

Analyse des mécanismes qui aboutissent à la présence de bactéries antibiorésistantes dans les eaux - éléments d'évaluation des risques

Juillet 2006

Sommaire

1	Analyse de la saisine et modalités de réponse.....	2
1.1	Rappel des différentes saisines et du contexte et délimitation du champ des questions posées.....	2
1.2	Conduite de l'expertise	2
1.2.1	groupe de rapporteurs	2
1.2.2	Analyse du dossier bibliographique transmis	3
1.3	Analyse des six publications sélectionnées.....	4
1.4	Consultation d'organismes européens	5
2	Eléments de réponse aux deux questions posées par la saisine	7
2.1	Transfert de bactéries antibiorésistantes et flux de gènes par voie hydrique (éléments de réponse à la première question de la saisine).....	7
2.1.1	Probabilité qu'une bactérie témoin de contamination fécale franchisse une filière de traitement	10
2.1.2	Scénarii d'exposition de l'homme à des bactéries antibiorésistantes autochtones de l'eau.....	11
3	Conclusion	13

1 Analyse de la saisine et modalités de réponse

1.1 Rappel des différentes saisines et du contexte et délimitation du champ des questions posées

L'Afssa et l'Afsset ont été saisies conjointement par la Direction générale de la santé le 16 septembre 2003, à la suite d'une publication d'un article dans le journal «Le Figaro» en date du 10 juin 2003, de la demande portant sur les deux points suivants :

- analyse de l'ensemble des mécanismes qui aboutissent à la présence de bactéries résistantes dans les eaux de consommation humaine, identification des étapes sensibles nécessitant des actions correctrices ou de prévention particulière (*question 1*)
- évaluation du risque que représente la présence de ces bactéries résistantes pour la santé humaine, en particulier pour les populations dont les défenses immunitaires sont altérées (*question 2*).

L'eau destinée à la consommation humaine est utilisée pour les usages de boisson, de production agroalimentaire, de loisirs sportifs ou encore d'hygiène générale et corporelle. En réponse à la saisine, le groupe de rapporteurs a fait le choix d'examiner les aspects sanitaires liés à l'ingestion, faute de données suffisantes sur les expositions par inhalation et contact.

1.2 Conduite de l'expertise

1.2.1 groupe de rapporteurs

Les rapporteurs de la saisine, membres du CES «Eaux» de l'Afssa sont :

- M. BALEUX,
- M. DUCHEMIN,
- M. LEVI,

Les rapporteurs de la saisine, membres du CES «Contaminants chimiques» de l'Afsset sont :

- Mme CASELLAS,
- M. PAILLER.

Des experts extérieurs aux comités d'experts spécialisés concernés par cette saisine ont été sollicités et ont accepté d'être rapporteurs pour cette saisine :

- M. LESNE, LERES, Ecole Nationale de Santé Publique.
- M. MONFORT, Unité mixte de recherche 5119 - CNRS Université Montpellier II.
- Mme PETIT, Université de Rouen – LMDF UPRES 2123, Groupe Biodiversité et Environnement.

Des représentants du groupe de travail «Antibiorésistance» de l'Afssa ont été associés à cette saisine, il s'agit de :

- M. GUILLEMOT, président du groupe de travail;
- M. SANDERS.

1.2.2 Analyse du dossier bibliographique transmis

Le dossier bibliographique transmis à l'Afssa dans le cadre de cette saisine comporte différentes publications qui ont été classées selon leur origine :

1. Articles de presse ou d'information générale :
 - Lanoy P., La résistance aux antibiotiques au fond de nos verres — Le Figaro mardi 10 juin 2003.
 - Ferber D., Antibiotics resistance : Superbugs on the Hoof, Science magazine 288 (5467) : 792.
 - Williams R.J., Heymann D.L., Containment of antibiotic resistance, Science magazine 279 (5354) : 1153.
2. Publications non soumises à comité de lecture :
 - Danglot C. 2002. XXIX^e symposium de l'Institut national de médecine agricole « l'eau, agriculture espace rural et santé ».
3. Résumés de posters :
 - Swartz T. 2003. Occurrence of antibiotic resistance within the watercycle : an emerging problem of the use of environmental resources. Envirpharma European Conference, 14-16 avril 2003, Lyon.
 - Kiffmeyer T. 2003. Minimisation of human drug input by oxidative treatment of toilet effluents from hospital wards. Envirpharma European Conference; 14-16 avril 2003, Lyon.
 - Marotta R. 2003. Removal of pharmaceutical compounds from aqueous solution by means of ozonation and H₂O₂ photolysis. Envirpharma European Conference, 14-16 avril 2003, Lyon.
4. Publications issues de revues à comité de lecture :
 - Zuccato E., Calamari D., Natangela M., Fanelli R., 2000. Presence of therapeutic drugs in the environment. Lancet. 355: 1789-1790.
 - Swartz T., Kohnen W., Jansen B., Obst U., 2003. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water and drinking water biofilms. FEMS Ecol. Microbiol. 43 : 325-335.
 - Scott K. P., 2002. The role of conjugative transposons in spreading antibiotic resistance between bacteria that inhabit the gastrointestinal tract. Cell. Mol. Life. Sci., 59 : 2071-2082.
 - Shoemaker N. B., Vlamakis H., Hayes K., Salyers A.A., 2001. Evidence for extensive resistance gene transfer among *Bacteroides* spp and among *Bacteroides* and other genera in the human colon. Appl. Environ. Microbiol., 67: 561-568.
 - Paulsen I.T., Barneerjei L., Myers G.S.A, Nelson K.E., Seshadri R., Read T.D., Fouts D.E., Eisen J.A., Eisen S.R., Gill S.R., Heidelberg J.F., Tettelin H., Dodson R.J., Umayam L., Brinjac L., Beanan M., Daugherty S., Deboy R.T., Durbin S., Kolonay J., Madupu R., Nelson W., Vamathevan J., Tran B., Upton J., Hansen T., Shetty J., Khouri H., Utterback T., Radune D., Ketchum K.A, Dougherty B.A., Fraser C.M., 2003 Role of mobile DNA in the evolution of vancomycin – resistant *Enterococcus faecalis*. Science 299: 2071-2074.
 - Aarestrup F.M., Seyfarth A.M., Emborg H.D., Pedersen K., Hendriksen R.S., Bager F., 2001. Effect of abolishment of the use of antimicrobial agents for growth promotion on occurrence of antimicrobial resistance in faecal enterococci from food animals in Denmark. Antimicrob. Ag. Chemother. 45: 2054-2059.

