

#### **Sommaire**

01

ORIGINES ET IMPACT DE L'ANTIBIORÉSISTANCE (Origines, Sources, Impacts)

03

COMMENT L'AMR PERSISTE ET SE PROPAGE (Facteurs clés, Impact des résidus pharmaceutiques)

05

**SOLUTIONS & AXES DE RECHERCHE** 

02

RÔLE DES STATIONS D'ÉPURATION ET OBLIGATIONS (Rôle, Responsabilités, Assainissement et santé publique)

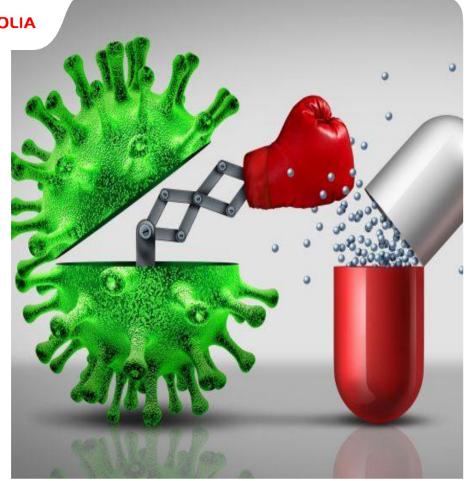
04

PERFORMANCES DES TRAITEMENTS (Méthodes de surveillance, Eaux, Boues, Épandage)

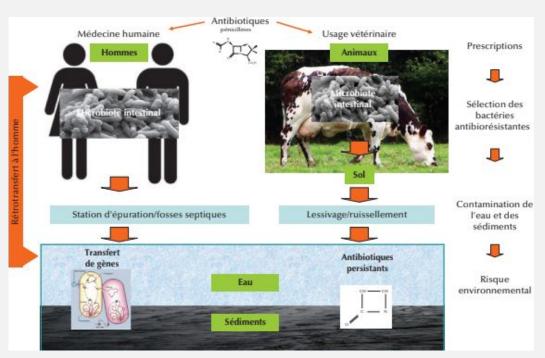


# 01-Origines et impacts de l'antibiorésistance

- o Origines et causes
- o Sources d'émissions
- o Impact sanitaire et environnemental



#### Origine et causes de l'antibiorésistance Sélection dans le microbiote intestinal, rejet dans les eaux

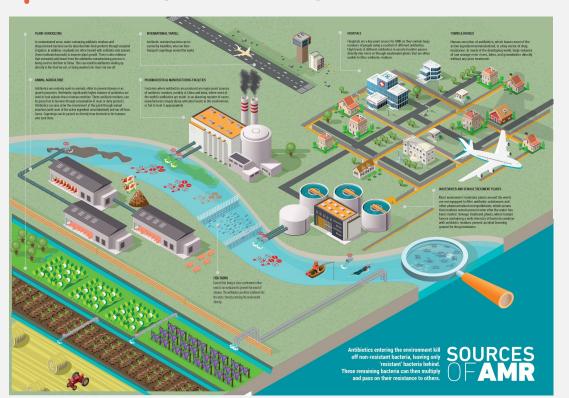


#### Causes de l'antibiorésistance :

- Des bactéries qui mutent et développent des mécanismes de défense en réponse à la présence de médicaments (ATB) => bactéries résistantes (BRA), gènes de résistance (GRA)
- Des substances pharmaceutiques mal éliminées (40 à 90%) et / ou transformées par l'organisme et donc rejetées dans les eaux usées via les fèces/ urine et par des eaux de ruissellement (<u>Cheng et</u> al 2018)
- Une contamination avérée des milieux à cause de l'urbanisation et des pratiques agricoles
- Manque de connaissance sur le devenir de ces polluants émergents dans les milieux (eau, sol)
   => exposition humaine /animale ?

