

ANNÉE 2014

N° 086

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Amélie Saussereau

Présentée et soutenue publiquement le 09/10/2014

REJET DES ANTIBIOTIQUES ET DES BACTÉRIES RÉSISTANTES DANS L'ENVIRONNEMENT : RISQUES SANITAIRES ?
--

Président : Mr. Jean-Michel ROBERT, Professeur de Chimie Thérapeutique

**Membres du jury : Mme. Françoise BALLEREAU, Professeur de Santé Publique
Mlle. Delphine SÉHÉDIC, Docteur en Pharmacie**

Remerciements

A Mme Ballereau, Professeur de Santé Publique, d'avoir accepté de diriger ce travail. Merci pour votre disponibilité et vos conseils.

A Mr. Jean-Michel Robert, de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

A Delphine Séhédic, Pharmacien, de me faire le plaisir d'être membre de ce jury. Merci également pour ces bons moments passés pendant ces longues années de pharmacie.

Au Dr. Jean-Michel Azanowsky, Conseiller technique en charge du programme antibiorésistance à la Direction Générale de la Santé, initiateur de ce sujet de thèse il y a plusieurs années. Encore merci pour tes conseils, ta disponibilité et ta gentillesse.

Au Dr. Dominique Monnet, ECDC, pour ses précieux conseils qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.

A ma famille, notamment mes parents, qui m'ont toujours soutenue pendant toutes ces années, et également pour la réalisation de ce document.

A mon Jojo, de m'avoir soutenue lors de la réalisation de cette thèse. Merci pour tout ce que tu m'apportes au quotidien.

A mes grosses et aux copains universitaires de l'UNA, pour ces bons moments passé à ramer pendant ces années de pharmacie, que ce soit en universitaire ou en compétition. Une pensée particulière pour ma morue, ainsi qu'à Gaël Ledu et Christophe Latteignant, qui m'ont permis de goûter au plaisir de la compétition.

A Carole Rouaud et à Muriel Cohen, pour leur bonne humeur quotidienne, qui m'ont accompagnée pendant les premiers mois de travail sur ce sujet à la Direction Générale de la Santé.

Sommaire

Introduction	6
1. Utilisation des antibiotiques, émergence de la résistance et émissions dans l'environnement	7
1.1 Généralités sur les antibiotiques et les résistances bactériennes	7
1.1.1. Les antibiotiques	7
1.1.2. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques	8
1.1.3. Approches utilisées pour évaluer les résistances	11
1.2 Sources d'émission des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement	13
1.2.1. Emission liée à la médecine humaine	13
1.2.2. Emission liée à la médecine vétérinaire	21
1.2.3. Emission par les industries	28
1.2.4. Cas particulier des stations d'épuration	30
1.2.5. Emissions d'effluents non traités	38
2. Devenir dans l'environnement et conséquences pour la santé humaine	39
2.1 Devenir dans l'environnement	39
2.1.1 Devenir des antibiotiques	40
2.1.2 Devenir des bactéries résistantes	45
2.2 Conséquences pour la santé humaine	49
2.2.1 Les antibiotiques	49
2.2.2 Les bactéries résistantes	51
3. Discussion et perspectives	55
3.1 Réduction des rejets au niveau des sources d'émission	55
3.1.1 Emission liées à la médecine humaine	55
3.1.2 Emission liées à la médecine vétérinaire	56
3.1.3 Emission par les industries	57
3.1.4 Emission par les stations d'épuration	57
3.2 Les axes de recherche	58
Conclusion	60

Liste des tableaux

Tableau 1 : Exemples de la diversité protéique et génétique impliquée dans la résistance acquise à certaines familles d'antibiotiques.....	11
Tableau 2: Taux d'excrétion des antibiotiques chez les humains.....	16
Tableau 3: Estimation semi quantitative de l'élimination des antibiotiques dans les eaux par des traitements avancés.....	33
Tableau 4 : Destination des boues issues des stations d'épuration en France en 2007	36
Tableau 5 : Transmission des antibiotiques depuis l'environnement à l'homme.....	49
Tableau 6 : Synthèse des données bibliographiques sur l'exposition humaine aux antibiotiques au sein de l'environnement.....	50
Tableau 7 : Transmission des bactéries résistantes depuis l'environnement à l'homme	52

Liste des figures

Figure 1: Synthèse des mécanismes d'action des antibiotiques.....	7
Figure 2 : Exemple de mécanismes de transferts intra et inter cellulaire de gène, impliqué dans l'acquisition des gènes de résistance.	9
Figure 3 : Illustration des divers mécanismes de résistance aux antibiotiques utilisés par la bactérie par famille d'antibiotiques	10
Figure 4 : Culture bactérienne de <i>Staphylococcus aureus</i>	12
Figure 5 : Répartition de la consommation des principales classes d'antibiotiques utilisées dans 42 pays et régions de l'Europe, données de 2011	15
Figure 6 : Devenir des antibiotiques vétérinaires issus des animaux de rente en stabulation dans l'environnement.....	23
Figure 7 : Processus d'élimination dans les stations d'épuration	31
Figure 8: Chemins possibles des antibiotiques et des résistances bactériennes dans l'environnement	39
Figure 9 : Devenir des antibiotiques dans les sols	41
Figure 10 : Sorption et mobilité des familles d'antibiotiques	42
Figure 11 : Interaction entre les apports anthropiques et le microbiome	52
Figure 12 : Interaction entre les différents compartiments au sein de l'environnement	54

Liste des annexes

Annexe 1 : Consommation des antibiotiques en France, en ville et à l'hôpital, entre 2000 et 2012	
Annexe 2 : Fonctionnement des intégrons	
Annexe 3 : Généralités sur les stations d'épuration en France	
Annexe 4 : Caractéristiques physico-chimique des antibiotiques	
Annexe 5 : Occurrence des antibiotiques dans certains milieux d'exposition, rapportée dans la littérature	

Glossaire

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANMV : Agence Nationale du Médicament Vétérinaire

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

ARN : Acide RiboNucléique

BLSE : β -lactamase à spectre étendu

C3G : Céphalosporines de troisième génération

C4G : Céphalosporines de quatrième génération

CFU : Unité Faisant Colonie

DDJ : Dose Définie Journalière

DJA : Dose Journalière Admissible

EBLSE : les enterobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu

ECDC : European Centre for Disease prevention and Control (Centre européen de prévention et de contrôle des maladies)

EMA : European Medicine Agency (Agence Européenne du Médicament)

ERV : Enterocoques résistantes à la vancomycine

E. coli : *Escherichia coli*

ESO : Eaux SOuerraines

ESU : Eaux SUperficielles

ESVAC : European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption (Surveillance Européenne de la consommation des antimicrobiens vétérinaires)

EARS-Net : European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (surveillance des résistances bactériennes en Europe)

FAO : Food and Agriculture Organisation (Organisation des Nations-Unies pour l'alimentation et l'agriculture)

FDA : Food and Drug Administration (Agence Américaine des produits alimentaires et médicamenteux)

HC : Constante de Henry

InVS : Institut de Veille Sanitaire

IR : Intégrons de résistance

Kd : coefficient de partage eau/sol

Koc : coefficient de partage carbone organique/eau

Kow : Coefficient de partage octanol/eau

K. pneumoniae : *Klebsiella pneumoniae*

OIE : World Organisation for Animal Health (organisation mondiale pour la santé des animaux)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P.aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthycilline

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

SIMV : Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire

S. pneumoniae : *Streptococcus pneumoniae*

STEP : STation d'EPuration

UV : Ultraviolets

Introduction

Le premier antibiotique, la pénicilline, produite par un champignon du genre *Penicillium*, a été découvert par Sir Alexander Fleming en 1928. Puis, à partir de 1935, de nouveaux antibiotiques ont été découverts, et cette nouvelle famille de médicaments s'est développée.