Les rapporteurs de la saisine ont effectué une sélection des documents pertinents dans le dossier bibliographique transmis pour la conduite de l'expertise.

Les publications non scientifiques, les communications par affiche, les résumés de communications parues dans le compte-rendu d'un symposium ne sont pas jugées recevables par les rapporteurs de la saisine. Par contre, les six articles scientifiques issus de revues scientifiques de niveau international à comité de lecture ont fait l'objet d'une synthèse présentée ci dessous.

Par ailleurs, en complément du dossier transmis:

- (i) un travail bibliographique a été mené en collaboration entre l'Afssa – unité d'évaluation des risques liés à l'eau et l'EA 3542 - Santé Publique environnement de la faculté de pharmacie de l'Université Paris Sud 11. Ce travail s'est concrétisé par la réalisation d'un rapport d'étudiant de pharmacie Xavier GAVELLE (2004) intitulé «synthèse bibliographique – antibiorésistance dans les eaux» ayant pour objectif de recenser la majorité des publications mettant en évidence la présence de bactéries antibiorésistantes dans les différents types d'eaux. Une autre synthèse bibliographique intitulée « La résistance bactérienne aux antibiotiques dans les écosystèmes aquatiques » réalisée dans le cadre du rapport de Master Spécialité Recherche « Ecologie, Ecologie microbienne, Evolution », par Emilie LAROCHE (2005) dans le Laboratoire de Microbiologie du Froid UPRES 2123, Groupe Biodiversité et Environnement Université de Rouen a été consultée,
- (ii) une consultation de plusieurs organismes européens a été réalisée par courrier sur leurs travaux en cours sur l'antibiorésistance et les eaux de consommation
- (iii) deux auditions du Syndicat des producteurs et distributeurs d'eau et d'« Eau de Paris » ont été conduites.

1.3 Analyse des six publications sélectionnées

La synthèse ci-dessous a été effectuée à partir des six publications internationales à comité de lecture dont la liste est donnée au paragraphe 1.2.2., comportant une revue (Scott, 2002).

Une étude sur le niveau de contamination en substances pharmaceutiques dans différents environnements aquatiques a été menée en Italie par Zuccato *et al.* (2000). Seize substances dont plusieurs antibiotiques utilisés comme facteur de croissance en élevage (tylosine, tilmicosine, oléandomycine, et spiramycine) ont été dosées dans des eaux de consommation (3 sites), des eaux de rivières et leurs sédiments (3 sites). L'amoxicilline et la ceftazidime ont été exclues de l'étude en l'absence de méthode analytique suffisamment sensible. L'érythromycine, la ceftriaxone, la tylosine, l'oléandomycine, et la spiramycine sont présentes dans les eaux de rivières (0,7 à 17,4 ng.L⁻¹) et dans les sédiments (jusque 600ng. Kg⁻¹). Seule la tylosine est détectée dans les eaux de boisson (1 site sur les 3 testés à des concentrations de 0,6 et 1,7 ng.L⁻¹). La tilmicosine et le ceftriazone n'ont jamais été détectés dans les environnements testés. Ces résultats ne permettent pas de conclure à un risque lié à la présence d'antibiotiques dans les eaux de consommation humaine. Toutefois les auteurs soulignent le fait qu'aucune étude n'a étudié l'effet à long terme des faibles doses.

