

L'approche One Health appliquée à l'antibiorésistance

Didier Hocquet – Université de Bourgogne Franche-Comté, CHU de Besançon

Symposium sur l'Antibiorésistance à La Réunion

Samedi 4 décembre 2021 – Saint-Gilles-Les-Bains



Master 2 MAGE
*Microbiologie
Antibiorésistance
Génomique
Epidémiologie*

Le concept « One Health » ou « une seule santé » : prise de conscience des liens étroits entre la santé **humaine**, celle des **animaux** et l'**état écologique global**. Il vise à promouvoir une **approche pluridisciplinaire et globale** des enjeux sanitaires.



1. We, the G20 Agriculture Ministers met in Florence on September 17-18, 2021 and reiterated our commitment to achieve food security and nutrition for all, and to ensure sustainable and resilient food systems, leaving no one behind.

10. The COVID-19 pandemic and other emerging infectious diseases, and zoonoses as well as the continuing challenge of antimicrobial resistance (AMR), remind us of the close connections between human, animal, plant and environmental health. Based on the international OIE and Codex Alimentarius standards we stress the fundamental importance of applying a holistic multi-sectoral approach and reaffirm our commitment to implement the One Health approach to accelerate the global fight against AMR in agriculture and food systems and to prevent, reduce and manage biological threats and risks to agriculture and food security. We recognize and encourage the work of the Tripartite Plus organizations (OIE, FAO, WHO and UNEP) to strengthen the implementation of the One Health approach to combat AMR, emerging zoonotic diseases with pandemic potential and other threats to global health security, and welcome the One Health High-Level Expert Panel established by FAO, OIE, UNEP and WHO. Likewise, we renew our commitment to ensuring food safety across food systems. We welcome the continued work of the International Organizations in enhancing the capacities of countries to combat AMR.

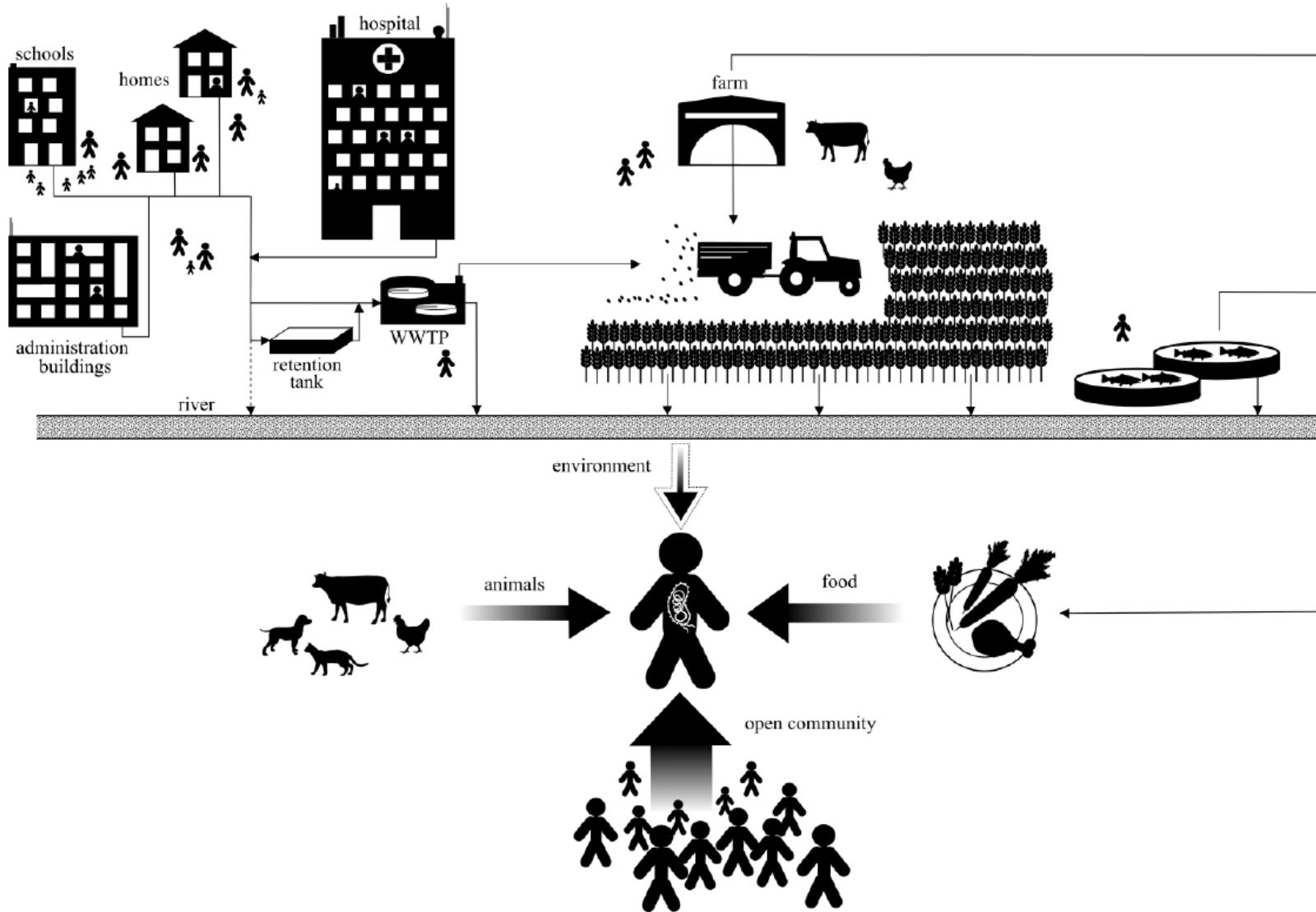
OIE - Office international des épizooties (Organisation mondiale de la santé animale)

WHO – Organisation mondiale de la Santé

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations

UNEP - United Nations Environment Program

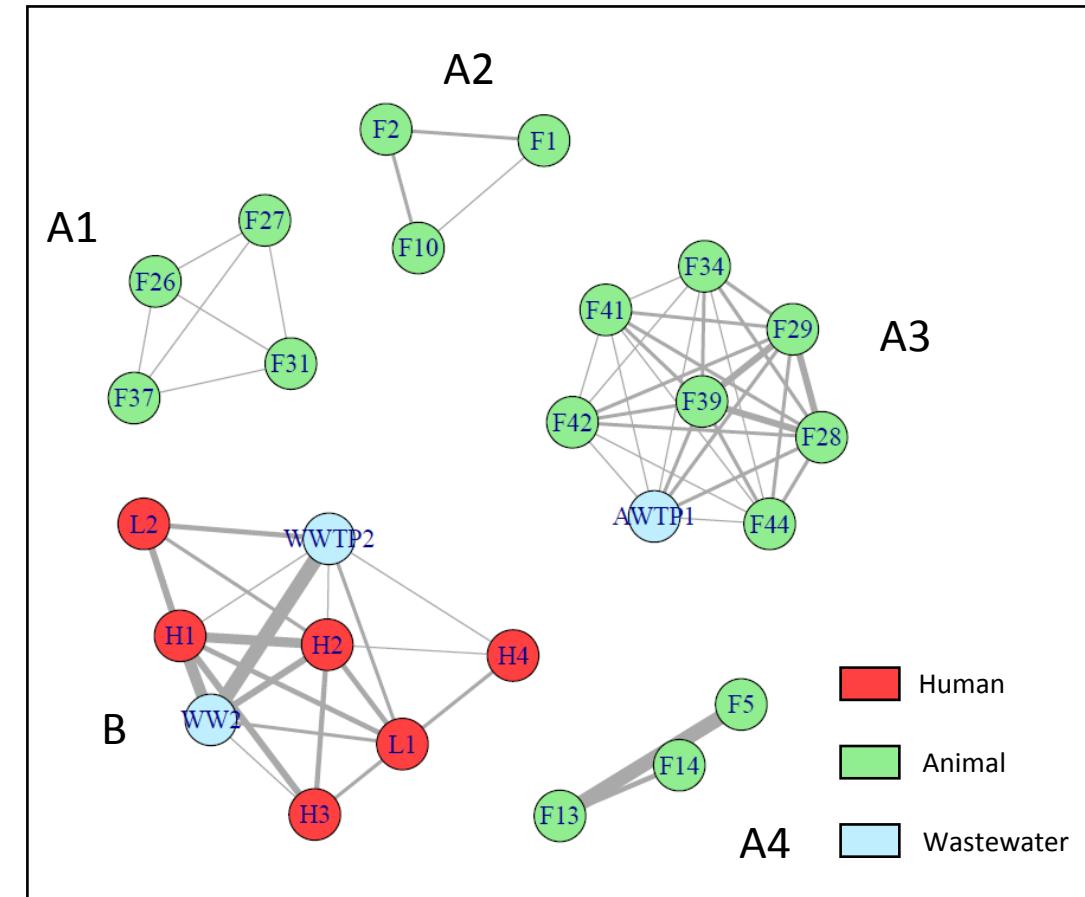
D'où viennent les résistances qui nous contaminent ?



- Quelle est la contribution de chaque réservoir ?
- Quel niveau taxonomique considère t-on ?
- Espèce ?
- *Sequence type* ?
- **Core genome MLST**

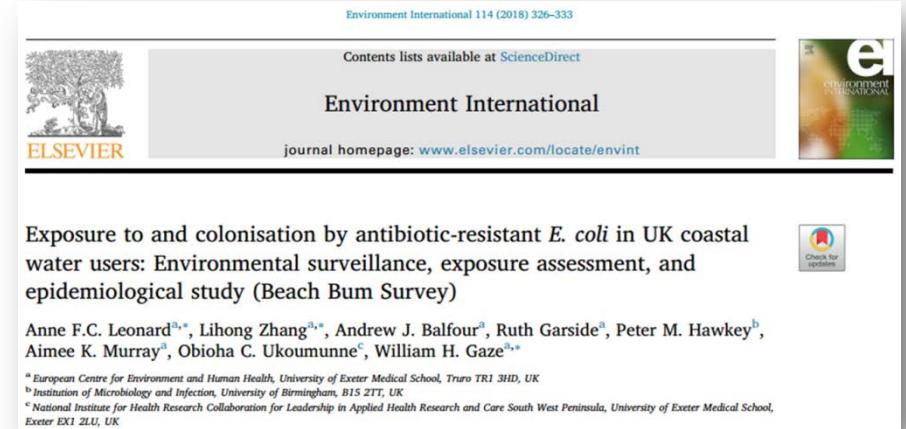
Contamination par les animaux ?

- Étude ECOH-RUN – Miltgen *et al.* J Antimicrob Chemother 2021
- *E. coli* BLSE, Ile de la Réunion 2015-2018
- **Sphère humaine (hospitalier et communautaire)**
 - 90% des hospitalisations, 100% des lits MCO → 161 isolats
 - Eaux usées communautaires → 155 isolats
- **Sphère animale**
 - 566 prélèvements dans 114 fermes → 88 isolats (++) porcs, volailles)
 - Stations de compostage → 6 isolats
- Séquençage génomes (Illumina) → cgMLST



Réseau de clonalité (Les réservoirs sont reliés s'ils partagent des isolats dont les cgMLST ont ≤ 10 allèles de différence)

Contamination par l'environnement ?



- 97 sites en Angleterre et Pays de Galles
- Avril – Oct. 2015
- Prélèvements environnement et humains
- 143 surfeurs, 130 contrôles
- Questionnaire + écouvillons rectaux
- Méthode : culture sur gélose sélective
- Présence de *E. coli* C3G-R et *E. coli bla*_{CTX-M}

The number (%) of surfers and controls colonised by antibiotic-resistant *E. coli*.

	Surfers (N = 143)	Controls (N = 130)	Risk ratio (95% CI)	p value
Carriage of cefotaxime-resistant <i>E. coli</i>	13 (9.1%)	4 (3.1%)	2.95 (1.05 to 8.32)	0.040
Carriage of <i>bla</i> _{CTX-M} -bearing <i>E. coli</i>	9 (6.3%)	2 (1.5%)	4.09 (1.02 to 16.4)	0.046

L'exposition à un milieu pollué augmente le risque de contamination

Contamination par l'environnement ?