Sources: Petit et al 2017

### Sources d'émission de l'antibiorésistance (AMR) Station d'épuration = organe de traitement et transfert





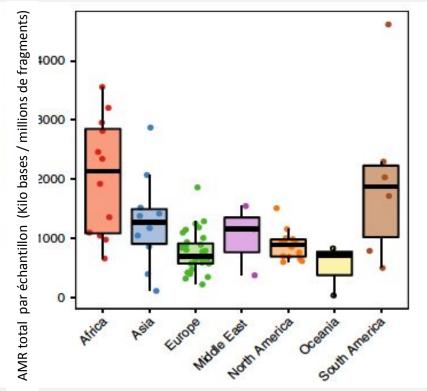


#### Station de traitements des eaux usées (STEU)

- Collecte des eaux urbaines (domestiques, hospitalières,..):
  - grande variété de polluants d'origines diverses arrivant sur la STEU
  - présence de micropolluants (ATB), bactéries résistantes (BRA) & gènes de résistance (GRA).
- Charge polluante = reflet des activités et usages locaux (<u>Wall et al 2016</u>)
- STEU = point critique de l'antibiorésistance (Rizzo et al 2013, Zielinski et al 2021)

Sources: FAO 2016, <u>Paulus et al 2019</u> (Hollande), <u>Pazda et al 2019</u> (Pologne), <u>Alexander et al 2020</u> (Allemagne), <u>Biswal et al 2014</u> (Canada)

#### AMR problème environnemental & santé d'envergure mondiale Accès à l'eau et assainissement : facteur clé pour réduire la propagation



## <u>Une problématique de santé mondiale</u> => programme conjoint OMS,OIE,FAO

- Lien entre AMR et manque d'accès à l'eau et à l'assainissement
- L'accès à l'eau et à l'assainissement = facteur clé pour réduire la propagation de l'AMR
- Plan d'action européen, des actions à mener par les acteurs de l'eau :
  - Mieux prendre en compte le rôle de l'environnement
  - Développer des outils de surveillance de l'environnement
  - Évaluer et améliorer les technologies de traitement des eaux afin de réduire les rejets

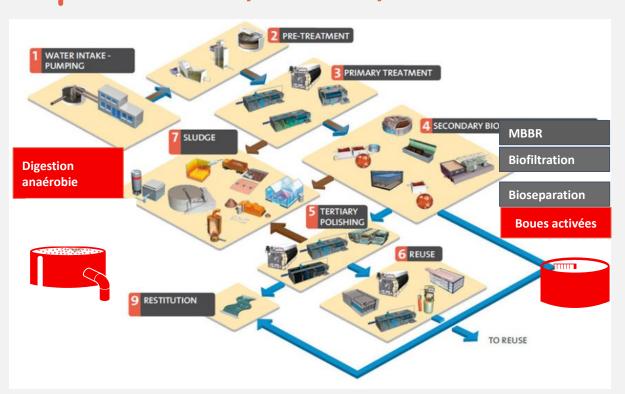


## 02-Rôle des stations d'épuration et obligations

- o Fonctionnement d'une station d'épuration
- o Assainissement et santé publique
- o Responsabilités et obligations



#### Zoom sur le fonctionnement d'une station de traitement Quels sont les points critiques vs l'antibiorésistance?



#### Comment fonctionne une STEU?

- Traitement biologique = technologie courante en station de traitement des eaux usées urbaines (boues activées > 80 %)
- Élimination MES, DBO<sub>5</sub>, DCO, (N,P)
- Pas de surveillance spécifique de l'antibiorésistance
- Points critiques= traitement boues activées + digestion anaérobie (Rizzo et al 2013)

#### Réglementation sur l'assainissement (EUT)

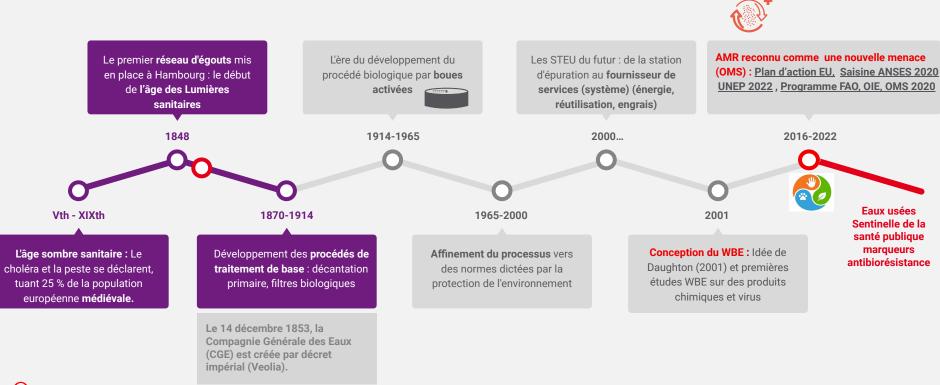
## Absence de critères spécifiques AMR pour les rejets

