

La dissémination dans l'environnement des gènes de résistances aux antibiotiques issus de l'élevage

Michel GAUTIER | mgautier35@yahoo.fr

Agrocampus Ouest-Inra, UMR STLO, Rennes

Mots clés : Antibiotique, bactéries, digestion anaérobie, élevage, environnement, lagunage, résistance, transfert de gènes

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème mondial majeur de santé publique sur lequel la communauté scientifique, qu'elle soit issue des secteurs hospitaliers, agronomiques ou vétérinaires, se mobilise particulièrement. De nombreux travaux de recherche visent à développer des alternatives à ces molécules. Leur application nécessite la compréhension des mécanismes impliqués dans l'émergence et la diffusion des souches résistantes aux antibiotiques. Une des origines de ce phénomène a été l'utilisation importante d'antibiotiques en élevage, ce qui a conduit à la sélection de bactéries porteuses de gènes codant ces résistances. Certains de ces gènes de résistance peuvent être transférés ensuite à d'autres bactéries. Si les mécanismes moléculaires impliqués dans ces transferts de gènes sont assez bien connus, il n'en est pas de même pour ce qui concerne leur fréquence et leur importance pour l'environnement, notamment en élevage. La première publication présente une analyse de la prévalence de gènes codant pour ces résistances dans l'environnement d'exploitations de vaches laitières. La seconde évalue l'efficacité de certains systèmes de traitement d'effluents d'élevage de porcs, afin de réduire la diffusion de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement.

Etude, par les techniques de métagénomique, de la prévalence et de la diversité des gènes de résistance aux antibiotiques dans des exploitations laitières

Pitta D-W. et al. (2016). Metagenomic evidence of the prevalence and distribution patterns of antimicrobial resistance genes in dairy agroecosystems. *Foodborne pathogens and disease*, vol.13(6): p296-302

Résumé

L'objectif de ce travail était d'évaluer la diversité des gènes de résistance aux antibiotiques, dans différents microbiomes* de cinq exploitations américaines (Pennsylvanie) de vaches laitières, sélectionnées pour une présence notable de bactéries pathogènes et/ou résistantes aux antibiotiques. Les auteurs ont utilisé des techniques de métagénomique* afin d'identifier les gènes de résistance aux antibiotiques présents dans 3 écosystèmes : fèces, fumures et sols. Pour cela, l'ADN total des échantillons analysés a été séquencé et comparé à une base de données recensant les gènes de résistance aux antibiotiques connus et à une autre, permettant l'identification des phylums* bactériens. Les résistomes* ainsi identifiés pouvaient constituer jusqu'à 1% des gènes bactériens présents dans les échantillons et variaient selon le secteur et l'exploitation. Cent trente-cinq gènes répartis dans 18 classes de résistances aux antibiotiques ont été détectés, témoignant ainsi d'une grande diversité. Une des cinq exploitations était caractérisée par une dissémination notable de ces gènes dans les trois écosystèmes. La majorité de ces gènes provenait du phylum des *Proteobacteria* dans lequel de

nombreux pathogènes de l'homme et de l'animal sont retrouvés. Ces résistances étaient aussi hébergées par de nombreuses bactéries commensales* pouvant devenir pathogènes opportunistes. Les gènes de résistance aux antibiotiques ont été aussi retrouvés dans les phylums des *Bacteroidetes* et des *Firmicutes* qui sont connus pour être fortement impliqués dans les transferts génétiques horizontaux*. Les populations microbiennes possédant ces gènes étaient différentes selon les types de prélèvement, suggérant ainsi un transfert génétique entre les flores : ceux-ci ont été plus importants des fèces vers les fumures que des fumures vers le sol.