The Lancet Planetary Health 2019

Attributable sources of community-acquired carriage of *Escherichia coli* containing β -lactam antibiotic resistance genes: a population-based modelling study

Lapo Mughini-Gras, Alejandro Dorado-García, Engeline van Duijkeren, Gerrita van den Bunt, Cindy M Dierikx, Marc J M Bonten, Martin C Bootsma, Heike Schmitt, Tine Hald, Eric G Evers, Aline de Koeijer, Wilfrid van Pelt, Eelco Franz, Dik J Mevius*, Dick J J Heederik*, on behalf of the ESBL Attribution Consortium



- Données Pays-Bas publiées 2007-2011
- 5808 isolats *E. coli* C3G-R
- Modélisation
- Contamination de la communauté comparée aux 4 autres groupes

	Mean (95% CrI)	Median	SD
Human sources			
Human-to-human transmission in the open community	60.1% (40.0-73.5)	61.3%	8.7
Secondary transmission from high-risk groups	6.9% (1.1-9.2)	6.9%	1.3
Returning travellers	3.9% (2.3-5.5)	3.9%	0.8
Clinical patients	2.0% (1.2-2.6)	2.0%	0.4
Poultry and pig farmers	1.0% (0.5-1.6)	1.0%	0.3
Food consumption and preparation			
Seafood	6.6% (0.3-21.6)	5.1%	5.8
Chicken meat	4.5% (0.2-13.1)	3.7%	3.5
Bovine meat	3.6% (0.1-12.5)	2.7%	3.3
Turkey meat	1.8% (0.6-1)	1.3%	1.6
Raw vegetables	1.1% (0.3-9)	0.8%	1.1
Pork	0.9% (0.3-3)	0.6%	0.9
Sheep or goat meat	0.4% (0.1-6)	0.3%	0.4
Animals			
Contact with companion animals	7.9% (1.4-19.9)	7.0%	4.9
Dogs	5.1% (0.2-16.3)	3.9%	4.4
Cats	2.4% (0.1-8.0)	1.9%	2.2
Horses	0.5% (0.1-7)	0.3%	0.5
Non-occupational contact with farm animals	3.6% (0.6-9.9)	3.0%	2.5
Chickens	2.8% (0.1-9.0)	2.1%	2.4
Cattle	0.4% (0.1-4)	0.3%	0.4
Sheep or goats	0.3% (0.1-1)	0.2%	0.3
Pigs	0.1% (0.0-5)	0.1%	0.1
Environment			
Swimming in surface freshwater	2.3% (0.1-8.4)	1.6%	2.3
Contact with wild birds	0.3% (0.1-1)	0.2%	0.3

Table: Estimated attributions of each considered source of intestinal carriage of ESBL or pAmpC gene-carrying *Escherichia coli* detected in the open community in the Netherlands, 2005-17

Contamination par la nourriture ?



Table 2

Origin and number of 3GC-positive vegetable items.

Vegetable type (% positive items)	No. of positive items/no. of investigated items					
	Conventional		Organic			
	Total	NL	non-NL	NL	non-NL	
Blanched celery (4.7%)	9/192	3/48	4/48	1/48	1/48	
Bunched carrots (8.9%)	17/190	2/48	7/51	5/47	3/44	
Butterhead lettuce (6.6%)	9/137	4/48	0/0	4/48	1/41	
Chicory (0.0%)	0/96	0/48	0/0	0/48	0/0	
Endive (3.7%)	7/188	3/48	0/48	2/48	2/44	
Iceberg lettuce (2.6%)	5/193	2/48	0/48	3/49	0/48	
Radish (5.0%)	6/120	1/48	0/0	5/48	0/24	
Spring onion (10.0%)	10/100	0/4	6/48	4/48	0/0	
Total (5.2%)	63/1216	15/340	17/243	24/384	7/249	

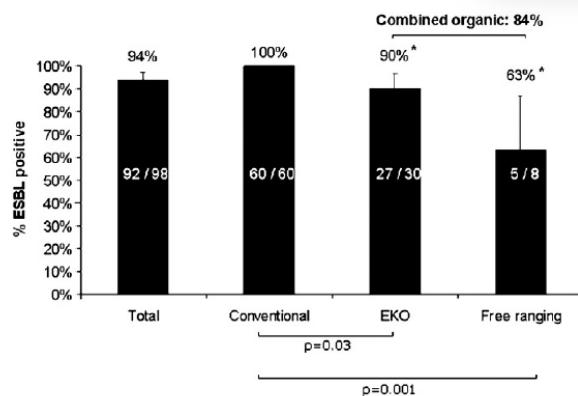


Fig. 1. Percentage of ESBL positive meat samples per rearing method. The difference of ESBL prevalence between the "EKO" and "Free ranging" samples was not statistically significant.

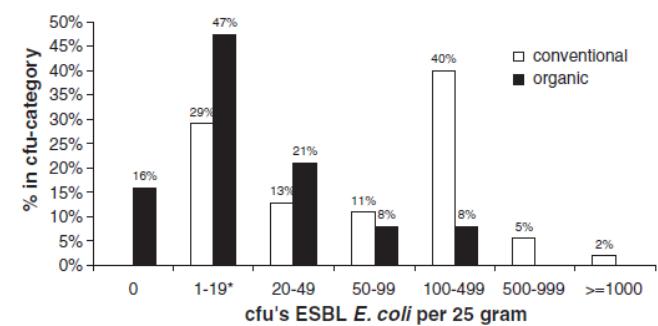
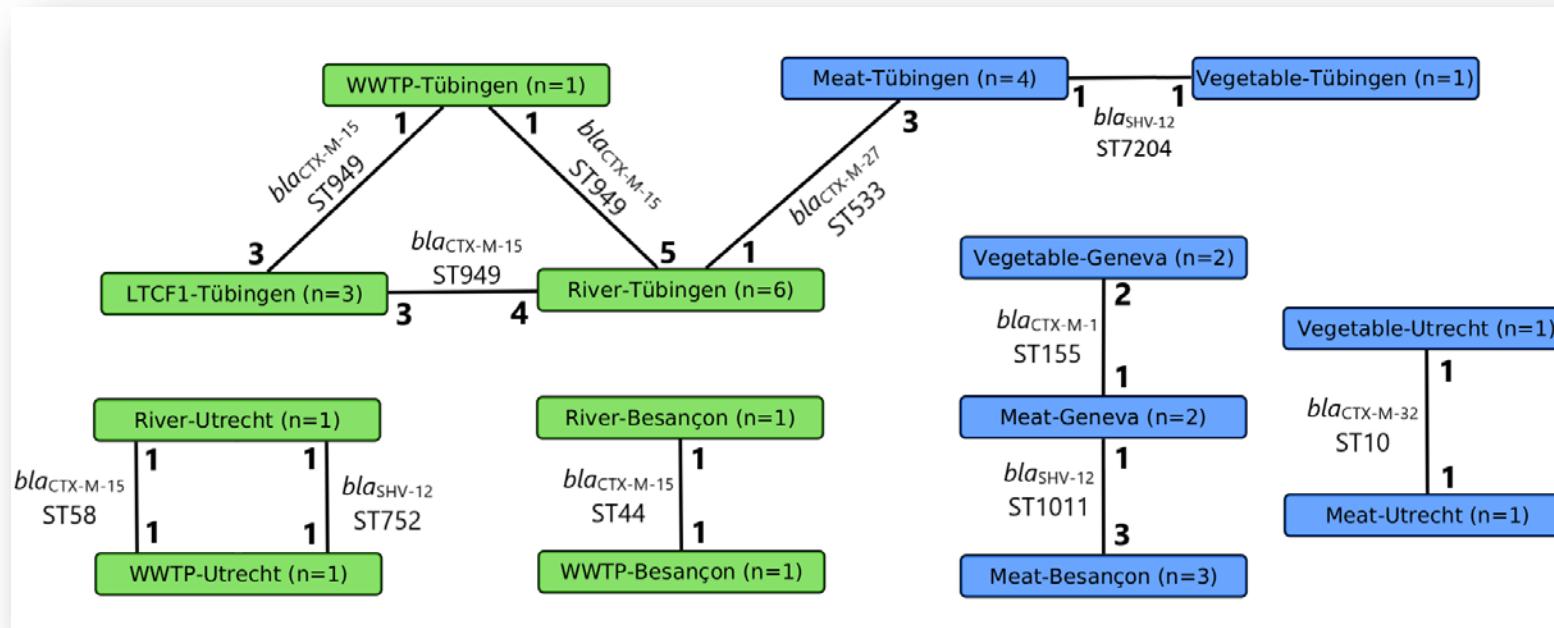


Fig. 2. Distribution of load of ESBL producing micro-organisms. *ESBL only detected after pre-enrichment.

Contamination par la nourriture ?

- Projet MODERN (JPI-AMR, Tübingen, Genève, Besançon, Utrecht, Séville)
- Martak *et al.* Clin Microb Infect 2021
- Eaux usées - proxy de la flore digestive humaine → 254 *E. coli* BLSE
- Nourriture → 96 *E. coli* BLSE (surtout volailles)
- WGS et comparaison les populations bactériennes des eaux usées à celles de la nourriture



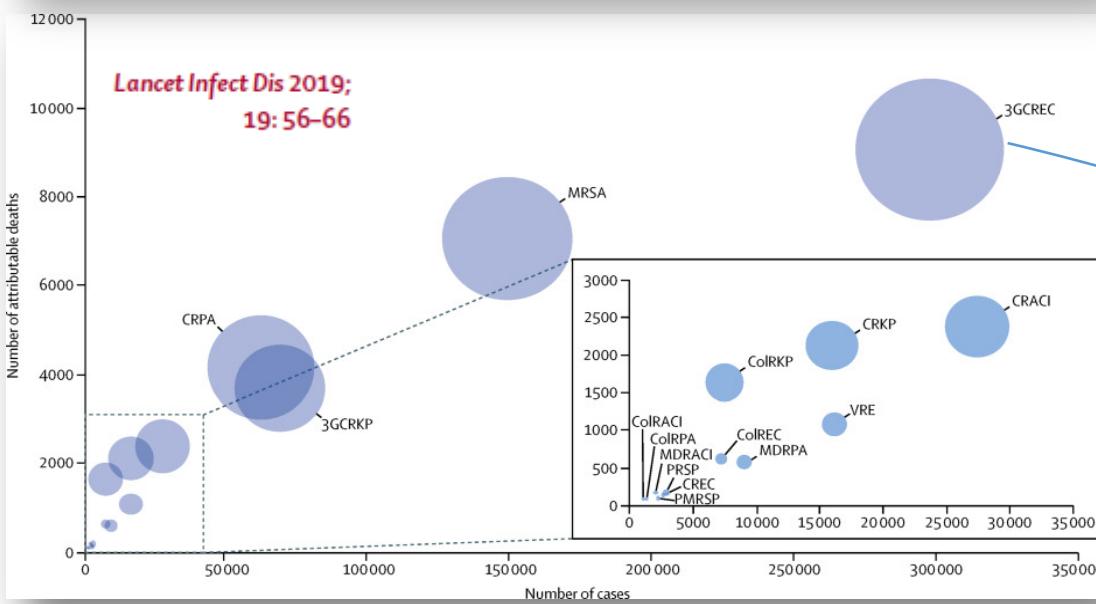
Réseau reliant les sources des isolats de *E. coli* BLSE dont les génomes présentaient <10 gènes du *core genome* de différence. Les chiffres indiquent le nombre de génomes de *E. coli* producteurs de BLSE de la source correspondante liés à l'autre source.

1 seul lien entre nourriture et environnement pollué par l'Homme

Contribution de l'environnement ?

Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis

Alessandro Cassini, Liselotte Diaz Höglberg, Diamantis Plachouras, Annalisa Quattrocchi, Ana Hoxha, Gunnar Skov Simonsen, Mélanie Colomb-Cotinat, Mirjam E Kretzschmar, Brecht Devleesschauwer, Michele Cecchini, Driss Ait Ouakrim, Tiago Cravo Oliveira, Marc J Struelens, Carl Suetens, Dominique L Monnet, and the Burden of AMR Collaborative Group*



- Origine de $bla_{CTX-M-15}$?
- *Kluyvera cryocrescens kluC* $\rightarrow bla_{CTX-M-1}$
 $\rightarrow bla_{CTX-M-15}$
- Espèce retrouvée chez humains, environnement (eau, sols, eaux usées, aliments)

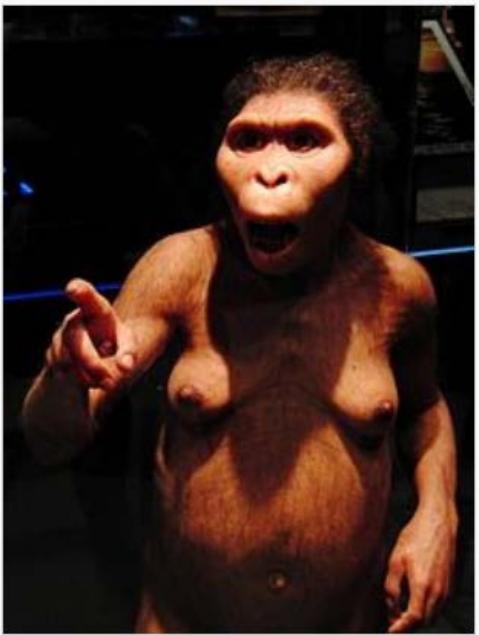
Escherichia coli
ST131 H30Rx

→ L'environnement est un réservoir de gènes de résistances

Decousser et al. AAC 2001

Quel est la taille du réservoir environnemental de gènes de résistance ?