Paramètre	Charge brute de pollution organique reçue par la station		Concentration maximale à OU respecter	Rendement minimum à atteindre	Concentration rédhibitoire
		FILE EAL	: CAS GÉNÉRAL		
DPA	< 120 kg/j DBO <sub>s</sub>	< 2 000 EH	35 mg (O <sub>2</sub> )/I	60%	70 mg (O <sub>2</sub> )/I
DBO <sub>s</sub>	≥ 120 kg/J DBO,	≥ 2 000 EH	25 mg (O <sub>3</sub> )/I	80%	50 mg (O <sub>2</sub> )/I
DCO	< 120 kg/J DBO,	< 2 000 EH	200 mg (O <sub>3</sub> )/I	60 %	400 mg (O <sub>3</sub> )/1
	≥ 120 kg/j DBO <sub>s</sub>	≥ 2 000 EH	125 mg (O <sub>2</sub> )/I	75%	250 mg (O <sub>3</sub> )/I
MES 🖰 🐧	< 120 kg/J DBO <sub>s</sub>	< 2 000 EH	/	50 %	85 mg/l
	≥ 120 kg/J DBO <sub>s</sub>	≥ 2 000 EH	35 mg/l	90 %	85 mg/l
	FILE	E EAU : EN ZONES SENS	IBLES À L'AZOTE ET AU PHE	OSPHORE	
NGL (A)	> 600 et ≤ 6 000 Kg/JDBO <sub>s</sub>	> 10 000 EH et ≤100 000 EH	15 mg/l	70 %	
HOL D	> 6 000 kg/JDBO,	> 100 000 EH	10 mg/l	70 %	
Ptot	> 600 et ≤ 6 000 Kg/JDBO,	> 10 000 EH et ≤ 100 000 EH	2 mg/l	80 %	*
	> 6 000 kg/JDBO,	> 100 000 EH	1 mg/l	80 %	

- Règles pour préserver les milieux (Dir 91/271/CEE)
- Exigence sur qualité physico chimique des rejets d'assainissement et rendements épuratoires (surveillance conformité rejet / milieu)
- Des critères microbiologiques (E.coli, Entérocoques) peuvent être exigés si rejet en zone à usage sensible (seuils via arrêtés préfectoraux de rejet STEU)
- Pas de surveillance spécifique sur **l'antibiorésistance** ni les **micropolluants** pour les EU (à l'exception de ceux figurant dans le RSDE, DCE)
- Recherche de polluants métalliques, organiques et indicateurs microbiologiques dans les boues traitées avant valorisation agricole (arrêté 8 janvier 1998 ; autres critères microbiologiques pour les composts de boues NFU 44-095)

#### Assainissement & santé publique

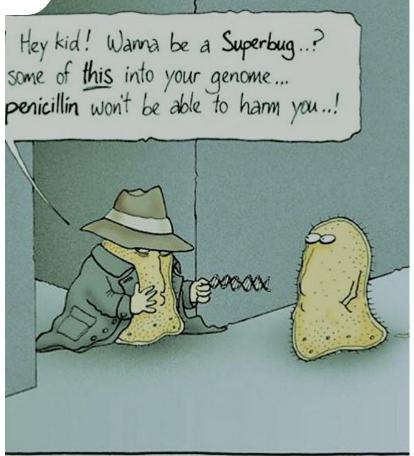
#### AMR un nouveau défi à relever pour l'assainissement ?





03- Comment l'AMR persiste et se propage dans une STEU ?

- o Persistance et propagation de l'AMR en STEU (Facteurs)
- o Niveau de contamination des eaux par des résidus pharmaceutiques
- o Relation entre polluant chimique et AMR



#### Comment l'AMR persiste et se propage dans la STEU

#### Quels sont les facteurs qui contribuent à l'AMR ?

## Charge polluante



#### Présence d'agents sélectifs

- o Concentration (a conc min sélective)
- o Biocides, métaux, détergents...
- o Biodisponibilité
- o Exposition continue

## Gènes de résistance



#### Transfert horizontal de gènes

- o Gènes de résistance
- o Bactériophages
- o Éléments génétiquement mobiles

## Fonctionnement et conditions



Conditions favorables à la croissance et survie

- 0 O<sub>2</sub>
- o T°C
- o Age de boue
- o pH, DCO ...
- o Séquences de traitement

## Abondance et diversité microbienne

#### Persistance & croissance

- o Bactéries pathogènes
- o Densité élevée
- o Croissance/ activité cellulaire
- o Biodiversité
- o Interactions