Commentaire

Les résistances aux antibiotiques sont plus souvent recherchées chez les bactéries pathogènes isolées d'animaux, d'aliments ou de prélèvements cliniques, leur présence dans les flores commensales fait l'objet de peu de travaux. Or, celles-ci étant beaucoup plus importantes en nombre et en diversité que la flore pathogène, participent probablement de manière importante aux transferts horizontaux des gènes codant ces résistances. Le résistome décrit ici est très diversifié, et ne peut faire état que des gènes de résistance déjà connus sans toutefois tenir compte de l'expression de ces gènes: certains ne peuvent s'exprimer que dans certaines conditions tandis que d'autres peuvent ne pas s'exprimer du tout car non fonctionnels. De plus, certaines espèces bactériennes ainsi que certaines spores sont plus difficiles à lyser* que d'autres, leur génome pourra en conséquence être moins représenté dans les séquences. Cette moindre représentation est aussi valable pour les flores minoritaires des microbiotes étudiés. Quoiqu'il en soit,

ce travail donne une bonne idée de la capacité d'un environnement à être un réservoir de gènes et rejoint des observations précédemment effectuées (1,2). La diversité de ce résistome reflète l'impact de l'utilisation importante des antibiotiques en élevage sur la sélection de bactéries résistantes à ceux-ci. Une observation très intéressante est que différents écosystèmes vont plutôt être contaminés, non pas à partir d'une espèce bactérienne qui va les coloniser successivement, mais à partir de plusieurs espèces qui vont acquérir ces gènes par transfert horizontal. La dissémination des gènes de résistance varie cependant d'une exploitation à l'autre, mettant ainsi en évidence des paramètres environnementaux qui n'ont pas été identifiés et qu'il reste à découvrir. Il aurait été intéressant de suivre dans le temps les prévalences de ces gènes de résistance. Enfin, il s'agit d'une étude très globale qui mérite d'être affinée, en démontrant plus clairement l'existence de ces transferts horizontaux, notamment en identifiant plus précisément les espèces bactériennes impliquées ainsi que les éléments génétiques mobiles mis en jeu.

Le transfert, vers l'environnement, des antibiotiques et des gènes de résistance aux antibiotiques provenant des déchets issus des exploitations porcines, représente un risque pour la qualité de l'eau et des aliments

He L.-Y. et al. (2016). Discharge of swine wastes risks water quality and food safety: antibiotics and antibiotic resistance genes from swine sources to the receiving environments. *Environment International*, vol.92; p:210-19.

Résumé

Cette publication rapporte la recherche de gènes de résistance aux antibiotiques dans l'environnement de trois exploitations industrielles chinoises de porc possédant des systèmes de traitement des eaux usées (lagunage* seul ou accompagné d'un digesteur anaérobie*). Vingt-deux gènes conférant la résistance aux sulfamides, tétracyclines, chloramphénicol et macrolides ont été recherchés par PCR quantitative (qPCR*) tout au long de la chaîne de traitement et d'utilisation des déchets organiques issus de ces élevages (lisier, eaux traitées, sols fertilisés et légumes issus de ces sols). Une recherche de 18 antibiotiques correspondant à ces résistances a aussi été effectuée. La plupart de ces gènes de résistance, ainsi que les antibiotiques, ont été retrouvés après traitement des eaux usées, notamment dans l'eau des rivières où étaient rejetés les effluents issus des stations de traitement, ainsi que dans les sols et les légumes. La présence de ces gènes a également été détectée en profondeur dans le sol. Enfin la mise en évidence fréquente par qPCR de gènes impliqués dans les transferts horizontaux (intégrons*) laisse supposer que ces derniers sont fréquents dans les écosystèmes concernés.