Ainsi, l'utilisation des antibiotiques a permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du XX^{ème} siècle, comme par exemple la tuberculose ou la syphilis. Depuis les années 1950, leur usage n'a cessé de croître en médecine humaine et animale, principalement à des fins curatives, préventives, voire en complément alimentaire dans l'alimentation animale.

Néanmoins, leur emploi massif et répété a conduit à l'apparition de bactéries résistantes. À l'heure actuelle, ces phénomènes surviennent dans tous les pays du monde.

Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues préoccupantes car susceptibles de générer à long terme des impasses thérapeutiques, et donc une augmentation de la mortalité liée aux infections bactériennes.

Ces deux dernières décennies, des questions se posent quant au devenir des antibiotiques et des résistances bactériennes dans l'environnement. En effet, après administration, que ce soit en médecine humaine ou animale, des antibiotiques ainsi que des bactéries résistantes se retrouvent dans les excréta. Ils peuvent ainsi rejoindre l'environnement et interagir avec le microbiome¹ environnemental.

Dans la mesure où l'homme est en interaction avec l'environnement, et donc le microbiome environnemental, la question soulevée est la suivante : le rejet de ces éléments dans l'environnement est-il susceptible de générer des risques sanitaires pour l'homme ?

Cette thèse a pour objet de faire un état des lieux des connaissances sur cette problématique.

Elle est divisée en trois grands chapitres :

- le premier traite de l'utilisation des antibiotiques, de l'émergence des résistances et des émissions dans l'environnement ;
- le deuxième chapitre présente le devenir des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement, ainsi que les conséquences pour la santé humaine ;
- le troisième chapitre a pour objet une discussion sur les résultats obtenus, et la proposition d'axes d'améliorations et de recherches pour contribuer à la lutte contre l'émergence de l'antibiorésistance.

Ce travail a été réalisé à partir de recherches bibliographiques issues de Medline (période de 1990 à 2014), de données disponibles *via* internet, ainsi que de documents disponibles sur le sujet (rapports, thèses).

¹ Ensemble des génomes des bactéries dans l'environnement

1. Utilisation des antibiotiques, émergence de la résistance et émissions dans l'environnement

1.1. Généralités sur les antibiotiques et les résistances bactériennes

1.1.1. Les antibiotiques

Un grand nombre d'antibiotiques provient de substances naturelles, fabriquées par des micro-organismes (champignons ou autres bactéries), afin d'éliminer les agents avec lesquels ils sont en compétition dans leur biotope. À très faible dose (on parle alors de concentrations sub-inhibitrices), ils peuvent également jouer un rôle de communication au sein et entre les espèces bactériennes. Ceci peut avoir pour conséquence une répercussion sur la transcription et l'expression de certains gènes.

Dans le cadre des activités humaines, ces molécules sont produites au laboratoire, soit par synthèse, à partir de dérivés artificiels (par exemple les sulfamides, les quinolones), ou par héli-synthèse, après modification de la structure d'un antibiotique naturel (par exemple les β -lactamines, les tétracyclines). Elles sont par la suite utilisées en médecine humaine et animale à des doses suffisamment élevées, dans le but de traiter ou de prévenir les infections bactériennes(1) (2).

Chaque molécule a une action spécifique sur une bactérie, en bloquant l'une des étapes essentielles de son développement, à savoir :

- en inhibant la synthèse de leur paroi (cas par exemple des β -lactamines, des glycopeptides) ;
- en inhibant la synthèse de leur matériel génétique (Acide DésoxyriboNucléique (ADN) ou Acide RiboNucléique (ARN)) (cas des fluoroquinolones) ;
- en inhibant la synthèse de protéines qui leur sont essentielles (cas des macrolides, tétracyclines) ;
- en bloquant certaines voies de leur métabolisme (cas des sulfamides).

Ces différents mécanismes d'action sont représentés sur la Figure 1 ci-après.

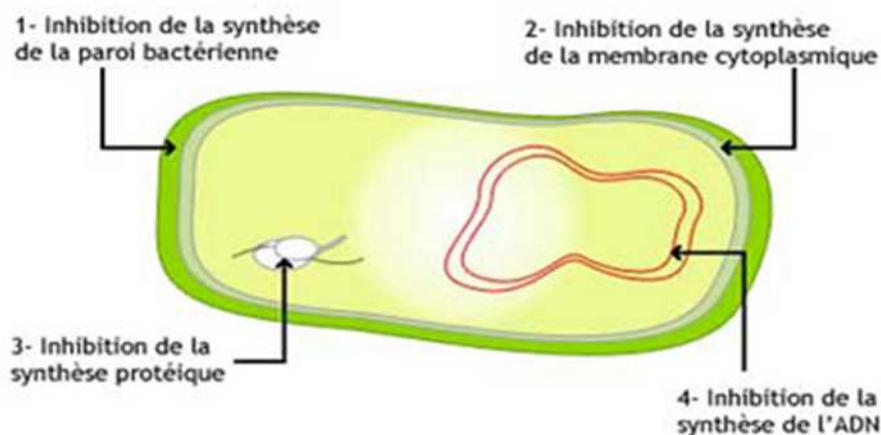


Figure 1: Synthèse des mécanismes d'action des antibiotiques

Afin de lutter contre les antibiotiques, les bactéries ont développé des mécanismes de résistance.

1.1.2. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques

La résistance bactérienne peut-être innée ou acquise.

La résistance naturelle (ou résistance innée), concerne toutes les souches d'une même espèce bactérienne, c'est-à-dire que leur patrimoine génétique les rend insensibles à certains antibiotiques. C'est par exemple le cas des *Escherichia coli* vis-à-vis de la vancomycine, ou encore de *Pseudomonas aeruginosa* face à l'ampicilline. Ainsi, cette résistance est génétique et se transmet à la descendance au moment de la division cellulaire, d'une cellule mère vers ses cellules filles : c'est le transfert vertical. Le caractère « immobile »² ne présente pas un rôle majeur dans la dissémination de la résistance.

La résistance acquise entraîne l'apparition subite d'une résistance à un ou plusieurs antibiotiques auxquels la bactérie était auparavant sensible. Ce mécanisme est lié à deux phénomènes : la mutation chromosomique ou le transfert horizontal de gènes (3).

La mutation d'un gène chromosomique peut se produire de manière aléatoire au cours de la réplication du génome bactérien, par exemple par erreur de copie. Ces mutations sont la plupart du temps silencieuses. Néanmoins, il arrive que ces mutations touchent des gènes codant pour des cibles d'antibiotique, permettant ainsi aux bactéries de contourner l'effet de celui-ci. Dans un tel cas, elles peuvent être responsables de l'apparition de nouveaux phénotypes de résistance. Ainsi, dans le cadre d'une mutation chromosomique, la bactérie devient généralement résistante à un antibiotique ou à une famille d'antibiotiques (3) (4).

Les transferts horizontaux consistent en l'acquisition par la bactérie de matériel génétique porteur d'un ou de plusieurs gènes de résistance.