## 258 RIVIÈRES, 104 PAYS STEU = principal émetteur 631 substances pharmaceutiques ou produits de transformation détectés (>LOD) Divers groupes thérapeutiques

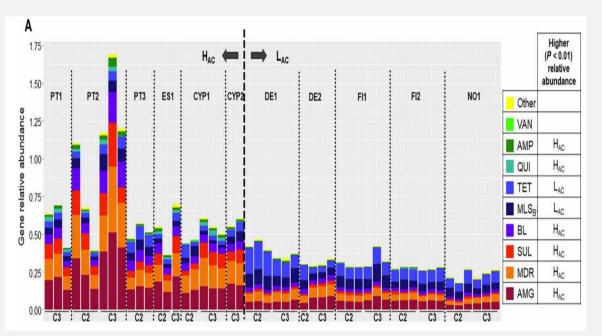
## Des résidus pharmaceutiques dans les rivières

Antibiotiques persistants qui favorisent l'AMR



La pollution pharmaceutique constitue une menace mondiale pour la santé environnementale et humaine, ainsi que pour la réalisation des objectifs de développement durable des Nations Unies

#### Relation entre les polluants chimiques et l'antibiorésistance Impact de la consommation de médicaments sur l'apparition d'AMR



Aperçu des gènes de resistance retrouvés dans les bactéries des effluents d'eaux usées en Europe (12 STEU urbaines).

- Lien entre une consommation élevée d'antibiotiques et l'abondance des gènes et leur diversité
  - => Réduire les antibiotiques à la source
- Lien entre une température plus élevée, la taille de la station d'épuration, la présence d'hôpitaux et l'apparition de l'antibiorésistance (non illustré directement).

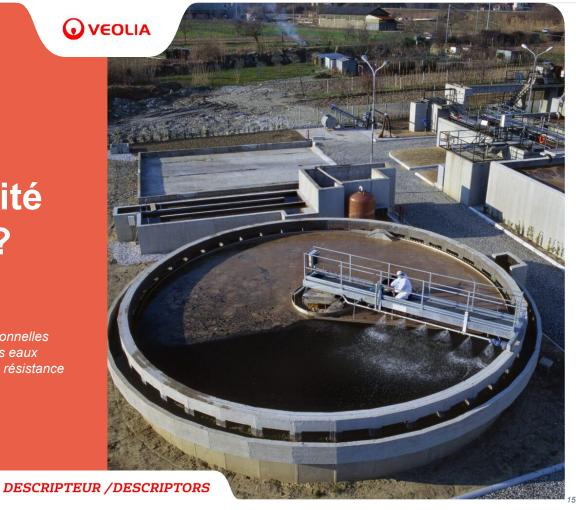
HAC: Pays à forte consommation d'antibiotiques (Portugal, Chypre, Espagne, Irlande)

LAC: Pays à faible consommation d'antibiotiques (Allemagne, Norvège, Finlande)



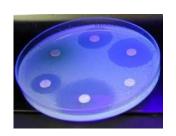
## 04-Quelle efficacité des traitements?

- o Méthodes de surveillance
- o Filière traitement eau usées conventionnelles
- o Procédés de traitements unitaires des eaux
- o Dynamique d'évolution des gènes de résistance
- o Traitement des boues
- o Valorisation agricole des boues



#### Comment détecter l'antibiorésistance dans l'environnement?

#### Des méthodes R&D, pas encore standardisées



#### Méthodes par culture

(Identification et numération des bactéries résistante aux antibiotiques, BRA)

Évaluation de la capacité des bactéries à se développer sur un milieu de culture en présence d'un ou de plusieurs antibiotiques (BRA).

=>Abondance relative des bactéries résistantes



Méthodes par biologie moléculaire PCR conventionnelle ou haut débit (quantification des gènes de résistance, GRA, Résistome)



Détection et quantification des gènes spécifiques responsables de la résistance aux antibiotiques

=> Abondance / Expression des différents gènes ciblés ( UG/ g ou UG/ biomasse microbienne ARN 16S)