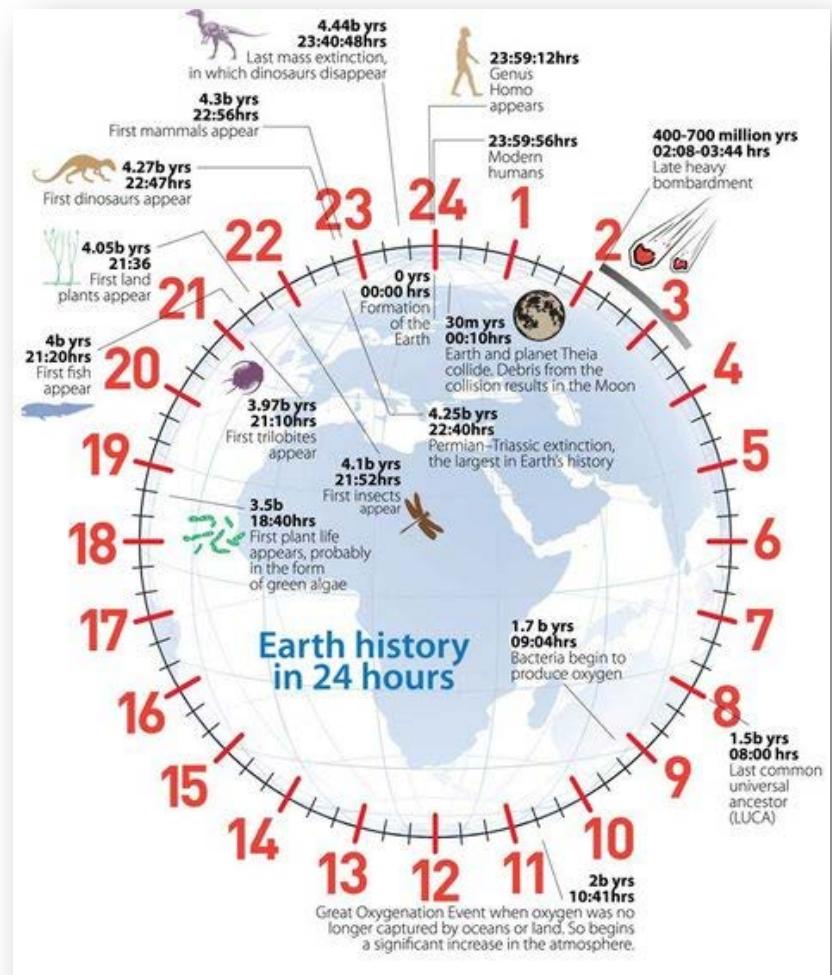
A ceci s'ajoute un problème de temps...



Lucy – 3,2 millions d'années

Thomas – maintenant

Elles ont de l'avance sur l'homme



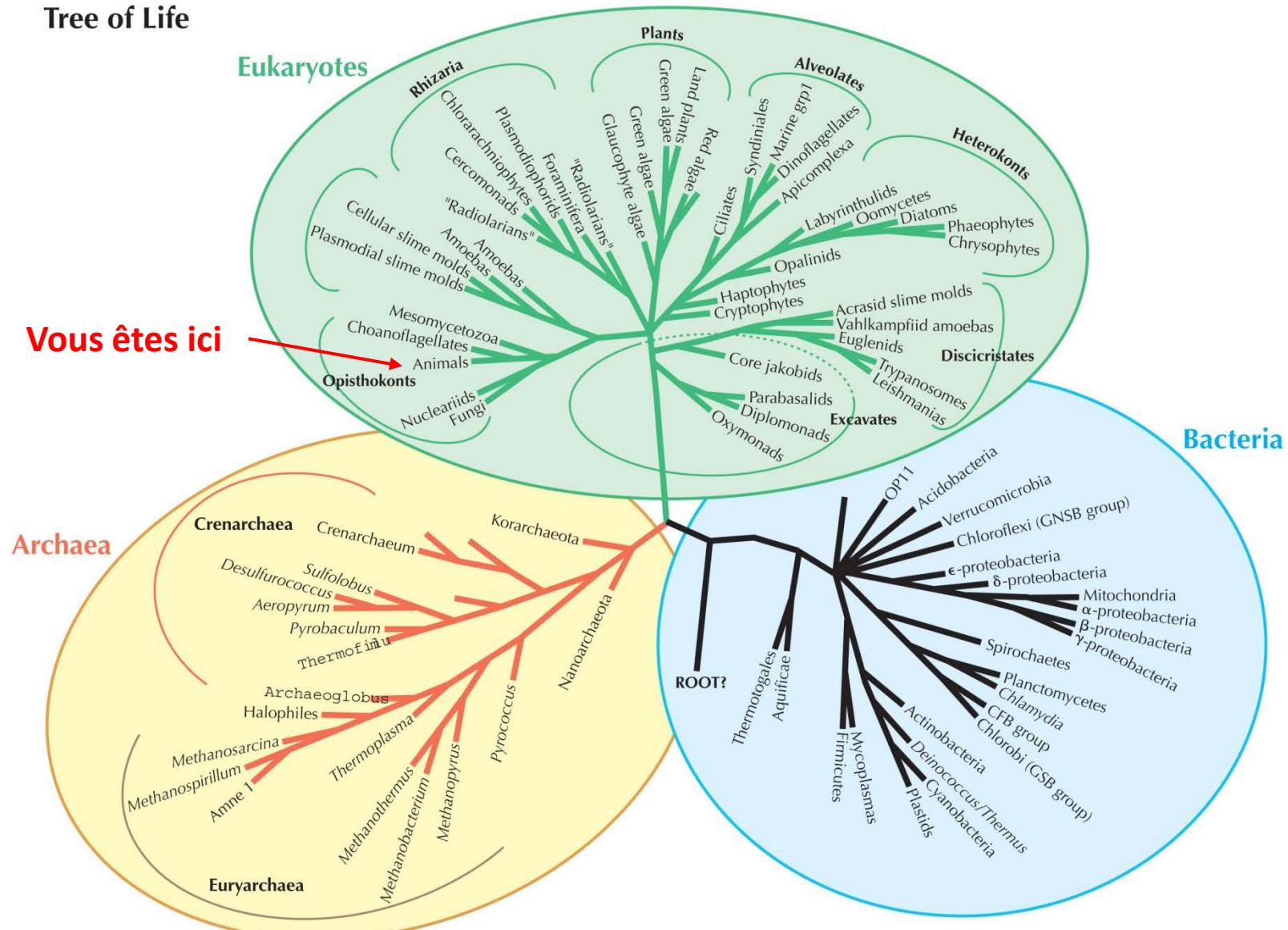
The Science Magpie

3 200 000 années ~ 160 000 générations humaines
160 000 générations bactériennes ~ 4 800 000 min ~ 10 ans

Tree of Life



Vous êtes ici



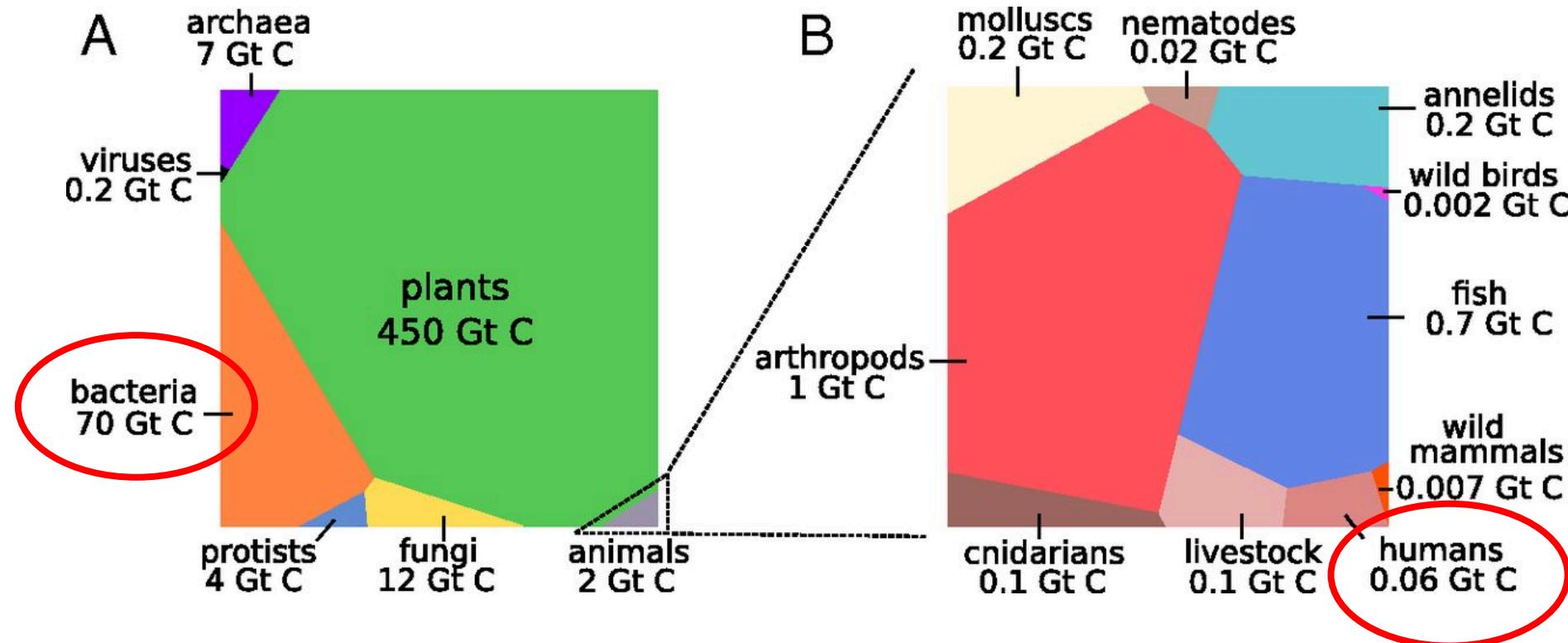
2 individus *Escherichia coli* partagent > 40% de leurs gènes
2 individus humains partagent > 99,9% de leur génome
Hommes et poules partagent 60% de leurs gènes

Un monde de bactéries

- **Diversité bactérienne**
 - 9 000 espèces connues pour un nombre total estimé de ~ 1 000 000
 - Bactériologie médicale (~ 100 espèces pathogènes) : infime partie de la bactériologie
- Diversification et une **adaptation à pratiquement tous les biotopes terrestres**
(pôles, fosses océaniques, mer morte, geysers, sources sulfureuses, mines ...)

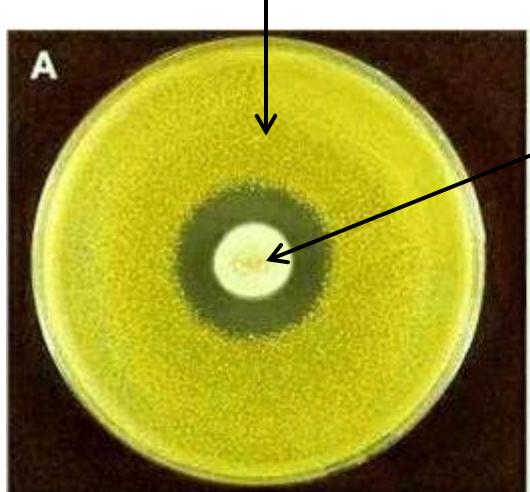


Distribution de la biomasse sur Terre ?