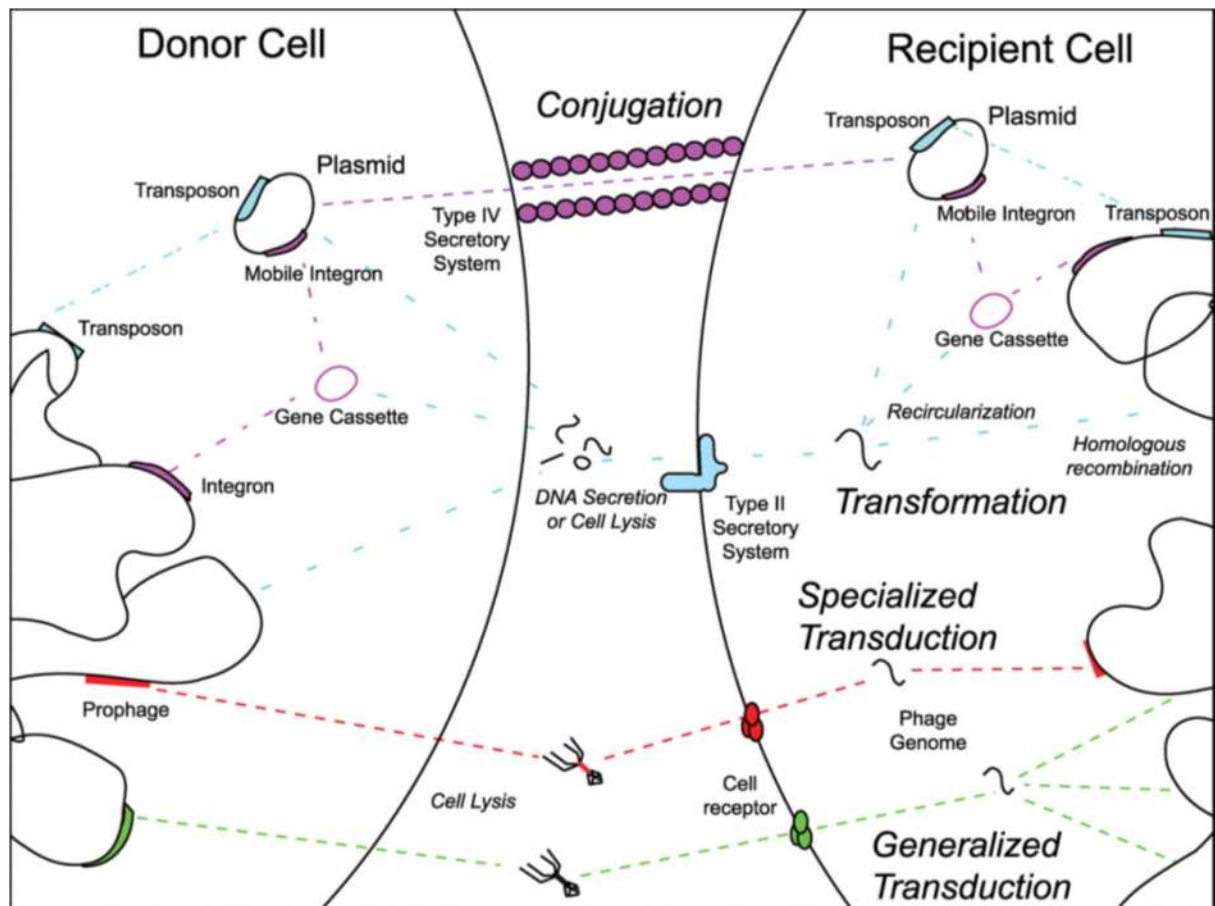
Les gènes de résistance peuvent être portés par différents supports génétiques transférables, tels que les plasmides, les transposons, et les cassettes de gène d'Intégrons de Résistances (IRs). Au sein d'une bactérie, l'ensemble de ces éléments forment un *pool* de gènes de résistance, variable d'une bactérie à l'autre. Les bactéries pourront interagir entre elles et avec d'autres espèces, permettant la dissémination de ces éléments génétiques porteurs de résistances.

Les trois modes de transfert horizontal de gènes permettant le mouvement d'ADN d'une cellule à une autre peuvent se faire par l'intermédiaire :

- de gènes présents sur des fragments libres : on parle d'un mécanisme de transformation ;
- de phages qui transportent des gènes de résistance et qui vont les transmettre aux bactéries qu'ils vont infecter : on parle d'un mécanisme de transduction ;
- de gènes transportés par des plasmides, et qui impliquent le contact entre deux bactéries *via* la formation d'un pont protéique : on parle alors d'un mécanisme de conjugaison.

L'ensemble de ces mécanismes est représenté sur la Figure 2 ci-après.

² Ce type de résistance ne s'échange pas entre espèces bactériennes



Donor cell : cellule donneuse
 Plasmid : plasmide
 Mobile integron : intégron mobile
 Gene cassette : cassette de gène
 Cell Lysis : Lyse cellulaire
 DNA secretion or cell Lysis : sécrétion
 ADN ou lyse cellulaire
 Secretion system : système de sécrétion

Recipient cell : cellule receveuse
 Homologous recombination :
 recombinaison homologue
 Recircularization : reprend sa forme
 circulaire
 Phage genome : génome du phase
 Cell receptor : récepteur cellulaire
 Conjugation : conjugaison

Figure 2 : Exemple de mécanismes de transferts intra et inter cellulaire de gène, impliqué dans l'acquisition des gènes de résistance.

Lors de l'acquisition de gènes de résistance, la bactérie peut devenir résistante à un antibiotique, à plusieurs antibiotiques de la même famille (résistance croisée), voire à plusieurs familles d'antibiotiques et même à d'autres composés tels que les métaux et les pesticides (gènes de co-résistance).

Il faut noter qu'à l'heure actuelle, c'est l'acquisition de nouvelles résistances par des bactéries pathogènes qui pose des problèmes de santé publique (3).

En outre, des phénotypes de résistance bactérienne sont également présents dans l'environnement, et sont connus sous le nom de « résistome³ ». Une proportion de ce résistome est mobile, et capable de bouger librement entre les espèces de procaryotes *via* le transfert horizontal de gènes. Ces éléments mobiles et les gènes qu'ils portent représentent le