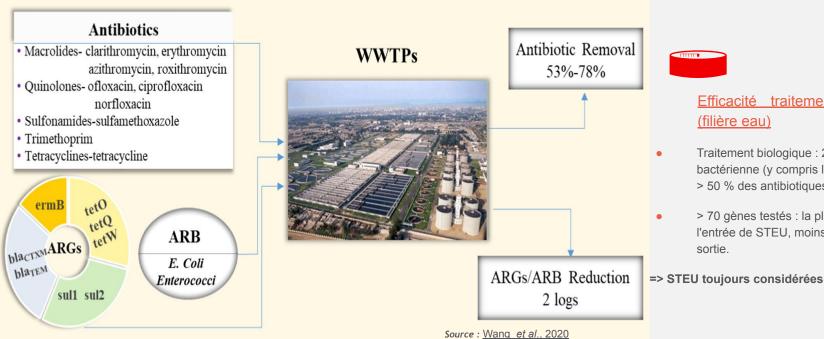
Méthodes par biologie moléculaire
/Séquençage haut débit
(Identification des communauté microbiennes résistantes proportions, Métagénomique)



Détection de toutes les bactéries résistantes (GRA) dans une population. => description du résistome

Journée Hepta Académique | une seule sante, les micropes et rantipioresistance en partage - 19 juin 202

## Traitement conventionnel des eaux usées urbaines Élimination partielle des déterminants AMR dans la file eau



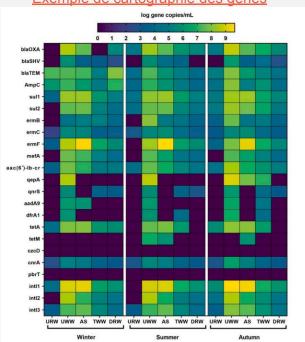
## Efficacité traitement conventionnel

- Traitement biologique: 2 logs de la charge bactérienne (y compris les bactéries AMR) et > 50 % des antibiotiques.
- > 70 gènes testés : la plupart trouvés à l'entrée de STEU, moins de la moitié à la
- => STEU toujours considérées comme émettrices

Autres sources: Alexander et al 2020 et Cacace et al 2019 (Allemagne), Goulas et al 2020 (France), Pazda et al 2019 (Pologne), Pallares-Vega et al 2019 et Blaak et al 2021 (Pays-Bas), Ferreira et al 2022 (Portugal).

## Dynamiques d'évolution des GRA pendant l'épuration Un réservoir de gènes irréductibles, quel risque associé?

#### Exemple de cartographie des gènes



#### Beaucoup de gènes éliminés, mais certains irréductibles voir néoformés

- Quantitatif :
  - Une diminution significative du nombre de gènes après traitement
  - Absence de valeur seuil d'interprétation
- Qualitatif:
  - Certains gènes persistent (non éliminés)
  - D'autres peuvent apparaître (sélection de nouveaux gènes de résistance)
- => Des travaux de R&D complémentaires nécessaires

Source: Zielinski et al 2021

## Technologies tertiaires de traitement des eaux usées Un arsenal de technologies efficaces à combiner

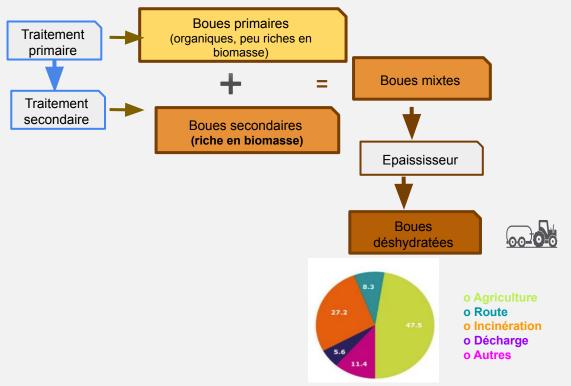
Procédés spécifiques	Résidus pharmaceutiques	Gènes de résistance	Bactéries résistantes	Forces	Faiblesses
Adsorption sur charbon actif	60-90 %(pharmaceutiques, vétérinaire, cosmétique) 80-90 % (Pesticides)			Facilité de mise en oeuvre Adaptable Compact Peu énergivore	Résidus de traitement à traiter Fréquence de renouvellement parfois important (OPEX)
Oxydation avancée (O <sub>3</sub> ,UV, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	80-100 % (pharmaceutiques, vétérinaire, cosmétique) 60-90 % (Pesticides)	UV : 0,8 -1,21 log Ozonation : 1,68 -2,55 log UV/ Fe/ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : 2,5 -3,8 log	≈ 2 log de coliformes fécaux L'O <sub>3</sub> pourrait favoriser la libération des gènes de résistance (proportion de bactéries avec des gènes de résistance supérieures en sortie)	Compact Facilité de mise en oeuvre Propriétés de désinfection	Formation de sous produits de désinfection CAPEX élevé pour ozonation A combiner avec des technologies de filtration pour éliminer les sous produits
Chloration		1,6 -2,3 log	2 log de coliformes fécaux	Propriétés de désinfection	Formation de sous produits de désinfection
Membranes	MBR : 70-95 % (pharmaceutiques)	MBR : 2,5-5 log	UF > 4,2 log	Barrière vs pathogènes efficace sur grand panel de molécule Pas de génération de sous produits	Pas d'information sur efficacité sur les gènes (ADN) CAPEX élevé lié à la membrane