Dans leurs travaux, Swartz *et al.* (2003) ont étudié différentes espèces de bactéries résistantes aux antibiotiques, et recherché les gènes correspondants dans des biofilms isolés d'eaux de consommation, d'eaux environnementales, des effluents hospitaliers et de boues activées de stations d'épuration. Des staphylocoques résistants à la méthicilline et le gène *mecA* codant la résistance à la méthicilline n'ont été détectés que dans des biofilms d'effluents hospitaliers. Les entérocoques résistants à la vancomycine ont été isolés dans tous les environnements à l'exception des eaux de consommation. Dans cet environnement, un des gènes de résistance à la vancomycine chez les cocci Gram + (*vanA*) a été amplifié par PCR, alors que l'absence d'ADNr23S spécifique des trois espèces d'entérocoques étudiées avait confirmé l'absence de ces bactéries, y compris sous une forme non

cultivable. Des résultats similaires ont été observés pour les entérobactéries résistantes à l'ampicilline : des souches résistantes ont été isolées dans tous les environnements testés à l'exception des eaux de consommation. Le gène *ampC* a été amplifié par PCR à partir d'ADN total extrait de biofilms alors qu'aucune souche d'entérobactérie ou d'*Escherichia coli* n'avait été isolée de cet environnement. L'espèce n'a pas été recherchée par une méthode moléculaire, ce qui ne permet pas d'exclure l'hypothèse de bactéries présentes à l'état viable non cultivable. Lors de cette étude, il n'a pas été possible d'amplifier les gènes *ampC* et *vanA* chez les bactéries hétérotrophes isolées de biofilms des eaux de consommation, ce qui suggère l'absence de transfert interspécifique de ces gènes chez ces bactéries.

La revue de Scott (2002) et les travaux de Shoemaker *et al.* (2001) décrivent l'existence d'un transfert horizontal de gène de résistance intra et interspécifique chez les bactéries anaérobies présentes dans la flore intestinale humaine. A partir de l'analyse de l'homologie des séquences d'ADN codant les gènes de résistances à la tétracycline (*tet Q*) et à l'érythromycine (*ermF* et *ermG*), il a été possible de montrer que ces gènes avaient été acquis lors de transferts horizontaux chez des souches de *Bacteroides*, de *Clostridium perfringens*, de *Bacillus sphaericus* et *Butyrivibrio fibrisolvens*. La présence de ces gènes sur des transposons conjugatifs favorise une dissémination importante avec possibilité de franchissement de la barrière d'espèces comme le montre le transfert du gène de résistance à la tétracycline au sein du genre *Bacteroides* mais aussi entre *Bacteroides* et *Clostridium perfringens* ou entre *Clostridium perfringens* et *Butyrivibrio fibrisolvens*. L'ensemble de ces résultats a été obtenu lors d'expériences de conjugaison sur filtre et il existe peu d'études publiées sur modèles animaux. Toutefois dans sa revue bibliographique, Scott (2002) rapporte les résultats d'expérimentation *in vivo* (sur souris gnotobiotique) où il a été possible de démontrer le transfert du transposon Tn 1545 d'*E. faecalis* chez *Listeria monocytogenes* avec une fréquence de transfert de $1,1 \times 10^{-8}$, qui augmente d'un facteur 10 lorsqu'il y a une pression de sélection par traitement antibiotique. De même, la fréquence de transfert du plasmide conjugatif pAM β 1 entre *Lactococcus lactis* et *E. faecalis* est de 10^{-4} chez la souris en présence d'une pression de sélection aux antibiotiques. Ces résultats soulignent l'importance du traitement médicamenteux sur les fréquences de transfert de gènes au sein de la microflore intestinale. Le séquençage récent du génome complet de la première souche d'*E. faecalis* présentant une résistance à la vancomycine (Paulsen *et al.* 2003), montre que près de 25 % de son génome est constitué d'éléments génétiques mobiles et d'ADN acquis par transfert horizontal. Ces événements jouent un rôle déterminant dans l'évolution du génome de ces bactéries pathogènes et la présence des gènes de résistance à la vancomycine sur des transposons conjugatifs ou des plasmides, est un des facteurs favorisant la dissémination de cette résistance chez de nombreuses bactéries pathogènes impliquées dans des maladies nosocomiales.

L'étude menée par Aarestrup *et al.* (2001) relève plus du danger lié à la présence de bactéries résistantes aux antibiotiques dans les viandes. Ces travaux effectués au Danemark portent sur la relation entre l'usage intensif d'antibiotique comme facteur de croissance dans les élevages de porcs, et la résistance aux antibiotiques d'*Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* isolés de ces animaux. Ils démontrent que la diminution de l'usage des antibiotiques (avoparcine, tylosine, virginiamycine, avilamycine) consécutive à la mise en place d'un nouveau cadre réglementaire au Danemark, s'accompagne d'une diminution de l'occurrence des souches d'entérocoques résistantes à ces antibiotiques. Ils confirment l'importance de la pression de sélection exercée par l'usage des antibiotiques dans les élevages animaux sur des souches d'entérocoques tout en démontrant l'aspect réversible de ce phénomène.

1.4 Consultation d'organismes européens

Faisant suite à la demande des rapporteurs, l'Afssa a sollicité par courrier les organismes européens suivants :

- KIWA, Pays Bas,
- EAWAG, Suisse
- Water Technology Center, Allemagne

- Water Research CPL, Grande Bretagne
Les trois premiers organismes ont répondu par courriel.

La réponse de l'EAWAG (M. Thomas Egli) indique qu'actuellement, il n'existe pas de programme de routine visant à tester l'antibiorésistance de souches d'*E. coli* isolées dans l'eau de consommation.

La réponse du «Water Technology Center» allemand (Andreas Thielm) indique qu'une étude bibliographique sur ce sujet a été conduite et a donné lieu à un rapport en allemand, non publié.