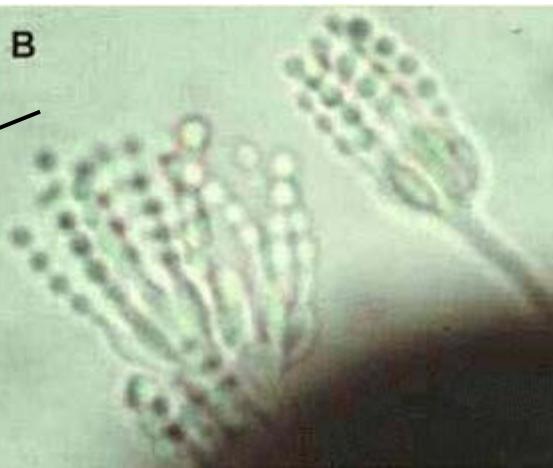


Compétition inter-espèces

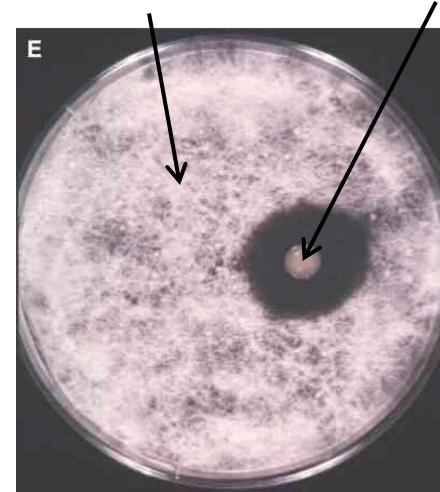
Micrococcus luteus



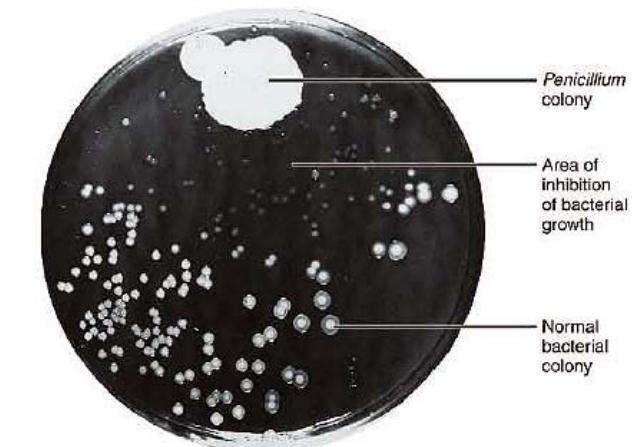
Penicillium



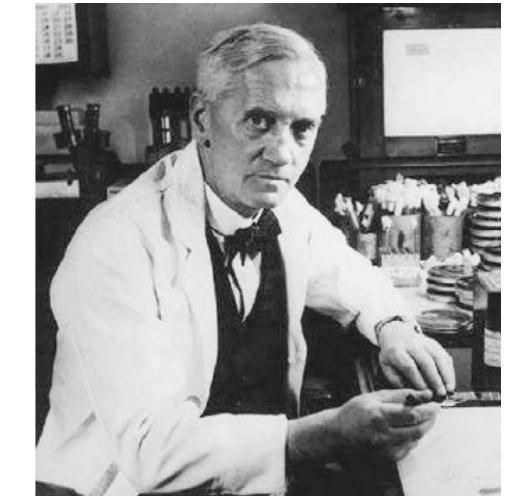
Champignon filamenteux



Bacillus



Origine naturelle : β -lactamines, aminosides, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, polypeptides



Mais la cohabitation est possible



Les mécanismes de **résistance** aux antibiotiques d'origine naturelle...
sont **aussi anciens que les antibiotiques**

Comment des gènes de résistance naturelle peuvent se retrouver sur des bactéries pathogènes ?

Transfert sur élément génétique mobile (**sélection par atb**)

Transfert entre espèces, dont pathogènes (**sélection par atb**)

Expansion du pathogène R chez l'homme (**sélection par atb**)

Ensemencement d'une communauté humaine

...Puis les contacts interhumains font le reste

Ex. CTX-M, NDM-1, HIV, SARS-CoV-2, ...

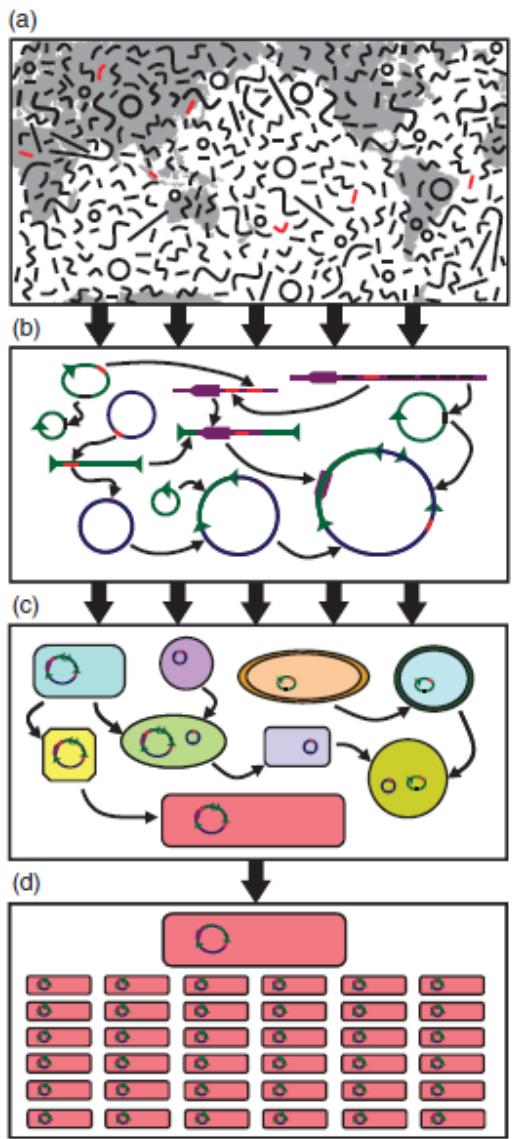
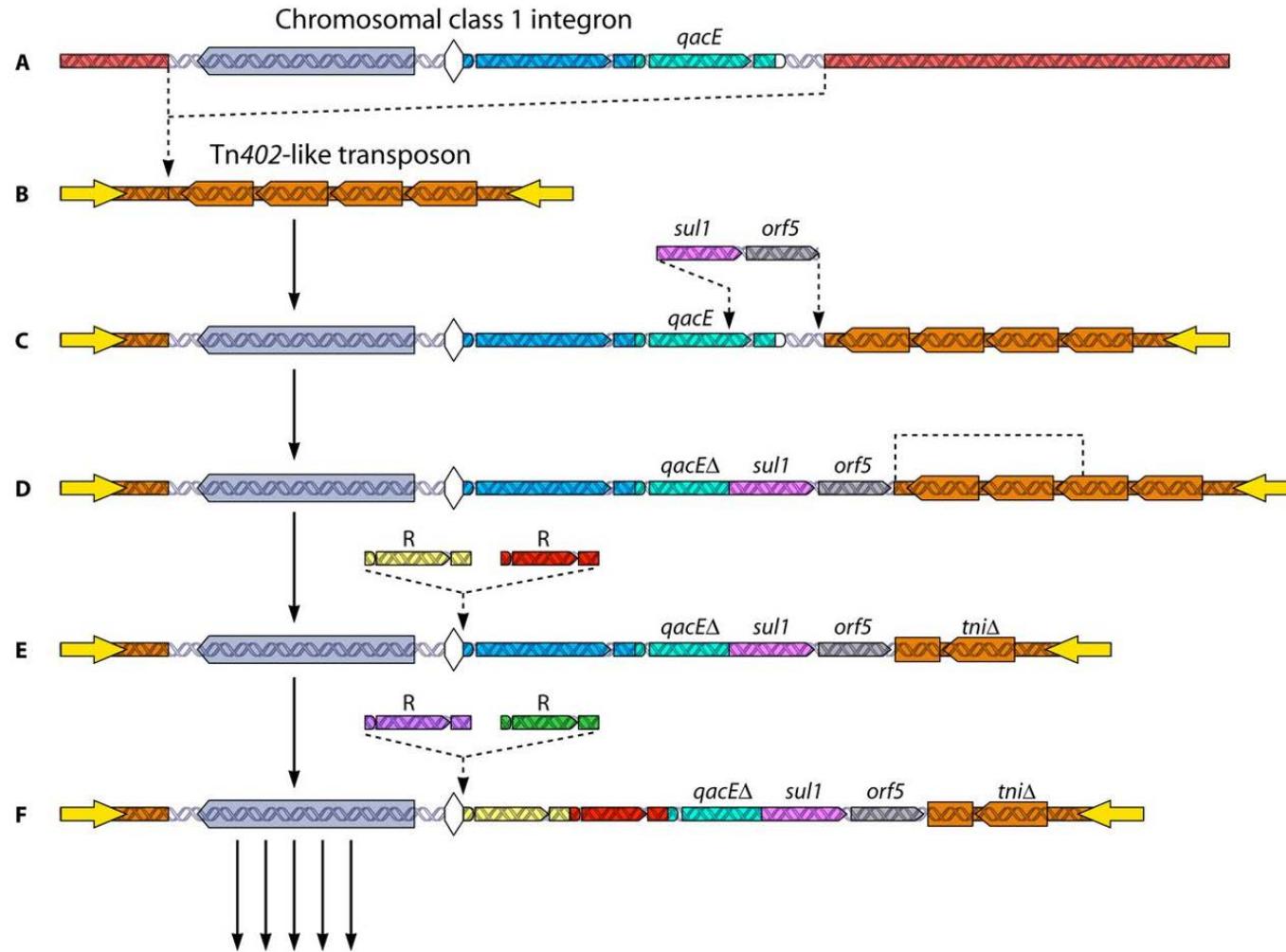


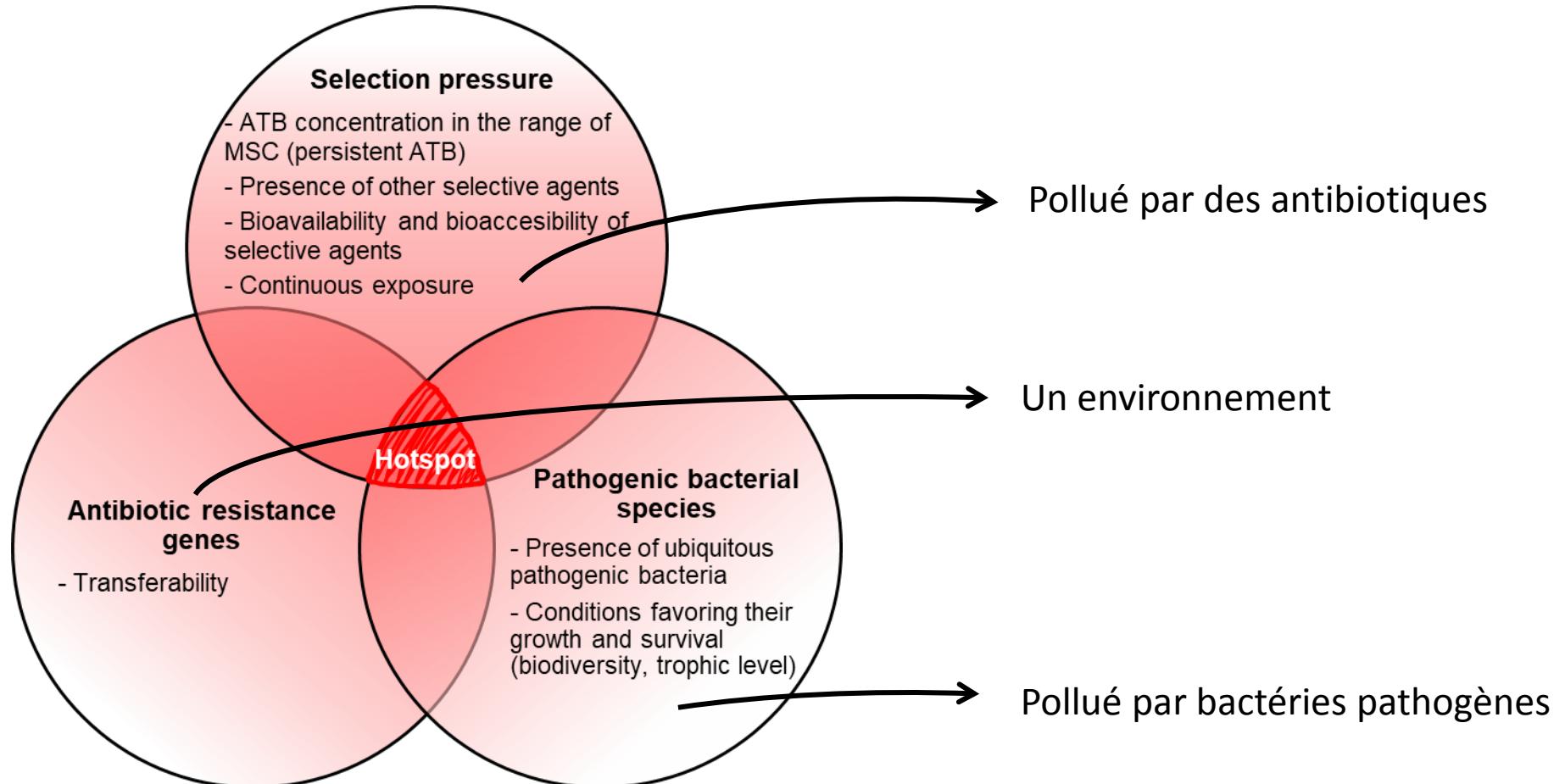
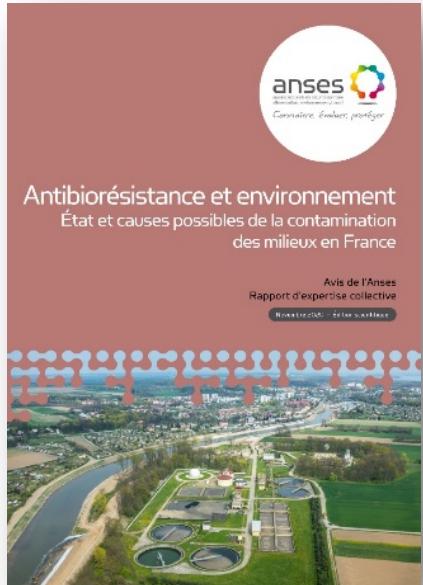
Fig. 1. Recruitment of resistance genes and mobilizing elements into pathogens. (a) Diagrammatic representation of the global distribution of mobile genes, mobilizable genes and mobilizing genetic elements as found in the preantibiotic era. (b) Pre- and postantibiotic era random rearrangements bring together mobilizing agents and genes encoding adaptive genes in niche environments. (c) Mobilizing genes move through microbial communities including human pathogens (in pink). (d) With strong selection as occurred in pathogens in the antibiotic era, selected organisms underwent clonal and global expansion.