Journée Hepta Académique une seule santé, les microbes et l'antibiorésistance en partage - 15 juin 202.

#### Boues générés pendant le traitement des eaux

## Une accumulation dans les boues brutes

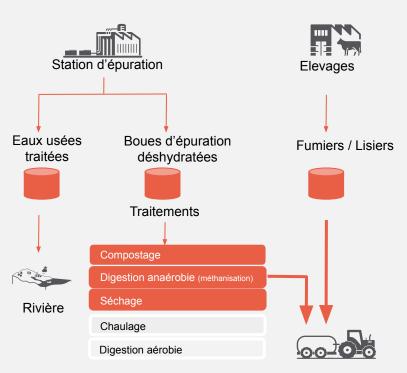


#### Boues d'épuration :

- Boues = déchet organique pâteux, compact et fermentescible issues du traitement des EU
- Production ≈ 2 L boues brutes / personne / jour, très liquides 1 à 10 g MS / L
- Europe : 10 Mt de matière sèche par an produite (Eureau 2021, Astee 2020)
- Présence de ressources précieuses valorisables :
   C (25-35% (DS), N (4-5% MS), P (2-3% MS), O (20-25% MS) résidus (oligo-éléments, métaux,etc).
- Valorisation agronomique prépondérante en Europe (>50%, spécificités nationales)
- Teneurs en bactéries résistantes, gènes de résistance attendues : plus élevées que l'EU (<u>Uluseker et al 2021</u>)

### Traitements des boues d'épuration

#### Des traitements efficaces pour réduire les gènes

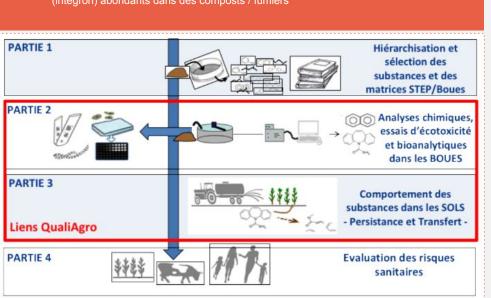


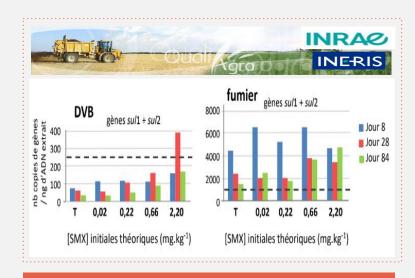
- Fumiers / lisiers davantage contaminés que les boues (<u>Zhang</u> et al 2019, <u>Macedo et al 2020</u>, <u>Lima et al 2020</u>, <u>Kampouris et al 2021</u>)
- Compostage, séchage et digestion anaérobie thermophile performants pour réduire significativement les gènes de résistance dans les boues (Goulas et al 2020).
- Epandage: augmente la diversité et l'abondance des gènes de résistance dans les sols.Persistance des gènes variables (jours-mois) selon leur nature.
- Boues traitées: poursuite de l'atténuation des gènes après contact avec les sols : moindre stabilité, pollution transitoire (Kampouris et al 2021).

Procédés de traitement des boues	% réduction des gènes (GRA)		
Compostage (n=27)	<b>84 %</b> (65-93%) selon T°C		
Digestion anaérobie (n=28)	<b>51%</b> (-2 -77 %) selon T°C		
Séchage (n=5)	<b>98 %</b> (80-100%)		
Digestion aérobie (n=3)	58 % (-40393%)		

## Etude de l'impact de l'épandage sur le fonctionnement des sols Des gènes abondants .. devenir et impact à étudier

- Programme R&D collaboratif depuis 22 ans (INRAE Grignon -S. Houot): caractériser la valeur agronomique de composts d'origine urbaine et leurs impacts environnementaux
- Essai au champ et travaux en laboratoire
- Premières données sur l'antibiorésistance : gènes (sut 1,sut2) et éléments mobiles (intégron) abondants dans des composts / fumiers





- Forte abondance de gènes de résistance aux sulfonamides dans les fumiers et composts (présents naturellement dans les sols)
- Augmentation dans le sol après épandage : 0,5 log (boues), 1,5 log (fumier). Puis diminution au cours du temps.
- L'apport de dose croissantes de sulfamethoxazole dans le sol augmente la quantité de gènes et les temps d'exposition longs
   Poursuivre l'évaluation des impacts (culture, animaux ...)