La réponse du KIWA (Gertjan Medema) indique que ce sujet fait l'objet, depuis plusieurs années, d'un suivi actif de la bibliographie sans toutefois que le KIWA conduise des recherches expérimentales considérant que, du fait de l'abattement dû aux traitements, l'exposition de l'homme à ces bactéries par l'eau est beaucoup plus faible que via les autres voies, notamment la voie alimentaire.

2 Eléments de réponse aux deux questions posées par la saisine

2.1 Transfert de bactéries antibiorésistantes et flux de gènes par voie hydrique (éléments de réponse à la première question de la saisine¹)

Dans ce paragraphe, les rapporteurs ont souhaité décrire la présence et le transfert de gènes ou de bactéries antibiorésistantes depuis leur réservoir d'origine à l'homme *via* les eaux de consommation, ainsi que les facteurs déterminant ces mécanismes.

L'eau peut être naturellement potable ou débarrassée de microorganismes pathogènes inactivés ou tués par des traitements physiques ou chimiques. La présence dans l'eau de consommation humaine de bactéries, antibiorésistantes ou non, susceptibles d'induire un risque sanitaire peut résulter d'une contamination accidentelle en cours de distribution, d'une croissance de bactéries autochtones au milieu aquatique ou de la survie de bactéries allochtones à cet environnement ayant franchi la barrière de traitement.

La figure «Transfert de bactéries antibiorésistantes et flux de gènes par voie hydrique» présente les différents environnements où peuvent se produire la diffusion ou la multiplication des bactéries résistantes et le transfert de gènes dans des réservoirs humains ou animaux le long du continuum sol/eaux de surface/eaux souterraines/eaux de consommation. Dans ce schéma, les environnements « réservoirs humains et animaux », « eau » et « sols », sont considérés comme des « sources potentielles » car ce sont des lieux favorables à la sélection et/ou la multiplication de bactéries résistantes. Il peut également s'y produire des transferts de gènes de résistance à des bactéries autochtones au milieu aquatique. D'autres environnements sont jugés défavorables au maintien de bactéries antibiorésistantes, considérés comme des «barrières ou puits² ». Une diminution importante de la communauté bactérienne, pouvant parfois atteindre 99 % à 99,99 % (2 à 4 logs) peut y être observée.

Le schéma se structure en 3 niveaux :

Le premier niveau (pisciculture, élevage bovin, porcin ou de volailles, communauté humaine) représente des réservoirs et des sources émetteurs consécutifs à des traitements préventifs ou curatifs par des antibiotiques. La source fécale est sans doute la source principale ; toutefois des bactéries aquatiques antibiorésistantes peuvent apparaître au sein des piscicultures³

Le second niveau représente les environnements terrestres et aquatiques qui ont à la fois :

- ✓ un rôle de «barrière ou de puit ». Par exemple⁴, pour un sol filtrant alimentant une nappe souterraine, sur lequel seraient épanchées des eaux usées⁵, on estime à environ 3 log l'abattement en bactéries indicatrices de contamination fécale par mètre. Beaudeau et al. (2001) estiment que la réduction de 90% du nombre d' *E. coli* pour une eau de rivière va de 2 heures à plusieurs jours selon le gabarit de la rivière et la température de l'eau, la prédation naturelle représentant le principal facteur de disparition jusqu'à 10m³/h⁶ .
- ✓ un rôle « source » quand cet environnement est propice aux sélections de bactéries antibiorésistantes et aux transferts éventuels de gènes. Ainsi des environnements naturels contaminés à la fois par les métaux traces et sujets à des contamination d'origine fécale favoriseraient l'émergence de bactéries multi-

¹ les notions relatives à l'antibiorésistance sont définies en annexe.

² Environnement ou le patrimoine génétique peut être maintenu de façon transitoire

³ Responsible use of antibiotics in aquaculture, 2005, FAO fisheries technical paper Rome, n° 468, 97 p.

⁴ ordres de grandeur mesurés sur des bactéries indicatrices de contamination fécale

⁵ Procédés extensifs d'épuration des eaux usées , 2001 Office des Publications des Communautés Européennes, ISBN 92-894-1690-4.

⁶ Beaudeau *et al.*, 2001, Water Research Vol. 35,n°13, 3168-78

résistantes aux antibiotiques et aux métaux lourds, les gènes de résistances étant portés sur un même support génétique (Miranda et Castillo, 98⁷; Dhakephalkar et Chopade 94⁸, Davies *et al*,⁹ 04).

A ce niveau, la station d'épuration (boues activées ou lits bactériens) par où transitent les effluents d'origines humaines et animales, notamment d'abattoirs, peut jouer également ce double rôle : environ 2 log d'abattement de bactéries indicatrices de contamination fécale sont attendus mais, en parallèle, des floccs de boues activées ou de zoogloées pour les lits bactériens sont potentiellement propices aux sélections et aux transferts de gènes d'antibiorésistance.

Le 3^{ème} niveau présente l'action de barrière vis-à-vis de toutes les bactéries des traitements d'eau potable (sites «barrière ou puit»). Ainsi, environ 4 log d'abattement sont attendus pour une simple chloration sur un captage d'eaux souterraines non influencées par des eaux de surface et 5 à 6 log d'abattement pour des filières complètes comportant des étapes de floculation – décantation – filtration – désinfection, sur une prise d'eau de surface¹⁰. Pour autant, dans les ouvrages de distribution d'eaux tel que les réservoirs et châteaux d'eaux, les réseaux publics d'adduction et les réseaux intérieurs, les biofilms, sans que cela ne soit démontré, pourraient potentiellement être le lieu d'échange de gènes de résistance dans la communauté de bactéries autochtones (rôle « source »).

