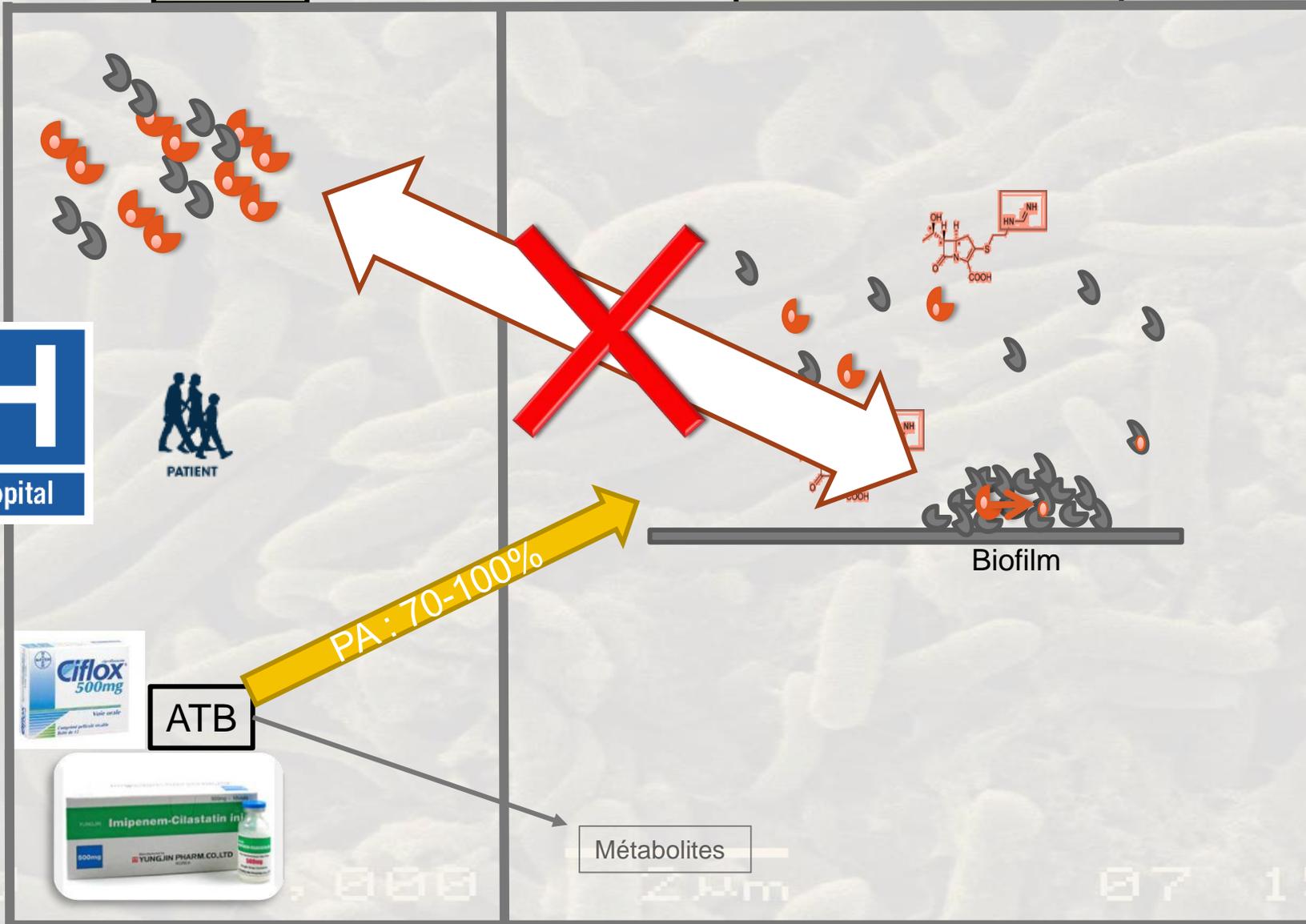


ATB



Métabolites

PA : 70-100%



Source

Effluent hospitalier



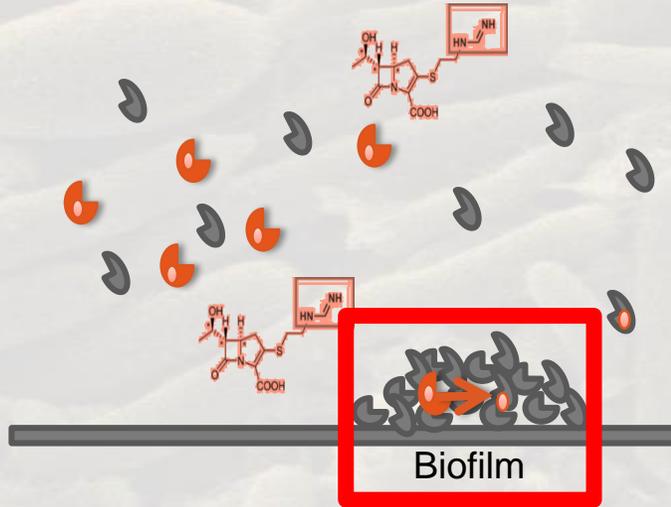
PATIENT



ATB



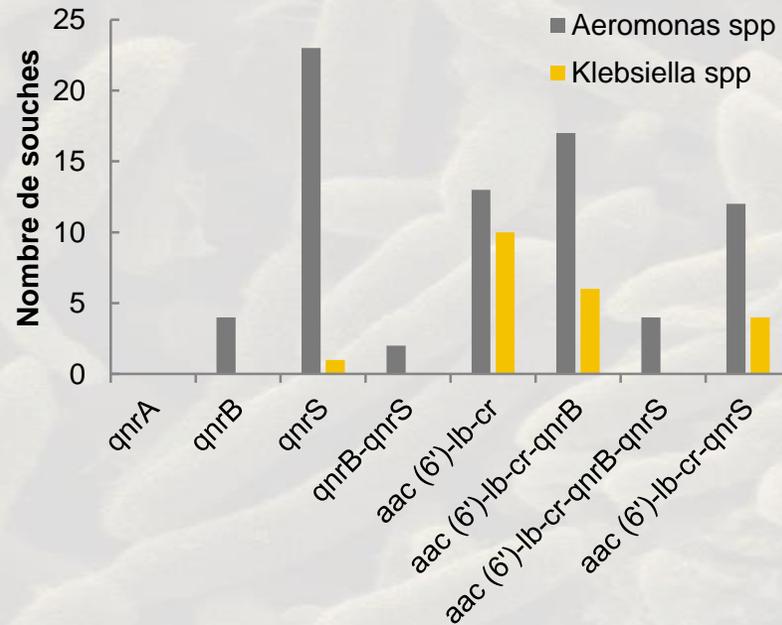
Métabolites



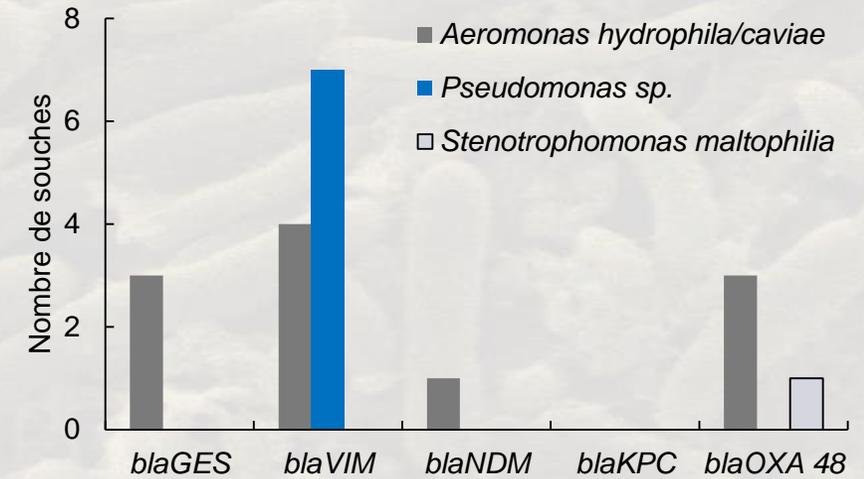
Biofilm

- Détection des supports génétiques de résistances (plasmides)

Isolats résistants à la ciprofloxacine



Isolats résistants à l'imipénème



➔ Présence de supports plasmidiques portant la résistance

Equipe du projet



Jérôme Ory

Geneviève Bricheux

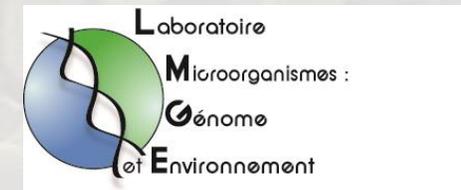
Jean-Louis Bonnet

Florence Donnadiou-Bernard

Anne Togola

Christiane Forestier

Ousmane Traoré



Biofilms

bactéries

Antibiotiques

Ciprofloxacine

Ecotoxicologie environnementale

Plasmide

Merci

Fluoroquinolone

PEC

POCIS

MEC

Antibiorésistances

Effluent hospitalier

5kV

X7,000

2µm

07-15 SEI