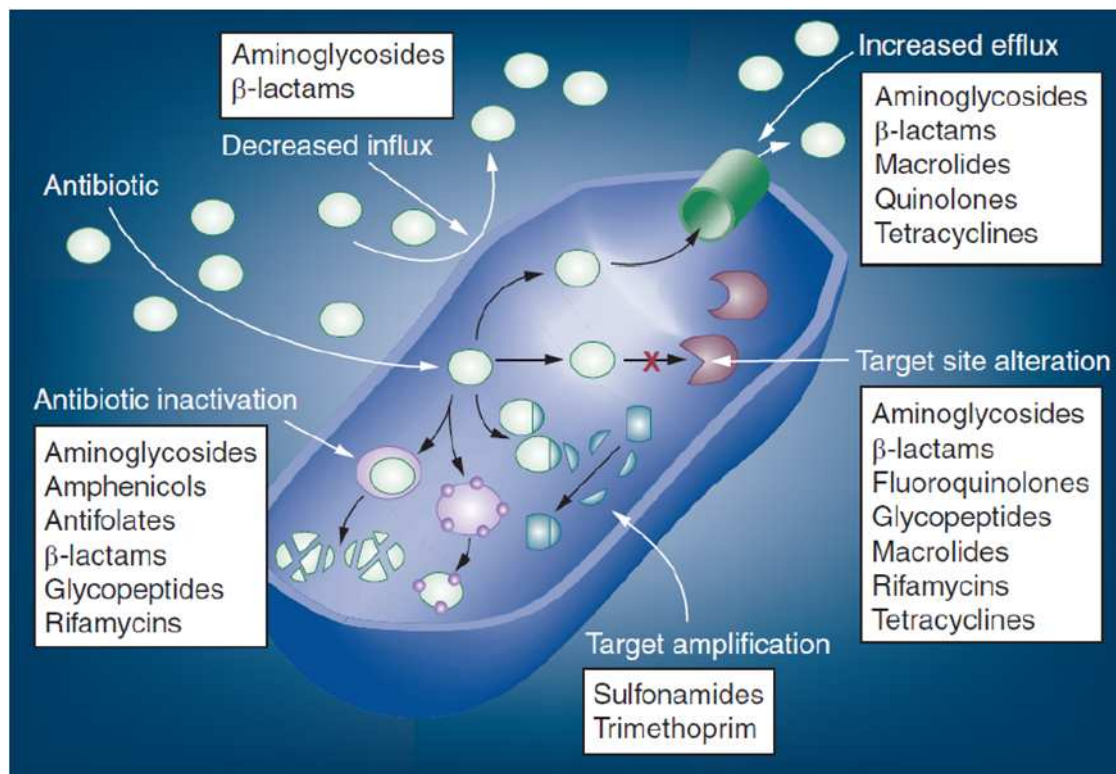
³ Un résistome est un ensemble de gènes conduisant à des résistances

mobilome⁴. Par conséquent, il ne peut être exclu qu'il existe des interactions, et donc des échanges de gènes de résistance entre les bactéries humaines et les bactéries environnementales (5).

Ainsi, les modifications génétiques permettent aux bactéries de lutter contre les antibiotiques *via* différents mécanismes à savoir :

- la production d'une enzyme modifiant ou détruisant l'antibiotique ;
- la modification de la cible de l'antibiotique ;
- l'imperméabilisation de la membrane bactérienne.

Un à plusieurs mécanismes de résistance ont été identifiés, par famille d'antibiotiques. Ils sont présentés sur la figure ci-après.



Decreased influx : réduction de l'influx

Antibiotic : antibiotique

Antibiotic inactivation: inactivation
de l'antibiotique

Increased efflux : augmentation de l'efflux

Target site alteration : altération de la cible
cellulaire

Target amplification : amplification de la cible

β-lactams : β-lactames

Rifamycins : rifamycines

Trimethoprim : triméthoprime

Figure 3 : Illustration des divers mécanismes de résistance aux antibiotiques utilisés par la bactérie par famille d'antibiotiques

⁴ Le mobilome est la partie mobile du génome bactérien

Il existe une diversité de gènes, et donc de protéines codant pour un même mécanisme de résistance. Le Tableau 1 ci-après présente des exemples de gènes et de protéines qui peuvent être à l'origine de résistances (4).

Famille d'antibiotique	Mécanisme	Protéines	nombre de variants de gène	exemple de famille de gène
Aminoglycosides	Inactivation de l'antibiotique	Acétyltransférases	80	<i>aacA, sat</i>
		nucléotidyltransférases	37	<i>aadA, aadB</i>
		Phosphotransférases	32	<i>aphA</i>
		Méthyltransférase	9	<i>rmt</i>
β -lactamines	Inactivation de l'antibiotique	β -lactamase, "Amber classA"	594	<i>bla_{BEL}, bla_{TEM}, bla_{CTX-M}, bla_{SHV}, bla_{GES}</i>
		β -lactamase, "Amber classB"	219	<i>bla_{IMP}, bla_{YIM}</i>
		β -lactamase, "Amber classC"	216	<i>bla_{CMR}</i>
		β -lactamase, "Amber classD"	224	<i>bla_{OXa}</i>
Chloramphénicol	Inactivation de l'antibiotique	acétyltransférases type A	16	<i>catA</i>
		acétyltransférases type B	6	<i>catB</i>
	Efflux	-	8	<i>cmlA, floR, fexA, cmrA</i>
Quinolones	Protection de la cible	protéines de la famille des "pentapeptide repeat protein"	8	<i>qnrA</i>
			32	<i>qnrB</i>
			1	<i>qnrC</i>
			1	<i>qnrD</i>
			4	<i>qnrS</i>
Tetracyclines	Efflux	-	26	<i>tet</i>
	Protection de la cible	-	11	<i>tet</i>
Thriméthoprimes		dihydrofolate réductase	41	<i>dfrA, dfrB</i>

Tableau 1 : Exemples de la diversité protéique et génétique impliquée dans la résistance acquise à certaines familles d'antibiotiques.

Afin de caractériser ces résistances, plusieurs approches peuvent être utilisées au laboratoire.

1.1.3. Approches utilisées pour évaluer les résistances

Afin d'évaluer l'antibio-résistance présente dans un échantillon, plusieurs types d'approches peuvent être utilisées. Dans le présent document, deux approches seront traitées : on distingue les approches fondées sur la culture de bactéries ou les approches fondées sur la détection de déterminants génétiques.

Les études disponibles sur la **culture de bactéries**, dans la littérature, portent généralement sur l'isolement de bactéries d'intérêt clinique et connues pour être impliquées dans les infections nosocomiales. On peut citer par exemple les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline. Cette bactérie est mise en évidence sur gélose de baird parker, sur lequel on observe des colonies caractéristique de couleur noire entourées d'un halo-opaque de fibrine. Ce type de culture est présenté sur la Figure 4 ci-après.

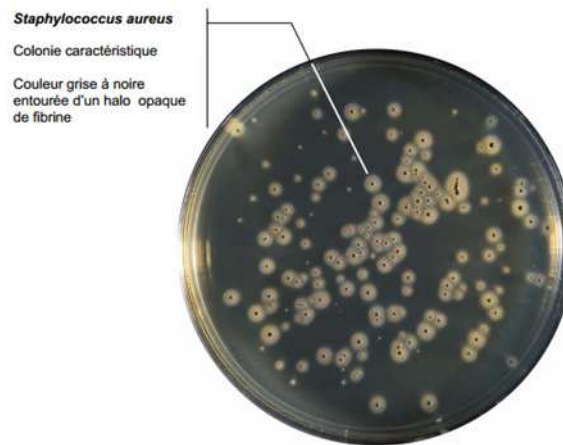


Figure 4 : Culture bactérienne de *Staphylococcus aureus*

Ainsi, la culture bactérienne permet d'obtenir une bonne caractérisation de la résistance pour une espèce donnée. Néanmoins, elle ne prend pas en compte tout le microbiote⁵ environnemental, qui peut également jouer un rôle dans les échanges et la conservation de l'information génétique. Par conséquent, elle ne rend compte que d'une petite fraction de la diversité bactérienne réelle. En outre, les méthodes employées d'une étude à une autre peuvent varier (antibiotiques testés, définition de l'antibiorésistance, utilisation de milieux sélectifs), rendant complexe la comparaison des résultats. Ceci constitue une des limites de cette technique.