Afin de répondre à la question de la saisine portant sur les étapes sensibles nécessitant des actions de correction, les rapporteurs estiment que le gestionnaire peut agir sur les pressions de sélection (niveau1) et les risques de transfert (niveau 3).

Ainsi, :

- niveau 1 : toute mesure visant à limiter les traitements par antibiotiques va dans le sens d'une diminution de la pression de sélection,
- niveau 3 : toute mesure visant à améliorer la fiabilité des filières de traitement d'eau de distribution et à limiter la formation des biofilms va dans le sens d'une diminution des risques de transfert.

⁷ Miranda et Castillo, 1998, Sci Total Environ vol 224 :167-176

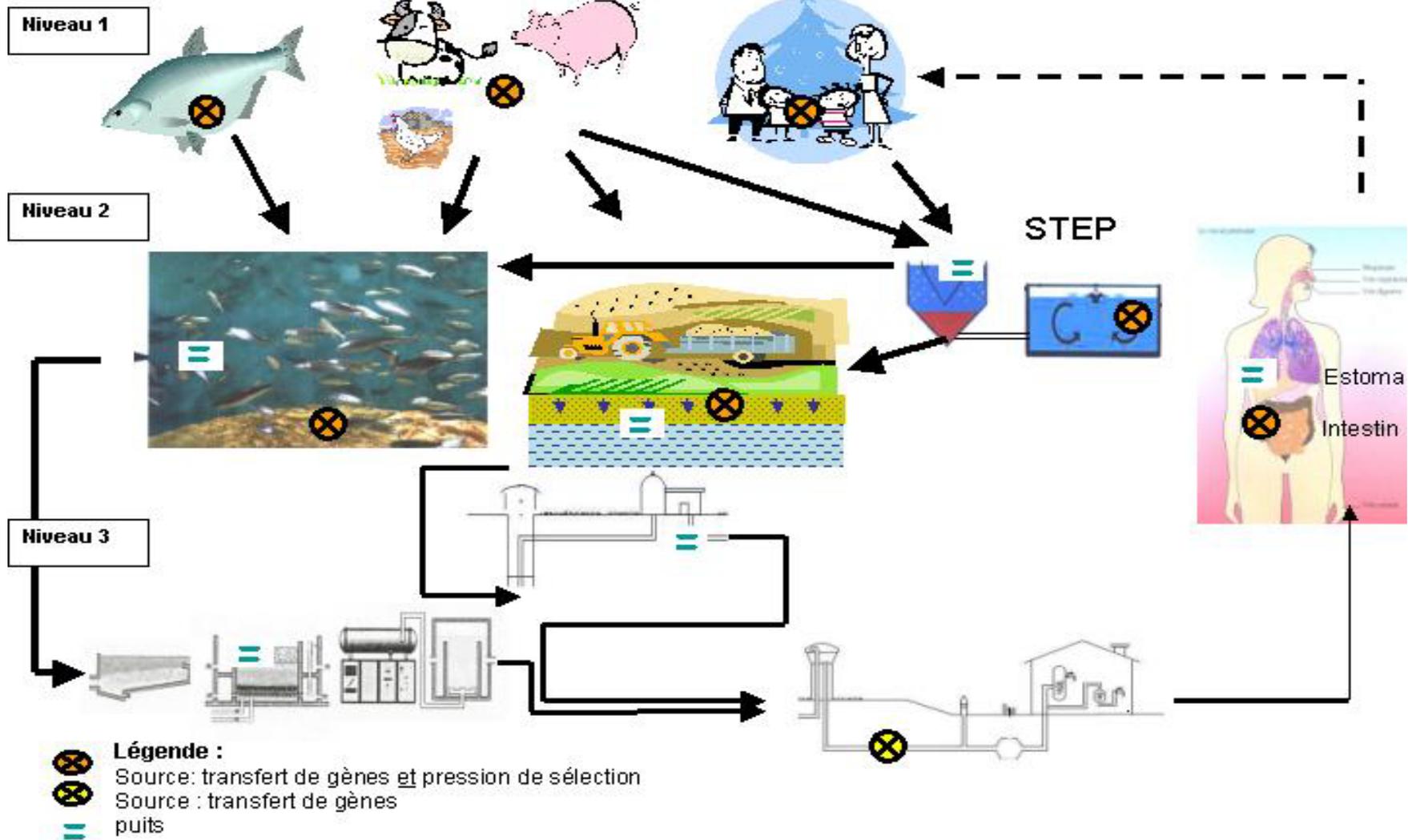
⁸ Dhakephalkar et Chopade, 1994, Biometals vol 7 : 67-74

⁹ Davies et al, 2004, Plamid vol 54 : 26- 38.