## **05- Quelles solutions** pour lutter contre l'antibiorésistance?

o Harmonisation des méthodes d'analyse et expression des résultats o Actions proposées par un opérateur pour lutter contre l'antibiorésistance o Futurs projets R&D



## Des indicateurs communs à intégrer dans les futures études Harmonisation des méthodes et modalités d'interprétation

#### Genres bactériens prioritaires (OMS, Anses 2020)

			Critères de prise en compte				
Espèce, groupe ou	ATB ou classe d'ATB	OMS (2017a)			GT	Habitat réservoir principal* (Niche écologique)	
genre bactérien	concernés par la résistance		Priorité 1 Priorité 2 Priorité 3		Ajout du		
Acinetobacter baumannii	Carbapénèmes					Animaux et Homme	
Pseudomonas aeruginosa	Carbapénèmes					Homme, poissons et eaux	
Klebsiella pneumoniae	Carbapénèmes, C3G					Homme et animaux	
Escherichia coli	Carbapénèmes, C3G (indicateur)					Homme et animaux	
Enterobacter spp.	Carbapénèmes, C3G					Homme et animaux	
Serratia spp.	Carbapénèmes, C3G					Homme et animaux	
Proteus spp.	Carbapénèmes, C3G					Homme et animaux	
Providencia spp.	Carbapénèmes, C3G					Homme et animaux	
Morganella spp.	Carbapénèmes, C3G					Homme et animaux	
Enterococcus faecium	Vancomycine					Homme et animaux	
(Staphylococcus aureus)	Méticilline (indicateur)					Mammifères et oiseaux	
(Helicobacter pylori)	Clarithromycine					Primates	
(Campylobacter spp.)	Fluoroquinolones					Animaux	
Salmonella non typhiques	Fluoroquinolones					Animaux	
Salmonella non typhiques	C3G (indicateur)					Animaux	
Salmonella Kentucky	Multi-R (indicateur)					Animaux	
Shigella spp.	Fluoroquinolones					Homme	
Aeromonas spp.	) i					Eaux douces et animaux associés	
Stenotrophomonas maltophilia						Sols (dont rhizosphère)	
Vibrio spp.						Eaux littorale et marine et animaux marins	
Flavobacterium spp.						Eaux et sols	
Clostridium perfringens						Homme et animaux Sols et eaux	
Clostridioides difficile					8	Homme et animaux	
Burkholderia cepacia sensu lato						Plantes et sols	

Pro	positions d'indicateurs e	et modalités d'inter	prétation (A	Anses et al 2020)	Sélection	des

Indicateur proposé	Méthode de détermination	Résultats et unités	Intérêts	Limites
E. coli résistant aux céphalosporines de 3° génération ou E. coli BLSE°	Culture sur milieux sélectifs	- Valeur absolue (CFU.L-¹) de préférence - Valeur relative par rapport à la concentration d'E. coli totaux	- Suivi relativement simple - Indicateurs de vulnérabilité du milieu - Présents dans les sols, eaux, sédiments - Évaluent l'impact anthropique sur l'ABR dans l'environnement - Identifient des hotspots et/ou des périodes à risque de contamination par les BRA d'origine anthropique - Indicateurs utilisés en médecine humaine et vétérinaire	- Ne permettent pas de décrire de nouvelles BRA - Perdent rapidement leu cultivabilité dans l'environnement - Pas de suivi du devenir spatio-temporel à grande échelle
intl1 ou sul1 <sup>b</sup>	qPCR	- Abondance relative (copie de gènes/ADNr 16S) - Nombre de copies.L-¹ pour les matrices liquides - Nombre de copies.g MS-¹ pour les matrices solides	- Suivi relativement simple - Informent sur la dynamique de résistance globale - Indicateurs de pression anthropique - Peuvent être couplés avec la recherche de GRA pour apprécier la dynamique de transfert	N'identifient pas les GRA présents     Méthode non standardisée     Problème possible d'inhibiteurs d'extraction et/ou d'amplification dans certaines matrices environnementales contaminées