Origine environnementale des structures mobiles

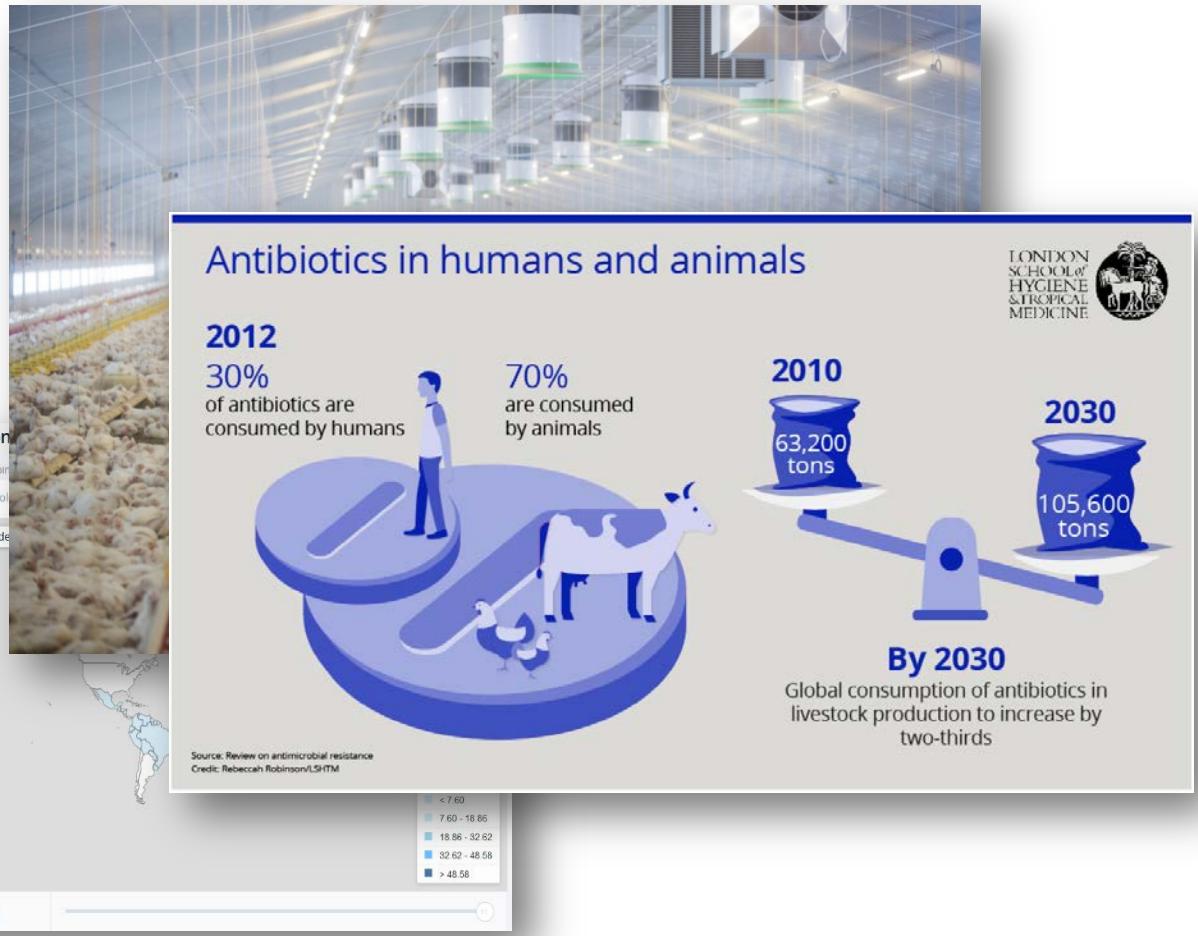


- Ancêtre commun de tous les intégrons clinique de classe 1 sur le chromosome des **β-protéobactéries environnementales**
- Capture de cet intégron chromosomalique par Tn402
→ *transposon/intégron hybride portant la cassette qacE*
- Capture de *sul1*, *orf5*
- Indels sur le module *tni* → Tn402 non fonctionnel
- Capture d'autres cassettes de résistance aux antibiotiques
→ *élargissement de la gamme des phénotypes de résistance aux antibiotiques conférés par les intégrons*

Quelles conditions environnementales favorisent l'émergence de pathogènes résistants ?

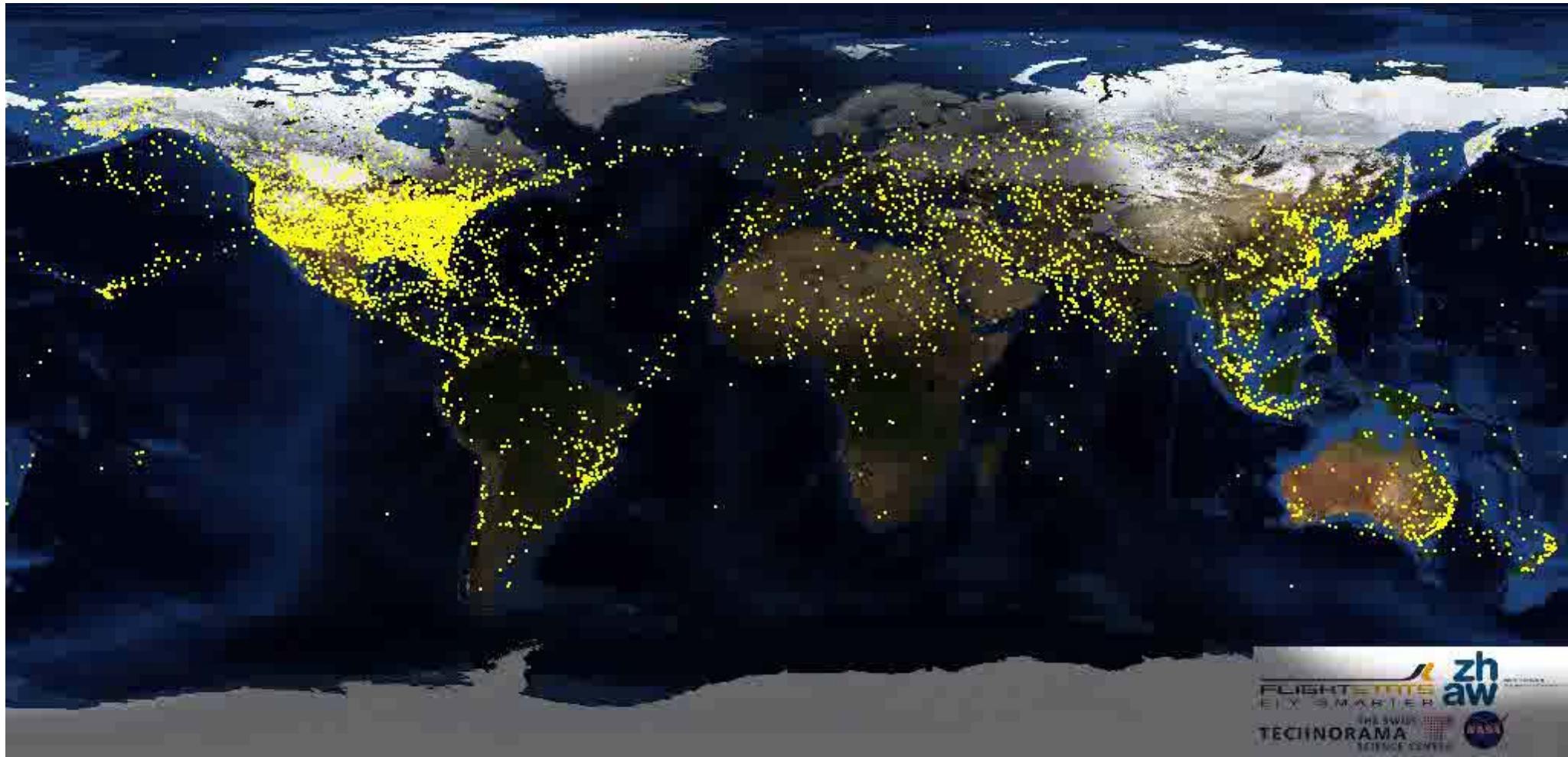


Deux environnements idéaux



Chine, effluent industriel : 1065 mg/l oxytétracycline ; Inde, effluent industriel : 31 mg/l de ciprofloxacine

Diffusion mondiale des bactéries résistantes



40 millions de vols par an (\sim 3-4 milliards de passagers)

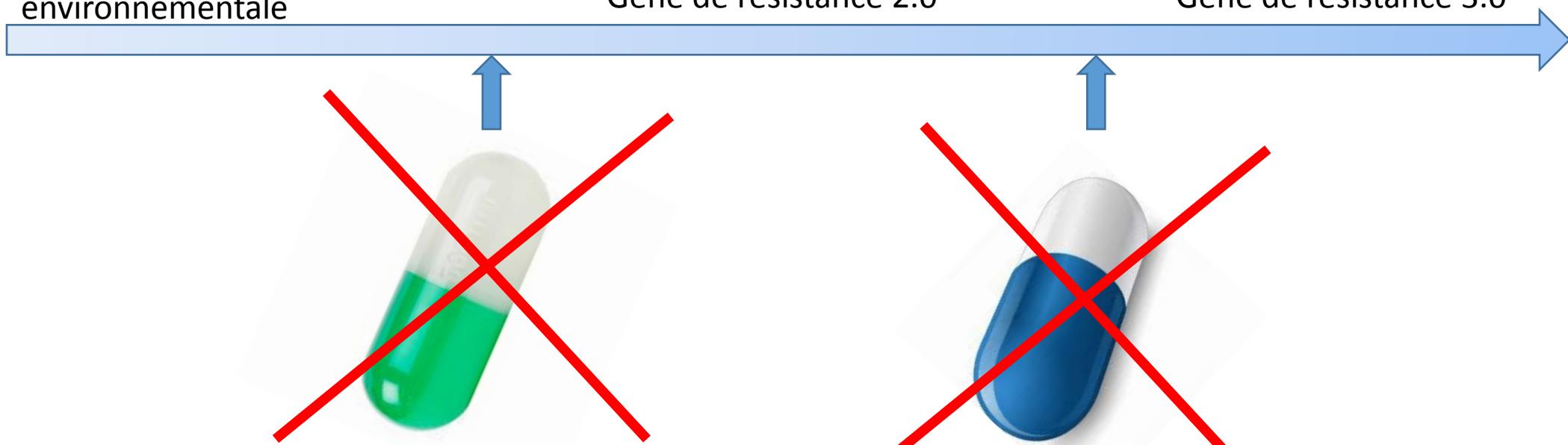
Si on inventait un nouvel antibiotique !