¹⁰ données d'ingénierie

Transfert de bactéries antibiorésistantes et flux de gènes par voie hydrique

Bactéries fécales et antibiorésistance – Cycle eaux de surface / AEP



2.2. Eléments d'approche du risque et estimation de l'exposition humaine à des bactéries antibiorésistantes dans l'eau de distribution publique (*éléments de réponse à la deuxième partie de la saisine*)

Les rapporteurs ont souhaité proposer une description, à l'aide des données disponibles, parfois parcellaires, du risque pour l'homme lié à la présence potentielle de bactéries antibiorésistantes. Dans la suite de l'exposé, seront étudiés séparément deux scénarii : (2.2.1) introduction de bactéries témoins de contamination fécales et (2.2.2.) apport de bactéries autochtones de l'eau antibiorésistantes.

Le raisonnement est basé sur la réglementation de l'eau destinée à la consommation humaine, à savoir :

- les limites de qualité correspondant à l'absence de bactéries indicatrices de contamination fécale dans 100 mL d'eau prélevée (eau du robinet) ou 250 mL (eaux embouteillées). La réglementation repose sur le fait que cette valeur seuil correspond à une absence de bactéries pathogènes d'origine fécale.
- les limites de qualité pour les autres indicateurs de contamination fécale que sont les entérocoques fécaux (absence dans 100 mL) et les coliformes totaux (absence dans 100 mL).
- la référence de qualité qui est de 10 UFC/mL pour les bactéries aérobies revivifiables à 37°C et de 100 UFC/mL pour les bactéries revivifiables à 22°C. Certaines de ces bactéries peuvent être des bactéries autochtones de l'eau.

2.1.1 Probabilité qu'une bactérie témoin de contamination fécale franchisse une filière de traitement

Le tableau I présente les résultats des non-conformités microbiologiques des eaux de distribution pour les années 2003 et 2004 en France. Il est à noter que ces données ne concernent que les eaux distribuées et ne peuvent être appliquées aux eaux en bouteille.

Tableau I : Résultats de non-conformité des eaux de consommation humaine en France pour le paramètre *E. coli* (2003-2004)

Classe de population de l'Unité de distribution		0-499	500-1999	2000-4999	5000-9999	10000-49999	>50000	Total
Nombre de mesures	Total	84 071	65 588	51 278	36 221	62 894	61 256	361 308
	Non-conformes	7 763	1 222	396	204	157	94	9 836
Pourcentage de non-conformité		9,2%	1,9%	0,8%	0,6%	0,2%	0,2%	2,7%

Source : base nationale SISE-Eaux DGS/directions régionales des affaires sanitaires et sociales / directions départementales des affaires sanitaires et sociales

La fréquence de la non-conformité microbiologique apparaît d'autant plus élevée que la population desservie est faible. Elle est ainsi de un peu plus de 9% pour une population comprise entre 0 et 499 habitants, et de 0,2% pour une population supérieure à 50 000 habitants avec une valeur moyenne de non-conformité de 2,7% (361308 mesures).

Il est donc nécessaire de prendre en compte cette très faible fréquence de non-conformité et les faibles concentrations associées dans l'évaluation du risque qu'une bactérie témoin de contamination fécale ou qu'une bactérie pathogène d'origine fécale franchisse une filière de traitement.

2.1.2 Scénarii d'exposition de l'homme à des bactéries antibiorésistantes autochtones de l'eau.

Les étapes qui pourraient conduire :

- à l'arrivée dans le tube digestif d'un consommateur d'eau d'une bactérie antibiorésistante autochtone de l'eau,

et éventuellement :

- à son implantation dans le tube digestif,
- au déclenchement d'un processus infectieux,
- au transfert de la résistance aux bactéries intestinales,

sont décrits ci-dessous.

Les scénarii étudiés supposent connue la fréquence de résistance simultanée à plusieurs familles d'antibiotiques (FA) chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif de la flore aquatique présente dans les eaux de consommation. Ces valeurs n'existant pas dans la littérature, il a été choisi arbitrairement d'utiliser la fréquence de résistance à deux antibiotiques chez *E. coli* isolée dans l'eau de distribution publique (FA = 20%) (Leclerc *et al.*, 1978¹¹). Il est probable que cette fréquence soit plus faible pour les bactéries de l'environnement qui ne subissent pas la même pression de sélection par les antibiotiques que *E. coli*.

Il est considéré que les bactéries ingérées vont subir des stress dus à l'acidité gastrique et aux sels biliaires dans le début de l'intestin, qui conduisent à une réduction de leur nombre (taux R) estimé à 10^{-1} à 10^{-2} .

Deux scénarii sont envisagés en fonction du processus infectieux et de l'état immunologique du consommateur :

a) scénario 1 : infection

- **Probabilité pour une bactérie autochtone de l'eau de coloniser la flore intestinale** : la fréquence de colonisation FC est pratiquement nulle aussi bien pour un immuno-compétent que pour un immuno-déprimé ;
- **Probabilité pour une bactérie autochtone de l'eau qui posséderait un potentiel de virulence capable de déclencher une gastro-entérite** : la fréquence de développement d'une gastro-entérite par une telle bactérie n'est pas connue et donc non chiffrable, elle est probablement très faible pour un immuno-compétent et plus élevée pour un immuno-déprimé. Ce scénario pourrait conduire à un échec thérapeutique si la résistance correspondait à l'antibiotique prescrit. Il faut souligner qu'en l'absence de signes cliniques aggravés, les antibiotiques ne doivent pas être prescrits.
- **Probabilité pour une bactérie autochtone de l'eau qui possède un potentiel de virulence lui permettant de franchir la barrière intestinale et d'envahir l'organisme**. La fréquence de translocation et d'invasion (FE) par une telle bactérie est pratiquement nulle pour un immunocompétent. Cette possibilité peut exister pour un immunodéprimé, elle n'est cependant pas connue, donc non chiffrable. Ce scénario pourrait conduire à un échec thérapeutique si la résistance correspondait à l'antibiotique prescrit en cas d'aggravation clinique.