(Nasreen Hassoun-Kheir 2020 1. intl1 2. sul1 and sul2 3. bla-KPC 4. bla-OXA 5. blaCTX-M 6. blaTEM 7. blaNDM-1 8. blaVIM 9. bla-SHV 10. anrS 11. aac-(6')-lb-cr 12. vanA 13. mecA 14. ermB and ermF 15. tetM 16. aph

aènes

#### Vision d'un opérateur pour lutter contre l'antibiorésistance

4 typologies d'actions prospectives



#### **Veille Scientifique**

- Etat de l'art (occurrence, devenir, résilience du milieu, solutions..).
- Veille institutionnelle (ANSES, OMS, ...)
- Travaux harmonisation des méthodes d'analyses (Promise, LNE, Norman .. )



#### Réduction à la source

- Identifier des actions de réduction à la source des antibiotiques et biocides (à encourager en interne)
- Promouvoir le traitement des effluents les plus polluants (industries, hôpitaux...)
- Action de protection des ressources
- Sensibilisation aux changements de pratiques (consommateurs) pour limiter la charge entrante dans les STEU



#### Surveillance et évaluation impact

- Développer et valider des méthodes analytiques innovantes en tenant compte des recommandations externes
- Mieux évaluer le rôle des STEU dans la dissémination de l'antibiorésistance dans l'environnement, via des travaux de recherche
- Identifier les points critiques (effluents hospitaliers, conditions opérationnelles..).



#### Traitements adaptés vs besoin

- Concevoir et promouvoir des filières de traitements plus performantes et adaptées aux besoins
- Coupler des procédés et utiliser des traitements tertiaires si nécessaire (Charbon actif, Membranaire, Biologiques...)..



Journée Hepta Académique une seule santé, les microbes et l'antibiorésistance en partage - 15 juin 2022

#### Futurs sujets de recherche AMR et STEU

#### Comment mieux comprendre... et atténuer le risque?



L'AMR nécessite une collaboration entre experts multidisciplinaires Certaines briques méthodologiques existent déjà, d'autres doivent être développées

Méthodes de surveillance environnementale	Charge polluante en entrée (polluants émergents)	Caractériser les efficacités d'élimination (STEU existantes / technologies représentatives) => post traitement ?	Évaluer l'impact environnemental et sanitaire des activités des STEU
Utilisation rationnelle des antibiotiques, des produits biocides	Indicateurs harmonisés (comparaison des résultats)	Travailler avec des experts scientifiques (process, microbio, chimie, vétérinaire)	Modélisation mathématique (épandage, croissance microbienne)
Choix d'un traitement avancé (contexte économique et écologique)	Coordination avec les experts de la santé et réglementation pour évaluer les risques et prendre des décisions	Effet des conditions opérationnelles sur la propagation (pH, T°C, DCO, Âge de boue)	Fixer des seuils pour les principales sources ponctuelles (hôpitaux, élevages d'animaux, etc.).

#### **Conclusions**

#### Rappel des messages clés





Organe de transfert de l'AMR

Rôle dans la sélection AMR ?

Mission: Éliminer la matière organique, la pollution (C, N, P...)

Non conçues pour éliminer la pollution AMR

## PERFORMANCES DES TRAITEMENTS





Eau : Combiner les technologie existantes => meilleures efficacités (filtration, UV, ozonation, oxydation avancée)?

Boues : Favoriser les traitements par compostage, séchage et digestion anaérobie thermophile



#### ACTIONS DE RÉDUCTION A LA SOURCE



Inciter à limiter l'utilisation des antibiotiques ( + autres agents sélectifs)

Favoriser si possible les antibiotiques biodégradables

Fixer des seuils pour les sources principales (hôpitaux, agriculture intensive, ...).



#### ACTIONS DE VEILLE & TRAVAUX PROSPECTIFS



Méthodologies : harmonisation surveillance et d'expression des résultats

évaluation des risques AMR à développer (devenir, impact)

Travaux de R&D à mener : Perspective One Health

But : Mieux évaluer le rôle des STEP (facteurs)

Identifier les points critiques

Évaluer la performance des filières ou nouvelles filières (en intégrant de la modélisation).

#### MERCI POUR VOTRE ATTENTION...