Commentaire

Même si ce travail présente le même biais technique dans la précédente publication, puisqu'ici aussi on recherche les gènes et non les bactéries, il montre que les traitements, par lagunage et méthanisation des effluents issus des élevages

de porcs ne suffisent pas à éliminer les gènes codant les résistances aux antibiotiques. Ce résultat déjà observé par d'autres équipes (3) n'est pas étonnant, car le but de ces stations d'épuration est d'éliminer les matières organiques en suspension, en promouvant la croissance puis la décantation des microorganismes qui s'en nourrissent. Il n'en demeure pas moins que les effluents débarrassés de leur matière organique, sont encore très riches en microorganismes. Dans cette étude, ces effluents sont rejetés dans la rivière ou utilisés pour la culture des légumes. Lors du lagunage et du séjour dans le digesteur anaérobie, la flore microbienne du lisier va se modifier en diversité et quantité (4). Cependant, il est fort probable que, durant ces procédés, des échanges de gènes se produisent entre les bactéries provenant de l'animal et les bactéries environnementales, favorisant ainsi la diffusion des gènes de résistances aux antibiotiques. De plus, certaines bactéries résistantes à ces molécules sont capables de survivre à ces différentes étapes de traitement et se retrouver par la suite dans les cultures ou les rivières. La présence d'antibiotiques dans les écosystèmes contaminés par ces eaux traitées permet une pression de sélection favorisant le maintien des bactéries possédant les gènes de résistance à ces antibiotiques. La présence de gènes de résistance dans les cultures, observée aussi par d'autres équipes (5), est préoccupante car certains légumes étant ingérés crus, ils peuvent devenir des vecteurs de transmission de ces résistances à l'homme.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux relatés soulignent, le risque d'émergence et de diffusion de gènes de résistance aux antibiotiques, dans les élevages utilisant ces derniers, notamment dans les pays employant les antibiotiques comme facteurs de croissance, comme c'est le cas ici. Ces gènes vont, à partir des déchets rejetés par les animaux, contaminer l'environnement. Si les bactéries les véhiculant ne sont pas toujours aptes à coloniser les nouveaux écosystèmes rencontrés (rivière, sol, végétaux etc.), elles sont, en revanche, capables de transmettre certains de leurs gènes à une flore plus adaptée. La persistance, dans cet environnement, de nombreux antibiotiques maintiendra ensuite une pression de sélection positive sur ces bactéries. Les procédés de traitement des déchets animaux les plus courants, dont le compostage, ne permettent pas d'enrayer cette diffusion (6,7). Par conséquent, la lutte contre l'émergence, en élevage, de ces bactéries résistantes et de la dissémination des gènes impliqués, ne peut actuellement se faire qu'en limitant l'usage des antibiotiques. Plusieurs stratégies sont actuellement suivies en élevage (8). La première est l'emploi raisonné des antibiotiques : une utilisation curative* ou tout au moins métaphylaxique*, aux dépens d'une utilisation préventive, est préconisée. Mais la stratégie la plus rationnelle est de limiter le plus possible l'infection des animaux. Cela signifie des conditions d'élevage qui soient les moins stressantes, une alimentation de bonne qualité, la sélection de races robustes, des mesures d'hygiène efficaces ; la plupart de ces mesures allant aussi vers une amélioration du bien-être animal. Enfin, des stratégies de substitution des antibiotiques par d'autres procédés sont aussi développées ou sont en cours de développement : la vaccination, la phagothérapie* (non autorisée actuellement en élevage), l'utilisation d'huiles essentielles, de probiotiques ou d'argiles. Les alternatives qui feront leurs preuves devront être choisies en fonction de leur efficacité, du type d'élevage et des moyens économiques de l'éleveur.

GENERAL CONCLUSION

The studies underline, the risk of emergence and diffusion of antibiotic-resistant genes in the animal breedings due to the antibiotic use in a non-rational way. These genes will, from the waste rejected by animals, contaminate the environment. If the bacteria harboring these genes are not always able to colonize the new ecosystems they encounter (river, soil, vegetables etc.), they are, however, able to transfer some of their genes to a more adapted flora. The persistence, in this environment, of many antibiotics will maintain a positive selection pressure on these bacteria. The treatment processes of the most common animal waste, including the composting, do not allow to avoid this diffusion (6,7). In order to reverse this trend, the use of antibiotics may be restricted in the breedings. Several strategies have been proposed (8). The first one is the rational use of antibiotics, in a curative or at least in a meta-phylactic way at the expense of a preventive use. However the most obvious strategy is to minimize, as much as possible, animal infections. This means if possible, less stressful farming conditions, good food quality, selection of hard breeds, effective hygiene measures; most of these measures also trends towards improvement of animal welfare. Finally, substitution strategies are also developed: phage therapy (not currently allowed in breeding), use of essential oils, probiotics or clay. The alternatives that will prove their worth will have to be chosen according to their effectiveness, to the type of breeding and to the economic means of the breeder.