¹¹ Leclerc H. Mizon F., 1978, Eaux d'alimentation et bactéries résistantes aux antibiotiques. Incidence sur les normes. Revue d'épidémiologie, de médecine sociale et de santé publique.

b) scenario 2 : transfert de gènes:

- **Probabilité de transfert de gènes de résistance aux antibiotiques d'une bactérie autochtone de l'eau vers des bactéries de la flore intestinale** : la fréquence de ce transfert FB est estimée entre 10^{-4} et 10^{-8} selon les travaux de Scott (2002).
- **Probabilité du maintien des gènes de résistance aux antibiotiques acquis dans la flore intestinale**. Les travaux de Corpet¹² montrent l'importance d'un apport continu par l'alimentation d'une flore résistante pour le maintien de cette résistance dans le tube digestif.
- **Probabilité de transfert des gènes de résistances aux antibiotiques acquis dans la flore intestinale vers une bactérie pathogène responsable d'une infection**. La fréquence de ce transfert F n'est pas connue.

Pour information, il est rappelé que l'OMS utilise la valeur de 2 L / jour et par personne pour les calculs de limites de qualité. En conclusion, la possibilité pour que les scénarii décrits ci-dessus se réalisent est de nulle à négligeable pour un consommateur immunocompétent qui boit l'eau à partir d'un réseau en état et sans contamination chronique, et négligeable à faible pour un consommateur pour lequel les défenses immunitaires sont altérées qui boit l'eau à partir d'un réseau en état et sans contamination chronique.

¹² D E Corpet. Antibiotic residues and drug resistance in human intestinal flora. Antimicrob Agents Chemother. 1987 April; 31(4): 587–593.

3 Conclusion

Les eaux continentales superficielles et, à un degré moindre, certaines eaux souterraines peuvent être considérées comme vecteurs potentiels de bactéries présentant les caractères d'antibiorésistance par sélection naturelle ou par pression après usage d'antibiotiques.

Cependant, au vu des connaissances scientifiques actuelles, les eaux destinées à la consommation humaine en France, par suite des traitements de potabilisation qui constituent plusieurs barrières vis-à-vis de la contamination par des bactéries éventuellement antibiorésistantes, ne peuvent être considérées comme un milieu favorisant l'augmentation de l'antibiorésistance bactérienne et à plus forte raison, comme une voie d'exposition pouvant entraîner des conséquences sur la santé humaine.

Après consultation d'organismes compétents de différents pays étrangers dont des pays européens, la problématique de Santé Publique de la contamination des eaux par des bactéries antibiorésistantes ou par des substances à visée antibiotique ne paraît pas actuellement une problématique prioritaire. Cependant, une étude de faisabilité en cours menée par l'institut Pasteur et financée par l'Afssa devrait permettre d'évaluer la concentration des bactéries antibiorésistantes aux antibiotiques dans les affluents et les effluents d'un établissement hospitalier.

En tout état de cause, l'utilisation raisonnée des substances antibiotiques doit rester une priorité d'action et de recommandations, et celle-ci doit être réservée exclusivement à des fins thérapeutiques sous la stricte surveillance des prescripteurs de santé humaine et animale. Les rapporteurs souhaitent que l'utilisation d'antibiotiques au sein des piscicultures soit évaluée vis à vis des pratiques.

Il est cependant indispensable d'attirer l'attention sur la nécessité de maintenir un niveau constant de veille sur la problématique générale de l'antibiorésistance bactérienne à travers, entre autres, l'acquisition de connaissances aussi bien fondamentales qu'appliquées sur les mécanismes généraux de transfert et leur réalité dans les « lieux d'échange » mentionnés dans le chapitre « Transfert de bactéries antibiorésistantes et flux de gènes par voie hydrique » et particulièrement les biofilms dans les réseaux de distribution.

En accord total avec les conclusions du rapport « Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine » de l'Afssa, les rapporteurs rappellent la nécessité de l'amélioration des outils de l'information (données sur les usages et sur la résistance bactérienne) et l'importance des actions sur l'alerte, la surveillance et l'anticipation des risques, pour l'homme, liés à la résistance bactérienne.

Enfin, les rapporteurs étendent leurs recommandations à l'accroissement de la vigilance dans le contrôle de la qualité microbiologique des eaux de consommation et la maîtrise de la fiabilité des filières de potabilisation.

ANNEXE

Les extraits de texte ci-dessous reprennent intégralement une partie du rapport de l’Afssa «Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine».