Evolution des gènes de résistance

Gène de résistance d'origine environnementale

Gène de résistance 2.0

Gène de résistance 3.0



frontiers in
MICROBIOLOGY

REVIEW ARTICLE
published: 02 April 2012
doi: 10.3389/fimicb.2012.00110

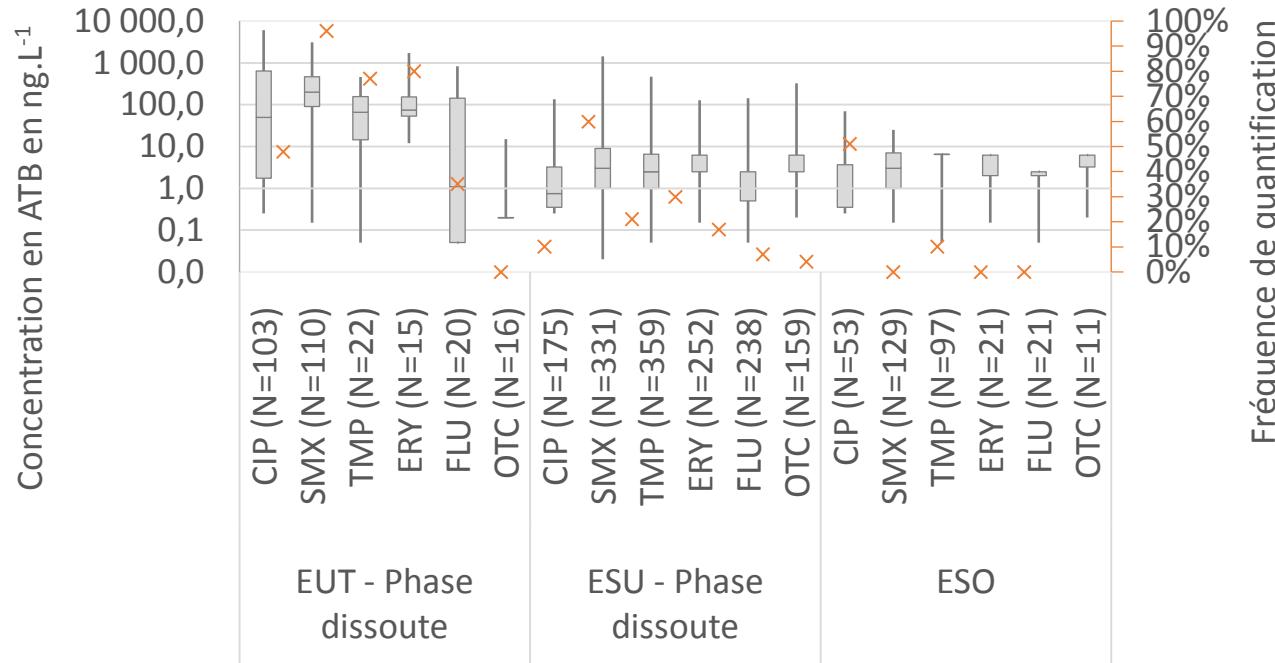
CTX-M enzymes: origin and diffusion

Rafael Cantón^{1,2,*}, José María González-Alba¹ and Juan Carlos Galán^{1,2}

5 gènes *bla*_{CTX-M} ancestraux → 252 variants (1 déc. 2021)



En France : Quels antibiotiques sont à risque de sélectionner la résistance dans l'environnement?



Quelle concentration d'ATB peut sélectionner la résistance ?

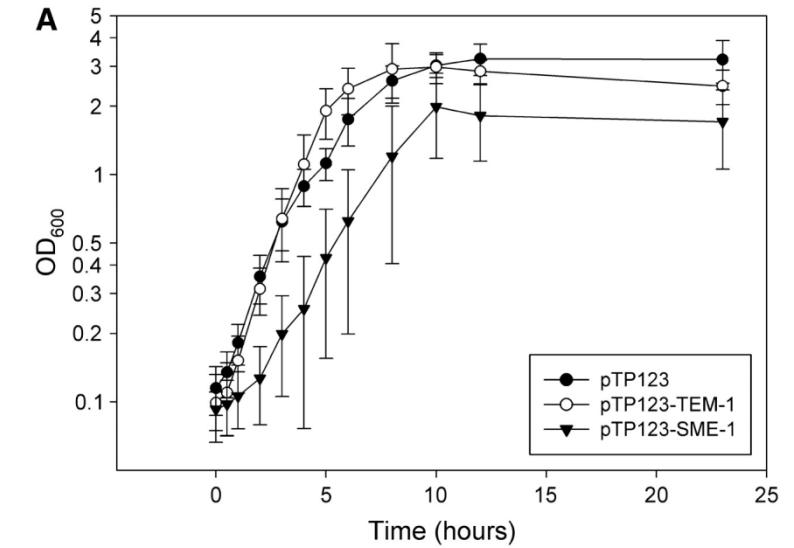
Comprendre le coût biologique de la résistance



Bactérie sensible



Bactérie résistante



A Fitness Cost Associated With the Antibiotic Resistance Enzyme SME-1 β -Lactamase

David C. Marciano, Omid Y. Karkouti and Timothy Palzkill¹

Department of Molecular Virology and Microbiology, Baylor College of Medicine, Houston, Texas 77030

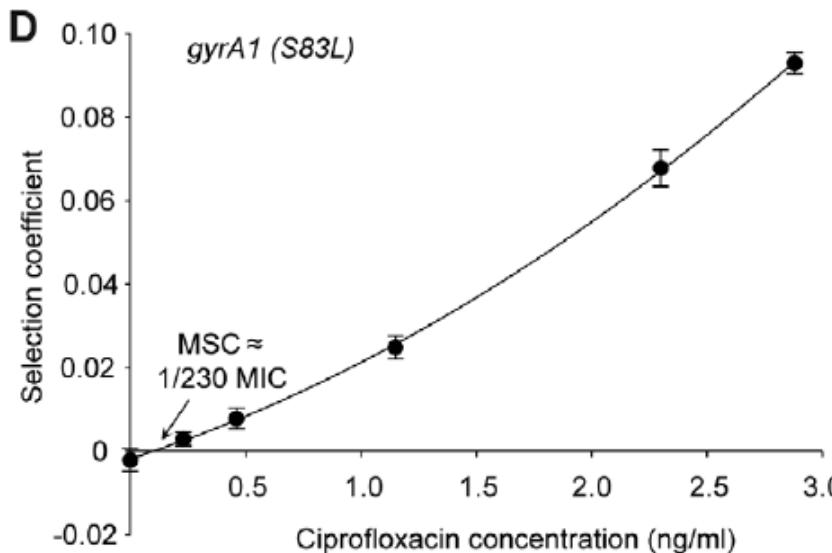
Manuscript received December 8, 2006

Accepted for publication May 23, 2007

Coût biologique de la résistance

Les concentrations environnementales peuvent compenser le coût biologique de la résistance

- Concentration minimale sélective
 - Concentration limite qui freine la souche sensible et **compense le coût biologique de la résistance**
 - Pour la ciprofloxacine : 100 ng/l
- Ciprofloxacine dans les rivières en France (n=10,983) → moyenne = 26 ng.L⁻¹ ; max = 274 ng.L⁻¹



OPEN  ACCESS Freely available online

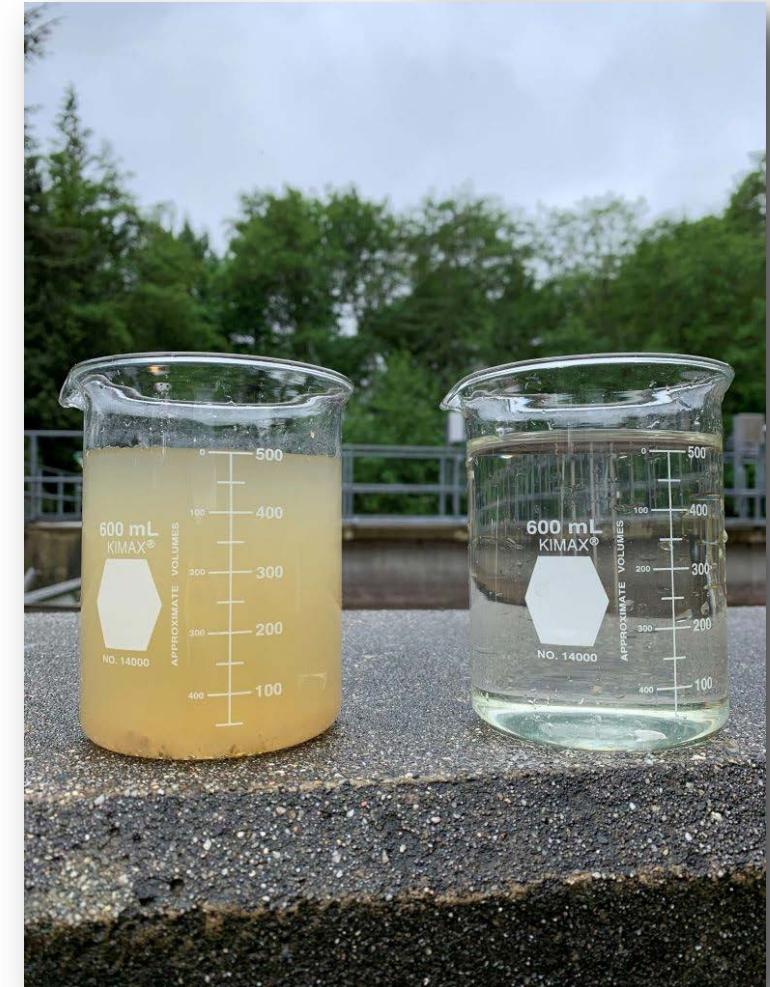
PLOS PATHOGENS

Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations

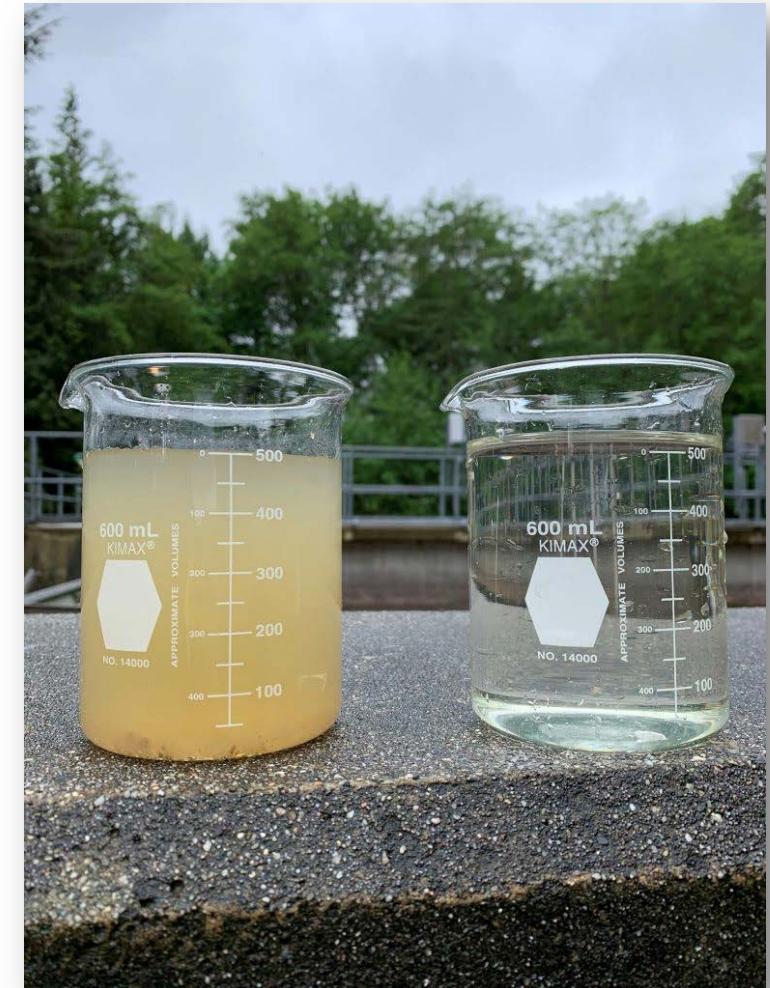
Erik Gullberg¹, Sha Cao¹, Otto G. Berg², Carolina Ilbäck¹, Linus Sandegren¹, Diarmaid Hughes¹, Dan I. Andersson^{1*}