L'approche fondée sur la **détection de déterminants génétiques** à partir des acides nucléiques, également appelée « approche métagénomique », est une méthode plus récente. Elle permet la détection, la quantification, voire même la caractérisation de déterminants génétiques impliqués dans la résistance aux antibiotiques (gène de résistance) ou impliqués dans leur dissémination (éléments génétiques mobiles). Cette technique permet d'avoir des données représentatives de la résistance aux antibiotiques. Néanmoins, cette méthode ne donne pas d'information directe sur les espèces bactériennes impliquées dans la résistance ainsi que leur phénotype de résistance, constituant une des limites de cette méthode.

⁵ Ensemble des micro-organismes (champignons, levures, bactéries, virus) vivant dans un environnement spécifique (le microbiome)

1.2 Sources d'émission des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement

Les antibiotiques sont utilisés, et par la suite rejetés, avec des bactéries résistantes, dans plusieurs domaines :

- en médecine humaine, en ville ou à l'hôpital ;
- en médecine vétérinaire, *via* les animaux de compagnie, en élevage agricole, ou en pisciculture ;
- par différents types d'industries (notamment les industries fabriquant et/ou mettant en forme les substances pharmaceutiques).

Les émissions issues de la consommation humaine et des industries peuvent être acheminées au niveau des STations d'EPuration (STEP), où elles sont traitées, puis rejetées au sein de l'environnement.

Le présent paragraphe a pour objet de présenter ces différentes sources d'émissions.

1.2.1. Emission liée à la médecine humaine

1.2.1.1. Antibiotiques

1.2.1.1.1. Utilisation

Les antibiotiques sont largement utilisés en médecine humaine. En 2001 la France était le pays européen qui consommait le plus d'antibiotiques, contribuant à des taux élevés de résistance bactérienne, à l'hôpital mais aussi en ville.

Suite à ce constat, et en réponse à la recommandation du conseil européen concernant l'utilisation prudente des agents antimicrobiens en médecine humaine, des mesures ont été mises en œuvre en Europe, et notamment en France, *via* la mise en place d'un plan d'action pluriannuel ayant pour objectif de maîtriser et de rationaliser la prescription des antibiotiques. Actuellement, le troisième plan pluriannuel 2011-2016 est en cours.

Grâce aux diverses actions menées la consommation de ces composés a chuté de 9 % entre 2002 et 2012 en France (avec néanmoins une hausse de la consommation de 3% ces cinq dernières années). En 2010, la France en était le quatrième pays le plus consommateur en Europe (6).

La consommation est plus importante en ville (90%) qu'à l'hôpital (10%), mais que l'exposition est plus importante à l'hôpital : en 2011, plus de quatre patients sur dix hospitalisés ont reçu une dose d'antibiotique, alors qu'en ville ce taux journalier est inférieur à 30 personnes sur 1000 (3) (6).

Au regard des données disponibles, il apparaît que la classe des β -lactamines est la plus utilisée aussi bien en ville qu'à l'hôpital. Au cours de ces dix dernières années, il a été observé une extension de l'usage des céphalosporines de troisième génération (en ville et à l'hôpital), d'un recours de plus en plus fréquent à l'association amoxicilline-acide clavulanique

(notamment en ambulatoire), et, concernant l'usage hospitalier, l'usage accru de la colistine et des carbapénèmes.

Dans le cadre des premières réflexions sur les antibiotiques considérés comme « critiques », réalisée par l'ansm en décembre 2013, l'association amoxicilline-acide clavulanique, ainsi que les céphalosporines ont été identifiés comme des antibiotiques particulièrement générateurs de résistances. Les pénèmes ont été assimilés comme des antibiotiques de « dernier recours » vis-à-vis des bactéries à Gram négatif (7).

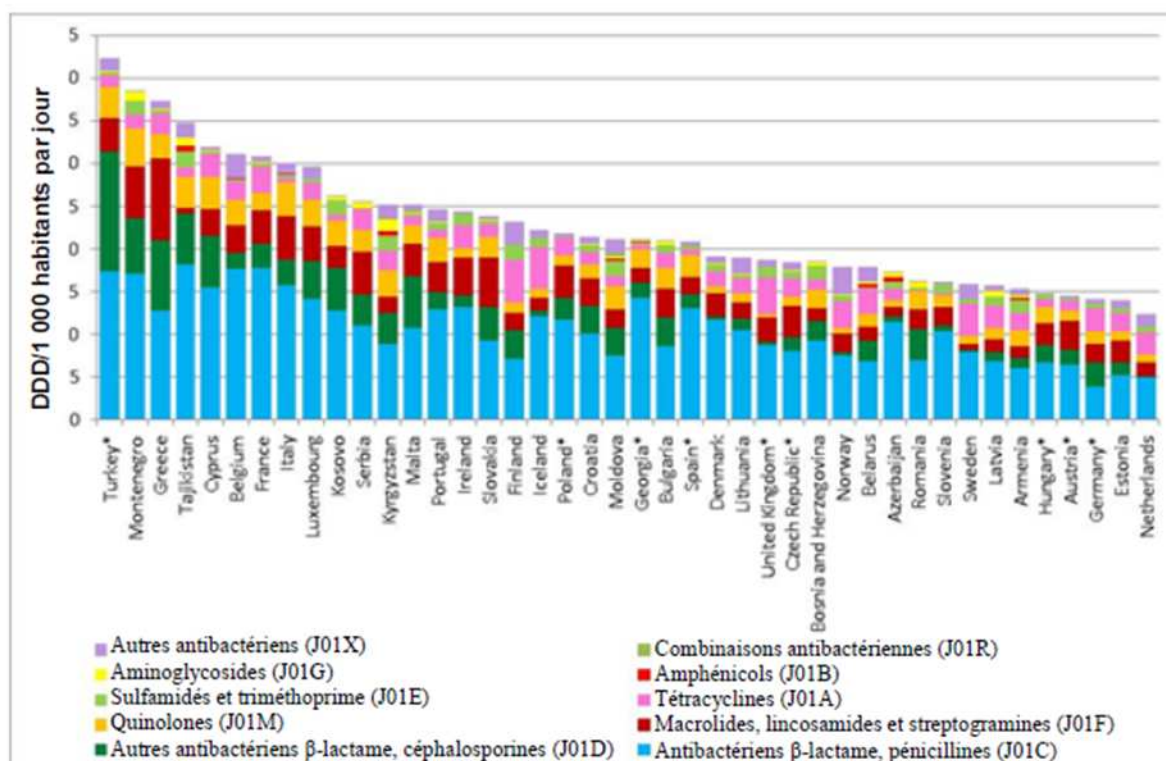
En outre, les céphalosporines de dernière génération, correspondant aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) et de 4^{ème} génération (C4G), constituent l'alternative ou l'une des seules alternatives pour le traitement de certaines maladies infectieuses chez l'homme (molécules actives sur l'ensemble des entérobactéries). Les carbapénèmes constituent parfois la dernière classe majeure d'antibiotiques actifs sur certaines bactéries (molécules ayant le spectre le plus large de toute les β -lactamines, avec une action sur les bactéries à Gram positif et celles à Gram négatif).

La recrudescence de l'utilisation de ces composés traduit une augmentation des résistances aux antibiotiques utilisés en première intention sur ces dix dernières années.

Les données relatives à la consommation des antibiotiques en France, en ville et à l'hôpital, entre 2000 et 2012 sont présentées en Annexe 1.