Lexique

Bactéries commensales : bactéries naturellement présentes dans un écosystème et participant à son bon fonctionnement

Curatif : traitement antibiotique appliqué à l'individu présentant des symptômes infectieux.

Digesteur anaérobie : cuve où se produit la méthanisation, processus de dégradation de la matière organique qui se fait en l'absence d'oxygène par une flore adaptée.

Intégron : éléments génétiques bactériens permettant la capture, l'expression et la dissémination de gènes (ici impliqués dans la multi-résistance des bactéries aux antibiotiques).

Lagunage : traitement d'auto-épuration des effluents (ici en bassins) favorisant la dégradation de la matière organique par une flore microbienne complexe et adaptée.

Lyser : action mécanique ou chimique, effectuée au laboratoire, qui consiste à casser les bactéries pour en extraire l'ADN.

Métagénomique : étude globale de la séquence des gènes d'un écosystème.

Métaphylaxie : traitement antibiotique sur un groupe d'individus dont un ou seulement quelques-uns présentent des symptômes infectieux.

Microbiome ou microbiote : ensemble des microorganismes issus d'un même écosystème microbien (exemple le microbiote digestif).

qPCR (quantitative Polymerase Chain Reaction) : technique qui permet d'amplifier un segment d'ADN de manière à pouvoir le détecter et (ou) le quantifier.

Phagothérapie : utilisation de bactériophages pour tuer spécifiquement un ensemble de souches appartenant à une espèce bactérienne ciblée.

Phylum : embranchement taxonomique regroupant plusieurs classes de bactéries.

Résistome : ensemble des gènes trouvés dans un microbiote et conférant une ou des résistances aux antibiotiques.

Transferts génétiques horizontaux : transferts génétiques se produisant entre plusieurs individus (ici des bactéries) différents.

Publications de référence

1 Johnson T.A., Stedtfeld R.D., Wang Q, et al. Clusters of antibiotic resistance genes enriched together stay together in swine agriculture 2016;**7**(2):2214-15.

2 Chen Q1, An X1, Li H1, et al. Long-term field application of sewage sludge increases the abundance of antibiotic resistance genes in soil. *Environ Int.* 2016;**92**:92-93:1-10.

3 Wang L1, Oda Y, Grewal S, et al. Persistence of resistance to erythromycin and tetracycline in swine manure during simulated composting and lagoon treatments. *Microb Ecol.* 2012;**63**(1):32-40.

4 Wolters B, Ding Guo-Chun, Kreuzig R, et al. Full-scale mesophilic biogas plants using manure as C-source : bacterial community shifts along the process cause changes in the abundance of resistance genes and mobile genetic elements. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2016;**92** (2) :1-17.

5 Peng M, Salaheen S, Alejandro Almaro J, et al. Prevalence and antibiotic resistance pattern of *Salmonella* serovars in integrated crop-livestock farms and their products sold in local markets. *Environ. Microbiol.* 2016;**18**(5):1654-1665.

6 Sharma R, Larney F.J., Chen J, et al. Selected antimicrobial resistance during composting of manure from cattle administered sub-therapeutic antimicrobials. *J. Environ. Qual.* 2007;**38**:567-75.

7 Xu S, Sura S, Zaheer R, et al. Dissipation and antimicrobial resistance determinants in composted and stockpiled beef cattle manure. *J. Environ. Qual.* 2016;**45**:528-536.

8 Anses. Rapport d'expertise collective Evaluation des risques d'émergence d'antibiorésistances liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale. Saisine n°2011-SA-0071.

Liens d'intérêts :

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.