¹ Department of Medical Biochemistry and Microbiology, Uppsala University, Uppsala, Sweden, ² Department of Molecular Evolution, Uppsala University, Uppsala, Sweden

- Mais...
- Problème méthodologique
- Les bactéries résistantes aux antibiotiques sont dans une communauté très complexe



- La résistance à l'échelle de la bactérie
 - Vision réductionniste inadaptée à l'environnement
- Résistance à l'échelle de la communauté bactérienne
 - Les bactéries **coopèrent** pour résister aux antibiotiques
 - Biofilms
 - Mécanisme de résistance 'd'intérêt public'
 - Patrimoine communautaire de R
 - Bioaccessibilité et biodisponibilité et des **antibiotiques**
- La CMS kanamycine X 43 en présence de la communauté (Klümper *et al.* ISME J 2019)

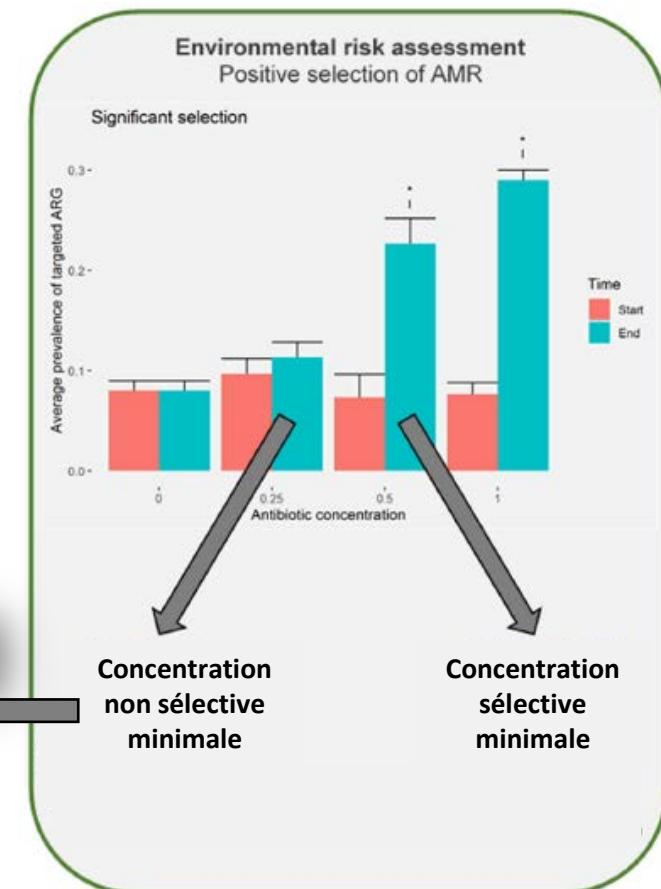


Évaluation du risque environnemental des ATB

- Mesure du potentiel de sélection de la R aux ATB
- En tenant compte des communautés bactériennes mixtes



Concentration prédictive sans effet sur la résistance (PNEC^R)
Ciprofloxacine : 50 ng.L⁻¹



En France : Quels antibiotiques sont à risque de sélectionner la résistance dans l'environnement?

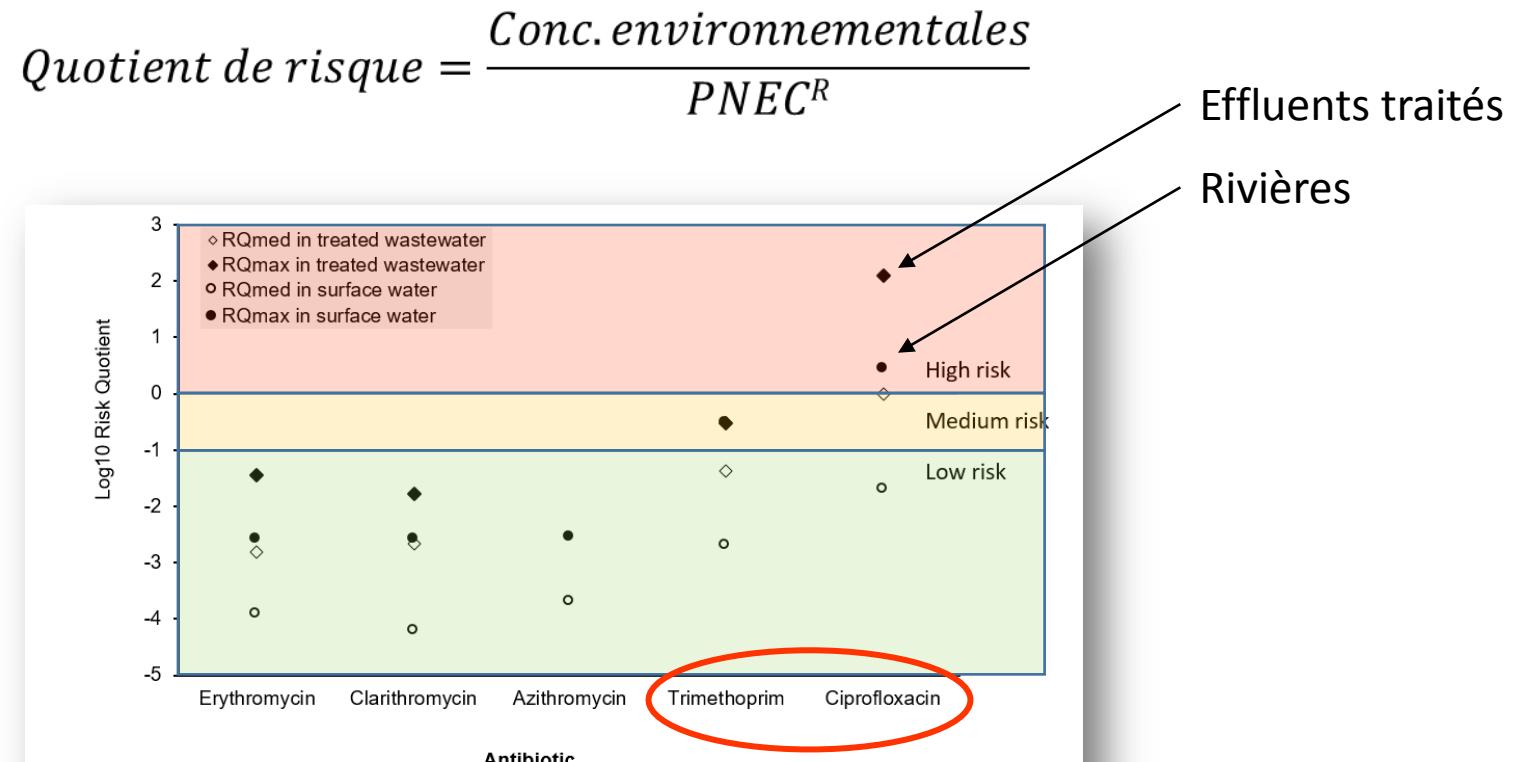
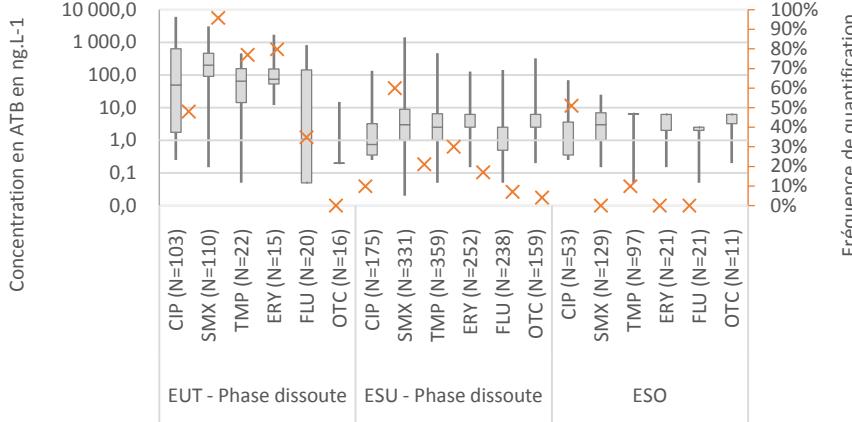
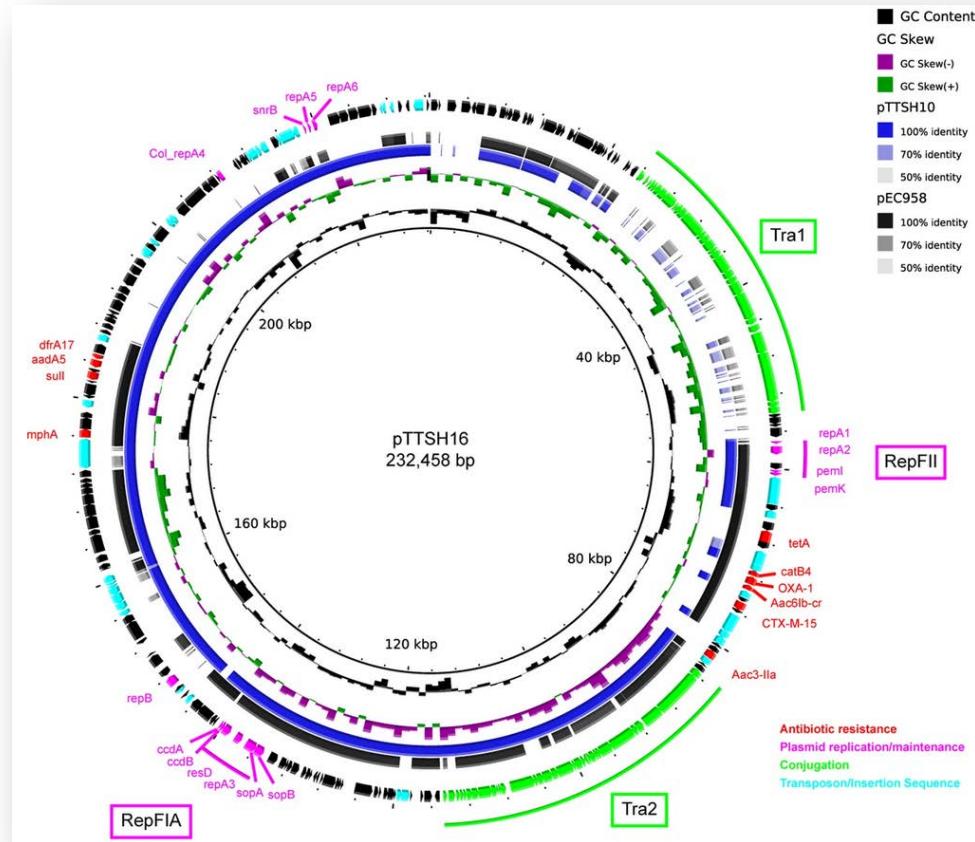


Figure 8. Risk quotients (RQs) for aquatic environments (treated wastewater and surface water) in France.