Au niveau l'Union Européenne (UE), depuis les années 2000, le suivi annuel de la consommation des antibiotiques est réalisé par le réseau de surveillance Européen de la consommation d'antimicrobiens (ESAC-net) du centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC). En mars 2014, un nouveau rapport publié dans la revue *The Lancet Infectious Diseases* a édité pour la première fois des données sur la consommation totale des antibiotiques dans 42 pays et région d'Europe, membres et non membres de l'UE (8).

La Figure 5 ci-après représente la répartition de la consommation des principales classes d'antibiotiques dans ces 42 pays en 2011, exprimée en Dose Définie Journalière (DDJ) pour 1000 habitants et par jour. Chaque barre représente un pays spécifique, et chaque couleur indique les consommations enregistrées des différentes classes d'antibiotiques dans ce pays (8).



Consommation totale d'antibiotiques en 2011 exprimée en nombre de doses journalières définies (DDD) pour 1 000 habitants et par jour dans 12 pays d'Europe et au Kosovo par rapport aux 29 pays du Réseau ESAC-Net.

La catégorie (sous-groupe ATC) « Autres antibactériens β-lactame, céphalosporines » regroupe les carbapénèmes et les monobactames ; « Autres antibactériens » regroupe les antibactériens glycopeptides, les polymyxines, l'acide fusidique, les dérivés de l'imidazole, les dérivés du nitrofurane et d'autres antibactériens.

* Pays faisant seulement état de la consommation ambulatoire d'antibiotiques.

L'Espagne et la Roumanie ont communiqué des données de remboursement.

« Kosovo (conformément à la résolution 1244 (1999) du Conseil de sécurité des Nations Unies) ».

Figure 5 : Répartition de la consommation des principales classes d'antibiotiques utilisées dans 42 pays et régions de l'Europe, données de 2011

Pour ces 42 pays, il apparaît que, comme en France, les β-lactames et pénicillines sont les composés les plus communément utilisés et consommés.

1.2.1.1.2. Elimination

Après administration, les antibiotiques se retrouvent dans l'organisme où une partie est métabolisée par le foie, générant des métabolites, et l'autre partie restera sous forme inchangée.

Le Tableau 2 ci-après, réalisé à partir des données de la littérature, présente le pourcentage de ces composés qui peut-être présent sous forme inchangé, dans les excréta (9).

Classe d'antibiotique	substances	Excrétion en %
		Inchangé
Bêta lactamines	Amoxicilline	80-90
	Ampicilline	30-60
	Pénicilline V	~ 40
	Oxacilline	~ 40
	Pénicilline G	50-70
	dicloxacilline	~ 65
Sulfamides	Sulfaméthoxazole	~ 15
Pyrimidine	Triméthoprim	~ 60
Macrolides	Erythromycine	> 60
	Roxithromycine	> 60
	Clarithromycine	> 60
Phénicolé	Chloramphénicol	5-10
Tétracyclines	Chlortétracycline	> 70
	Tétracycline	80-90
	Minocycline	~ 60
	Oxytétracycline	> 80
	Doxycycline	>70
Fluoroquinolones	Norfloxacin	70
	ofloxacin	75-85
	Ciprofloxacine	83,7

Tableau 2: Taux d'excrétion des antibiotiques chez les humains

Au vu de ces résultats, il apparaît que 30 à 90% des antibiotiques administrés sont retrouvés sous forme inchangé dans les excréta. Certains sont présents à hauteur de 50% minimum sous forme inchangé (macrolides, tétracyclines, fluoroquinolones). 40 à 90% des β -lactamines, composés largement utilisés en médecine humaine, sont excrétés en tant que tel. L'ensemble de ces molécules est donc présent dans les effluents.

1.2.1.1.3. Rejet dans les effluents urbains

La composition en antibiotiques dans les effluents est variable, et peut différer selon l'origine du rejet (par exemple ville et/ou hôpital). En général, le contenu reflète les substances et le volume de médicaments consommés (10) (11).

De nombreuses données relatives aux effluents hospitaliers sont disponibles, dans la mesure où il est admis que les concentrations en antibiotiques à la sortie de ces établissements sont très élevées (bien plus élevées que dans les eaux usées municipales). Les teneurs mesurées sont de l'ordre de la dizaine de microgramme par litre, du fait d'une utilisation importante, localisée, associée à une faible dilution (9). Les molécules et les quantités mesurées dépendent du type d'activité exercé (par exemple, les services d'infectiologie et de soins intensifs semblent être les plus gros utilisateurs) (12). Une variation des concentrations peut-être observée au cours de l'année, même si ces molécules sont présentes tout au long de l'année. Ainsi, des teneurs plus importantes en période hivernale comparé aux concentrations estivales ont été observées à la sortie d'un hôpital parisien. Cette observation semble logique au regard

du mode d'utilisation de ces médicaments (la quantité de personnes malades, et donc susceptibles de consommer des antibiotiques, est plus importante en hiver) (13).

La plupart des établissements hospitaliers en Europe et en France ne possèdent pas de station de traitement spécifique, et sont raccordés aux effluents urbains⁶. Après rejet dans les effluents urbains, les effluents hospitaliers sont rapidement dilués, car leur part d'émission est nettement plus faible comparé aux effluents municipaux. Ainsi, les concentrations en antibiotiques mesurées à l'entrée des stations d'épuration sont faibles, de l'ordre du ng/L.

Sur la base de ces éléments, la contamination des eaux usées en entrée des STEP peut varier en fonction du type de structure rattachée au réseau d'assainissement (plus le nombre d'établissement de soins rattaché est important, plus la quantité d'antibiotiques mesurée peut-être importante). En outre, les quantités peuvent également varier en fonction de la saison (la dilution des eaux usées par les eaux de pluies, notamment en automne, ainsi que la période épidémique observée en hiver peuvent influencer les concentrations).

À noter par ailleurs la présence d'interactions entre les composés au sein des effluents qui induit, pour certaines molécules, leur dégradation biologique (14). Ainsi, bien que les pénicillines soient les antibiotiques les plus prescrits à l'hôpital et en ville, et faiblement métabolisés avant leur élimination, leur teneur en entrée de station d'épuration est rarement détectables. Les antibiotiques majoritairement retrouvés sont les molécules les plus persistantes dans les eaux, comme par exemple les quinolones/fluoroquinolones et les macrolides (13) (15).

1.2.1.2. Bactéries résistantes

1.2.1.2.1. Généralités

L'exposition aux antibiotiques est susceptible d'entraîner l'émergence de résistances bactériennes.

Afin de suivre l'évolution de ce phénomène, en France, la surveillance repose sur de nombreux partenaires et réseaux de surveillance dont la coordination est placée sous l'égide de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS). En Europe, ce suivi est réalisé depuis 1998 par le réseau de surveillance des résistances bactériennes en Europe (*European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* : EARS-Net). Ce réseau de surveillance est coordonné par l'ECDC depuis 2010.

Pour rappel, bien que 90% de la consommation d'antibiotiques soit réalisée en ville, un patient hospitalisé a plus de chance de recevoir des antibiotiques. En tout état de cause, les établissements de santé constituent des lieux où peuvent s'exercer plus facilement des pressions de sélection. En outre, la population y est dense, ce qui favorise les risques de transmission croisée. La mise en place de stratégies de prévention de la transmission (*via* notamment le respect des règles d'hygiène) y est essentielle.

⁶En France, tout rejet, autre que domestique, dans le réseau d'assainissement collectif doit être préalablement autorisé (autorisation de déversement) (111).