1. notions relatives à l’antibiorésistance

«La définition de la résistance aux antibiotiques est fonction de différents points de vue qui émanent du clinicien, du pharmacologue, du bactériologiste. La classification des bactéries en sensible, intermédiaire ou résistante évolue en fonction de l’acquisition des connaissances et doit être comprise selon le contexte de son utilisation pour des raisons de diagnostic, de définition des conditions d’utilisation des médicaments ou de surveillance épidémiologique. Deux notions de la résistance acquise sont aujourd’hui définies. La première concerne le phénotype de résistance acquise mise en évidence au laboratoire par rapport à la population des souches sauvages sensibles. Elle se définit par rapport à une valeur seuil « Breakpoint » épidémiologique. La seconde est celle définie d’un point de vue clinique et pharmacologique comme une concentration minimale inhibitrice ne permettant pas d’atteindre chez la majorité des patients, des valeurs seuils de critères pharmacologiques prédisant le succès clinique et bactériologique. Les travaux menés dans ce domaine en médecine vétérinaire sont rares.

Les mécanismes de résistance sont variés, mais on peut les classer en trois catégories principales (Tableau I).

Résistance naturelle

Pour chaque classe d’antibiotique, il existe des espèces bactériennes sur lesquelles l’antibiotique est inactif par défaut de cible ou d’accès à la cible. On parle d’espèces bactériennes naturellement résistantes et de mécanismes de résistance intrinsèques. Ceci peut être dû à l’absence de la cible (comme l’absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux bêta-lactamines) ou encore à l’absence de pénétration de l’antibiotique (rôle de la membrane externe par exemple chez les bactéries Gram négatifs avec la vancomycine).

Tableau I : Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Catégories	Mécanismes	Familles concernées
Inaccessibilité à la cible «blindage»	Système actif d’efflux hors de la cellule	Tétracyclines, macrolides, phénicolés, quinolones, bêta- lactamines
	Diminution de la perméabilité	Phénicolés, tétracyclines
Inactivation	Inactivation enzymatique de l’antibiotique	bêta-lactamases, estérases (macrolides), phosphorylases (aminosides, macrolides), acétyltransférases (chloramphénicol)
Esquive ou camouflage	Modification /protection de la cible (par mutation ou voie enzymatique) Court circuit de voie métabolique utilisée	Triméthoprim-sulfamides, tétracyclines, macrolides, bêta- lactamines, fluoroquinolones ...

Résistance acquise

Les bactéries peuvent également acquérir la résistance à un antibiotique. Cette acquisition peut être liée à une (des) mutation(s) modifiant la cible de l'antibiotique, ou un schéma métabolique (Chopra 2003). Cette acquisition peut être la conséquence d'un transfert horizontal, y compris entre espèces éloignées phylogéniquement. Les gènes de résistance aux antibiotiques chez les micro-organismes producteurs (et par lesquels ils résistent à leurs propres produits) sont généralement localisés sur le chromosome. Le transfert de ces gènes sera rendu plus efficace après leur intégration sur des éléments mobiles tels que plasmides, transposons, intégrons (Rowemagnus 2001) ou encore sur des phages. Ces mécanismes de résistance peuvent alors diffuser très rapidement dans une population (Licht 1999).»

2. Relation entre résistance aux antibiotiques et virulence

« La possibilité d'une relation entre la résistance aux antibiotiques et la virulence est une question ancienne et récurrente pour laquelle il n'y a pas de réponse unique et simple. La question posée peut être envisagée à différents niveaux : est-ce que certains mécanismes peuvent être communs à la résistance aux antibiotiques et à la virulence des souches, et est-ce que des gènes de résistance aux antibiotiques et des gènes impliqués dans la virulence peuvent être simultanément présents sur des structures génétiques stables et éventuellement transmissibles. A ces deux niveaux, la pression de sélection par les antibiotiques pourrait favoriser la sélection de souches virulentes.

Sur le premier point, on peut prendre l'exemple de bactéries résistantes aux quinolones. Il a été démontré chez *E. coli* et *Salmonella* qu'un des mécanismes impliqués est l'efflux actif d'antibiotiques. Les pompes d'efflux impliquées, par exemple le système *acrAB-tolC*, ont une faible spécificité et sont capables d'exporter différentes molécules autres que des antibiotiques tels que les sels biliaires. La surexpression de telles pompes chez les bactéries résistantes à ces antibiotiques exportés confère également la résistance aux sels biliaires. Cette propriété favorise la colonisation du tube digestif par les bactéries résistantes.

Au delà de cette relation directe, des relations indirectes et variées existent, par exemple, au niveau des régulations bactériennes, du quorum-sensing.

Sur le second point, on peut s'interroger sur la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans les îlots de pathogénicité (PAI) décrits chez différentes espèces bactériennes, ou sur la présence de gènes liés à la virulence dans des éléments chromosomiques mobiles porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques tels que les constins (conjugative, self-transmissible, integrating) décrits chez *Vibrio cholerae* ou le SG11 de *Salmonella* (cf. texte rapport). Le seul exemple confirmé est celui du PAI de *Shigella flexneri* qui comporte un locus de multirésistance à l'ampicilline, streptomycine, chloramphénicol et tétracyclines, mais également un système de transport de fer impliqué dans la virulence.

Les plasmides qui sont les principaux vecteurs de dissémination de gènes de résistance peuvent également véhiculer des gènes impliqués dans la virulence. On peut ainsi citer la présence sur des plasmides de résistance de gènes codant la synthèse de bactériocines chez *Citrobacter*, de sidérophores chez *E. coli*, de cytotoxines chez *Vibrio cholerae* et *E. coli*, ou de facteurs d'adhésion chez *E. coli*. »