Pollution multiples de l'environnement

Ex. de la multirésistance d'*E. coli* ST131



β-lactamimes : OXA-1, CTX-M-15

Aminosides : AAC(6')Ib-cr, AAC(3)II

Fluoroquinolones : AAC(6')Ib-cr

Tetracyclines : TetA

Chloramphénicol : CatA

Macrolides : MphA

Sulfamides : Sul1, DfrA17

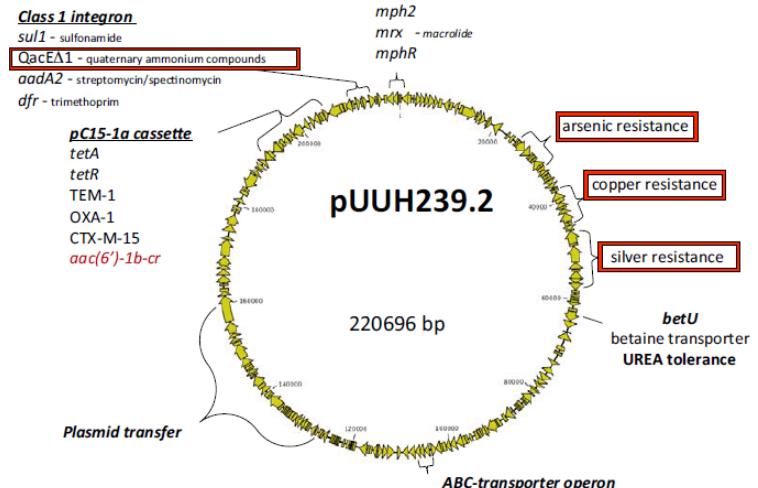
Ammoniums quaternaires : QacE

+ R chromosomique aux fluoroquinolones

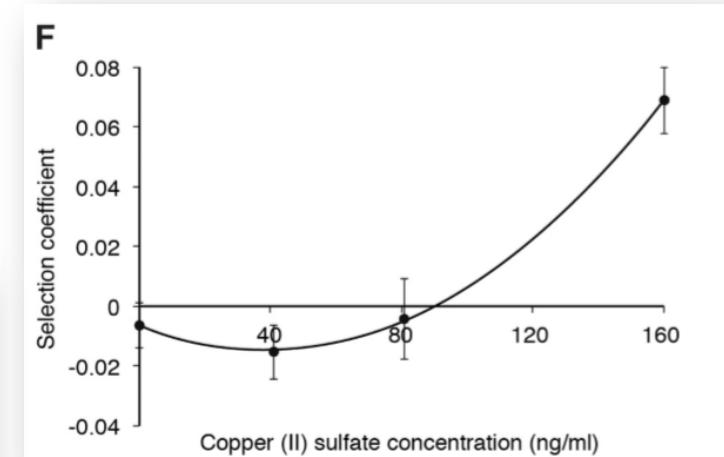
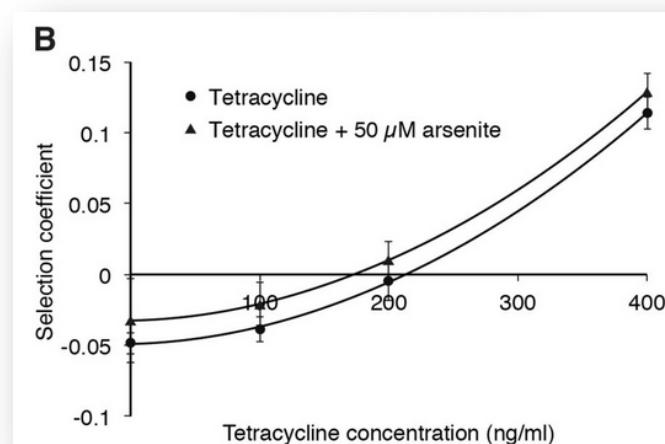
D'autres pathogènes sont R aux métaux lourds

Effet cocktail

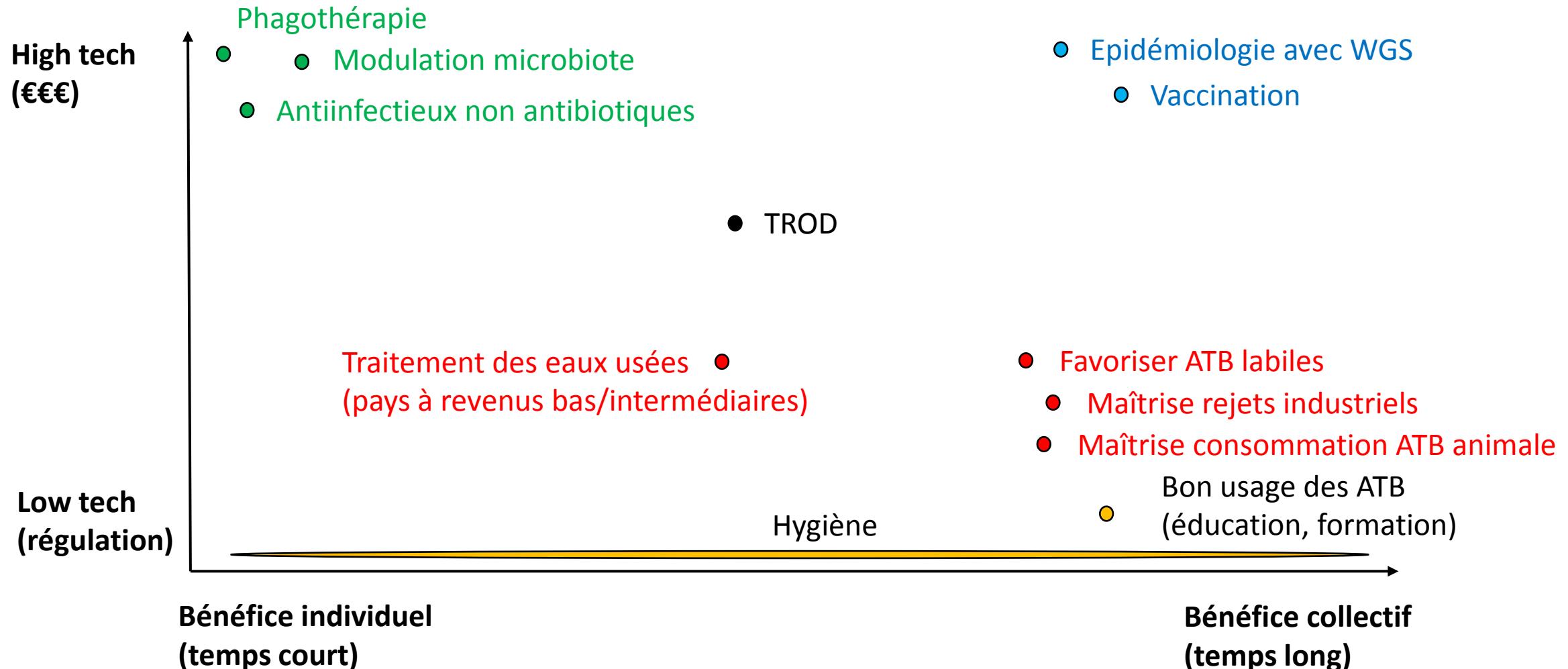
- Antibiotiques + Agents mutagènes
- + Métaux lourds + Biocides, antiséptiques



- **Co-résistance** → co-sélection
- **Effet cocktail** → accumulation des effets des polluants



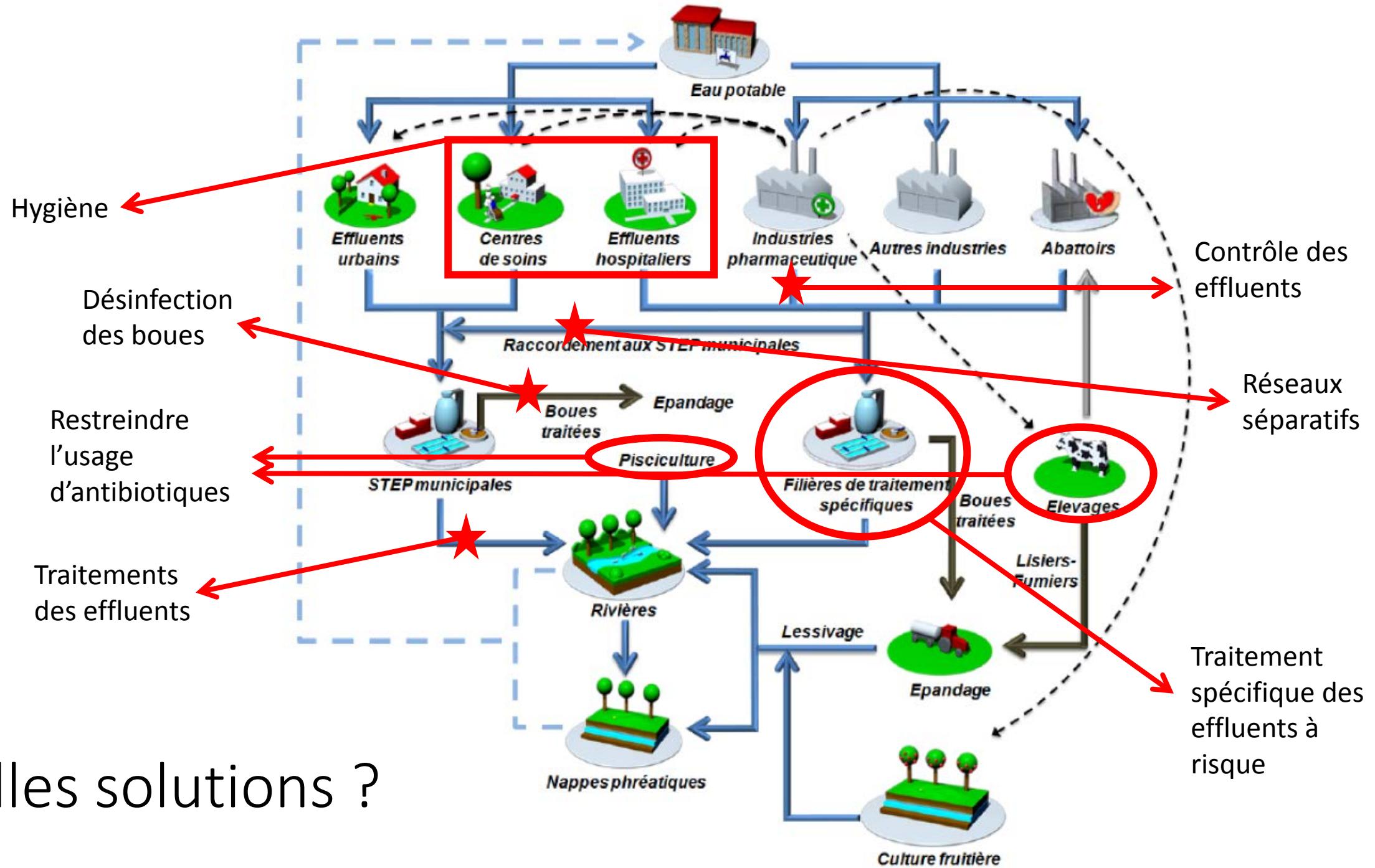
Les approches One Health dans la lutte contre l'antibiorésistance chez l'homme





Master 2 MAGE
*Microbiologie
Antibiorésistance
Génomique
Epidémiologie*

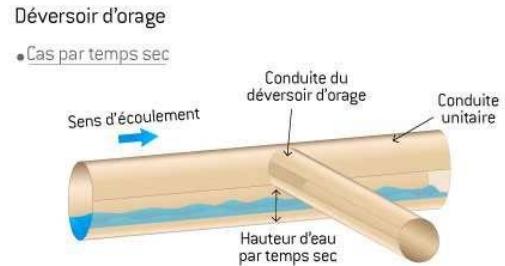




Quelles solutions ?

• Réseaux d'eaux usées en France

- Majorité de **réseaux unitaires** (mélange eaux usées et eaux de pluies)
- Réseaux **séparatifs** pour nouvelles urbanisations



• Réchauffement climatique

- Intensification des précipitations au 21^e siècle en Europe
- Contamination environnement par les bactéries (y compris résistantes)

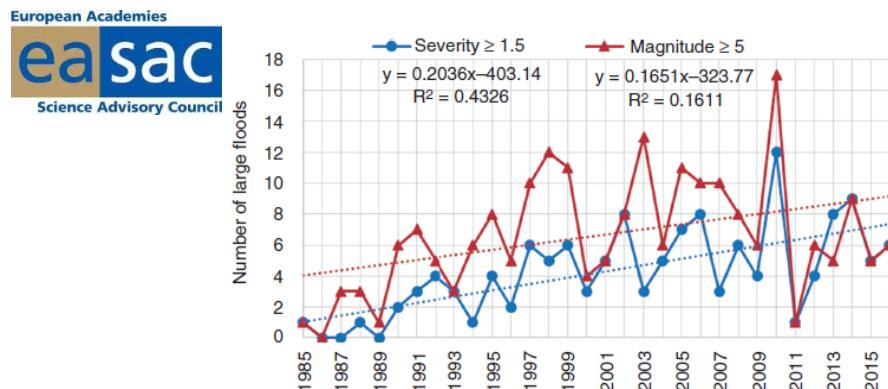
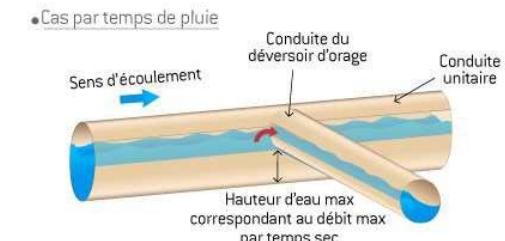


Figure 3. Number of large floods of severity ≥ 1.5 and magnitude ≥ 5 in Europe each year during 1985–2016, based on Dartmouth Flood Observatory (USA) records (from Kundzewicz et al., 2017).