Des résistances surviennent également en ville, au décours d'antibiothérapies «apparemment anodines» : sous la pression d'un banal traitement antibiotique par voie orale, une espèce bactérienne de la flore intestinale peut développer un mécanisme de résistance. La molécule va alors détruire la flore associée et laisser le champ libre à la bactérie résistante pour se développer. Le transfert par manuportage devient ainsi plus facile, conduisant à la diffusion de bactéries résistantes de manière plus ou moins rapide, selon le niveau d'hygiène de la population (3).

En 2012, les données du réseau EARS-Net France, qui proviennent d'établissements publics et privés montrent la très nette augmentation de la résistance des entérobactéries (*Escherichia coli* (*E. coli*) et *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*)) aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) en lien principalement avec la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). La comparaison de la situation de la France avec celles des autres pays participant au réseau EARS-Net montre une évolution de la résistance plus importante en France que dans d'autres pays. En revanche, la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries reste faible en France.

Concernant les autres couples bactérie-antibiotique étudiés par le réseau EARS-Net, les résultats montrent une augmentation de la résistance aux carbapénèmes pour *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), stabilisée ces dernières années à un haut niveau (>15 % des souches) ; pour *Acinetobacter* spp., la résistance aux carbapénèmes était de 3,3 % en 2012.

D'autres résultats sont plus favorables : pour les entérocoques, ils sont stables avec une résistance aux glycopeptides qui se maintient à des niveaux très faibles. Enfin, pour la résistance à la méticilline de *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) et la sensibilité diminuée à la pénicilline de *Streptococcus pneumoniae* (*S.pneumoniae*), on observe depuis plusieurs années une baisse continue des indicateurs (16).

Ainsi, ces bactéries sont susceptibles d'être rejetées par les patients infectés ou colonisés⁷ dans leurs excréta. Elles peuvent alors se retrouver dans les effluents urbains et hospitaliers.

1.2.1.2.2. Rejet dans les effluents urbains

Les phénotypes de résistance émis correspondent principalement aux antibiotiques qui ont été consommés, même s'ils peuvent aussi correspondre à des molécules qui n'ont pas été prescrites (13) (17). Par exemple, l'analyse du profil phénotypique d'*E. coli* dans les rejets d'une maison de retraite a montré que la bactérie était à la fois résistante à l'antibiotique prescrit, et à au moins un antibiotique non prescrit. Ces propriétés de multi-résistance peuvent s'expliquer par la présence de cassettes contenues dans les intégrons (13). Les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes jouant un rôle important dans l'acquisition et la dissémination des gènes de résistance chez les bactéries. Le mécanisme de fonctionnement de ces structures est présenté en Annexe 2.

Ainsi, des bactéries résistantes voire multirésistantes, comme par exemple les entérocoques résistants à la vancomycine et les *E. coli* BLSE, correspondant à des souches d'intérêt clinique, sont présentes dans les effluents (18) (19).

⁷ Personnes en parfaite santé qui ne savent pas qu'elles possèdent des microbes ou bactéries résistantes à certains antibiotiques

Aussi, dans la mesure où les hôpitaux sont des lieux de forte prévalence en bactéries résistantes et multi-résistantes, on peut se poser la question si les effluents hospitaliers peuvent représenter une importante voie d'entrée de souches multi-résistantes dans l'environnement et participer à la dissémination de l'antibiorésistance.

Certaines études ont comparé les résistances aux antibiotiques dans les effluents municipaux et dans les effluents hospitaliers.

Dans certains cas, la proportion de bactéries résistantes dans les effluents urbains est supérieure ou égale à celle présente dans les effluents hospitaliers (20). Ce phénomène s'explique par les nombreux désinfectants utilisés dans les hôpitaux, susceptibles de limiter la propagation de ces bactéries. *A contrario*, d'autres études ont mis en évidence des proportions de certaines souches résistantes plus importantes dans les effluents hospitaliers (18) (21) (22). Pour certaines de ces études, les effluents urbains pris en compte contenaient également les effluents des activités des hôpitaux analysés, ou bien les auteurs ne donnaient aucune indication quant à ces effluents (18) (20). Sur cette base, les données disponibles ne permettent pas de faire un état des lieux global de la situation.

Par ailleurs, certaines études ont mis en évidence que les STEP traitant des eaux urbaines recevant les effluents hospitaliers présentaient plus de souches bactériennes résistantes que celles recevant uniquement des effluents municipaux (23) (24). D'autres études ont mis en évidence que, étant donné la faible proportion d'effluents hospitaliers arrivant dans les STEP (en général moins de 1%), leur contribution dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques est probablement négligeable par rapport aux effluents domestiques (21) (25).

Sur la base de ces données, le rôle des effluents hospitaliers dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques au sein des STEP reste très controversé. Aussi, il se pourrait que des acquisitions de gènes de résistance par les bactéries s'effectuent lors de leur séjour dans les canalisations. Ainsi, il a été suggéré que les concentrations en antibiotiques présents dans les effluents pouvaient favoriser l'acquisition de résistance par les bactéries (11).

Sur la base de ces éléments, il apparaît que des souches d'intérêt clinique, présentant ou non des phénotypes de résistance ou de multi-résistance sont présentes dans les effluents issus des rejets municipaux et hospitaliers. L'influence du rejet des hôpitaux reste controversée, et demande à être approfondie.

1.2.1.3. Réglementation

D'un point de vue réglementaire, concernant les antibiotiques, une partie évaluant l'écotoxicité de la molécule existe depuis 2006 dans le dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Pour la majeure partie des médicaments existants, on ne dispose pas d'une connaissance de l'impact environnemental compte tenu de l'antériorité et d'une absence d'obligation de rattrapage. Des études post-AMM permettraient de mieux évaluer le devenir de ces molécules après émission.

Les antibiotiques, en France, ne sont vendus que sur ordonnance. Ce fonctionnement permet de limiter leur consommation, et donc l'émergence de bactéries résistantes.

Concernant les émissions, en France, tout rejet, autre que domestique, dans le réseau d'assainissement collectif doit être préalablement autorisé (autorisation de déversement). Les déversements ne sont autorisés que lorsque les effluents ne présentent plus de danger pour les

réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des usines de dépollution. Il existe donc une réglementation concernant le rattachement, par exemple des hôpitaux, au réseau urbain. La réglementation relative au STEP est décrite plus loin au paragraphe 1.2.4.

1.2.1.4. Synthèse

Ainsi, concernant les antibiotiques, il apparaît que :

- la France est l'un des pays européens les plus consommateurs d'antibiotiques. Un suivi des consommations est réalisé en France et en Europe. Les antibiotiques les plus consommés en France sont les pénicillines et les C3G. L'exposition est plus importante à l'hôpital qu'en ville ;
- les antibiotiques consommés sont émis en grande partie sous forme inchangée dans les excréta. Plus un établissement consomme d'antibiotiques (par exemple les hôpitaux, maisons de retraite), plus les quantités émises sont importantes ;
- ces rejets vont pour la plupart dans les effluents urbains, qui sont traités par les STEP. Les pénicillines, antibiotiques largement utilisés, se dégradent rapidement. Les fluoroquinolones et les macrolides ont tendance à persister dans les eaux.

Concernant les bactéries résistantes :

- une augmentation des bactéries résistantes a été observée en ville et à l'hôpital ces dernières années. En 2012, en France, il a été rapporté une augmentation des résistances des entérobactéries aux C3G, qui peut être à relier avec l'augmentation de l'utilisation de ces composés ;
- ces bactéries sont retrouvées dans les effluents urbains et hospitaliers. La contribution des effluents hospitaliers dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques reste controversée, et des études sont à mener afin de mieux comprendre ce phénomène ;
- au sein des canalisations, avant de rejoindre la STEP, il se peut qu'une sélection de bactéries résistantes s'exerce. Ce phénomène est mal connu.

D'un point de vue réglementaire, il apparaît que :

- en France, l'écotoxicité est évaluée dans le dossier d'AMM depuis 2006. Néanmoins, pour les anciens antibiotiques, ce point n'a pas été étudié. Des études post-AMM permettraient de mieux évaluer le devenir de ces antibiotiques après émission ;
- les antibiotiques sont délivrés uniquement sur ordonnance médicale, ce qui limite leur mauvais usage, et donc l'émergence de résistances bactériennes ;
- les émissions issues des hôpitaux sont soumises à la réglementation française.

1.2.2. Emission liée à la médecine vétérinaire

1.2.2.1. Antibiotiques

1.2.2.1.1. Utilisation

Les antibiotiques sont largement utilisés en médecine vétérinaire. Ils constituent la classe thérapeutique la plus utilisée. Les animaux traités peuvent être classés en trois catégories : les animaux de rente, les animaux de compagnie, et les élevages piscicoles.

Comme en médecine humaine, de nombreuses réflexions autour de la lutte contre l'antibiorésistance se sont développées, dès les années 1990, sous l'égide des organisations internationales (l'organisation des aliments et de l'agriculture (FAO⁸), l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'organisation mondiale pour la santé des animaux (OIE⁹)). Aussi, des lignes directrices sur la surveillance de la résistance et de la consommation des antibiotiques en médecine vétérinaire, l'analyse de risque ou encore l'usage prudent de ces composés ont été élaborées.

Depuis 1999, le suivi des ventes en antibiotiques en France est réalisé par l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail - Agence Nationale du Médicament Vétérinaire (ANSES-ANMV) en collaboration avec le Syndicat de l'Industrie du Médicament Vétérinaire (SIMV). Ce suivi permet d'évaluer l'utilisation de ces molécules, et de suivre l'évolution des pratiques en matière d'antibiothérapie chez les différentes espèces animales (26).

Depuis 2006, les antibiotiques ne sont plus utilisés comme facteur de croissance en Europe.

En 2010, l'Agence Européenne des Médicaments (EMA) a mis en place une coordination du suivi des ventes d'antibiotiques au niveau européen, *via* le réseau européen de surveillance de la consommation des antimicrobiens vétérinaires (ESVAC¹⁰).

En outre, en France, un plan pluriannuel « EcoAntibio » pendant la période 2012-2017 a été mis en place par le ministère en charge de l'agriculture (27). Ce plan prévoit un usage prudent et raisonné des antibiotiques, se traduisant par objectifs qualitatifs et quantitatifs (réduire de 25% l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire sur cinq ans, avec un effort particulier de réduction des antibiotiques d'importance critique¹¹ qui sont les céphalosporines de dernière génération et les fluoroquinolones).

Ainsi, en 2012, le volume de vente des antibiotiques pour la médecine vétérinaire en France a été de 782 tonnes (correspondant au plus faible volume jamais enregistré depuis le début du suivi, en 1999). A titre d'information, le volume de vente d'antibiotiques en médecine humaine entre 2001 et 2005 a varié entre 716 et 845 tonnes.

⁸Food and Agriculture Organization

⁹ World Organisation for Animal health

¹⁰ European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption

¹¹ Composés prescrits depuis une quinzaine d'années en médecine vétérinaire, et largement utilisés en médecine humaine, constituant l'alternative ou l'une des seules alternatives pour le traitement de certaines maladies infectieuses chez l'homme. C'est pourquoi les recommandations européennes préconisent, chez l'animal, de ne plus les utiliser en préventif, et de ne les utiliser qu'en deuxième intention en traitement curatif.

À noter que ce volume ne traduit pas précisément l'exposition des animaux. En effet, il existe des différences d'activité et de posologie entre les différentes molécules. Aussi, les antibiotiques récents (par exemple les céphalosporines et les quinolones) nécessitent l'administration de plus faibles doses. Pour évaluer l'exposition, il est donc nécessaire de prendre en compte la posologie et la durée d'administration.

L'observation de l'évolution de l'exposition aux antibiotiques ces dernières années montre une modification de la tendance continue d'augmentation observée jusqu'en 2007. Après une diminution de l'exposition entre 2007 et 2009, l'exposition s'est stabilisée entre 2009 et 2010 et diminue depuis.

L'ensemble de ces résultats montre une réelle efficacité des stratégies mises en œuvre ces dernières années en médecine vétérinaire.

Au regard du suivi des ventes d'antibiotiques, les principaux consommateurs sont les animaux de rente (principalement les porcs, les volailles et les bovins), suivi par les animaux de compagnie, puis les élevages de poissons.

En 2012, il apparaît que les familles d'antibiotiques les plus vendues sont les tétracyclines, les sulfamides, les pénicillines et les macrolides, qui représentent 80% du total des ventes. Les tétracyclines représentent à elles seules 41,4% du tonnage des ventes. Le suivi des expositions indique que les animaux sont traités principalement avec des tétracyclines, des polypeptides, des pénicillines, des macrolides, puis des aminoglycosides et des sulfamides. Concernant les antibiotiques critiques, en 2012, ces composés ont représenté 0,9% du tonnage vendu de matière active et 7,63% du poids vif traité en médecine vétérinaire.

Très peu de spécialités vétérinaires à base d'antibiotiques disposent d'une AMM chez les poissons. En 2012, en France, les poissons sont traités majoritairement avec des tétracyclines, puis avec des quinolones, viennent ensuite les traitements à base de phénicolés.

1.2.2.1.2. Elimination

L'animal, tout comme l'homme métabolise les médicaments. L'administration et le mode d'élimination des antibiotiques est le même. Aussi, on estime que 30 à 90% de ces composés sont excrétés sous forme inchangée (28). Il faut noter que les tétracyclines, molécules les plus utilisées chez l'animal sont décrites comme des antibiotiques stables et persistants dans l'environnement.

Les excréta des animaux peuvent rejoindre directement ou indirectement (*via* l'épandage de fumiers par exemple) l'environnement.

1.2.2.1.3. Rejets dans l'environnement

Les animaux de rente, dont les produits sont destinés à la consommation, représentent de très loin le flux majoritaire de médicaments vétérinaires. Les résidus médicamenteux sont rejetés avec les déjections soit directement sur le sol lorsque les animaux sont en pâture, soit indirectement pour les animaux en stabulation ; dans ce dernier cas, les déjections sont d'abord entreposées (plusieurs mois), puis dans un second temps épandues sur les terres agricoles.

Dans les fumiers, les concentrations en antibiotiques peuvent être très stables, diminuer ou augmenter du fait de la re-transformation de certains métabolites en molécule initiale, comme dans le cas de la sulfaméthazine (9). D'autres études rapportent une biodégradation des antibiotiques due à la forte teneur en micro-organismes. Ainsi, il a été constaté que le ceftiofur de sodium était rapidement dégradé dans du fumier de bétail (29). Une dégradation des β -lactamines et des macrolides a également été observée (30).

La Figure 6 ci-après présente le devenir des rejets issus des animaux de rentes en stabulation.

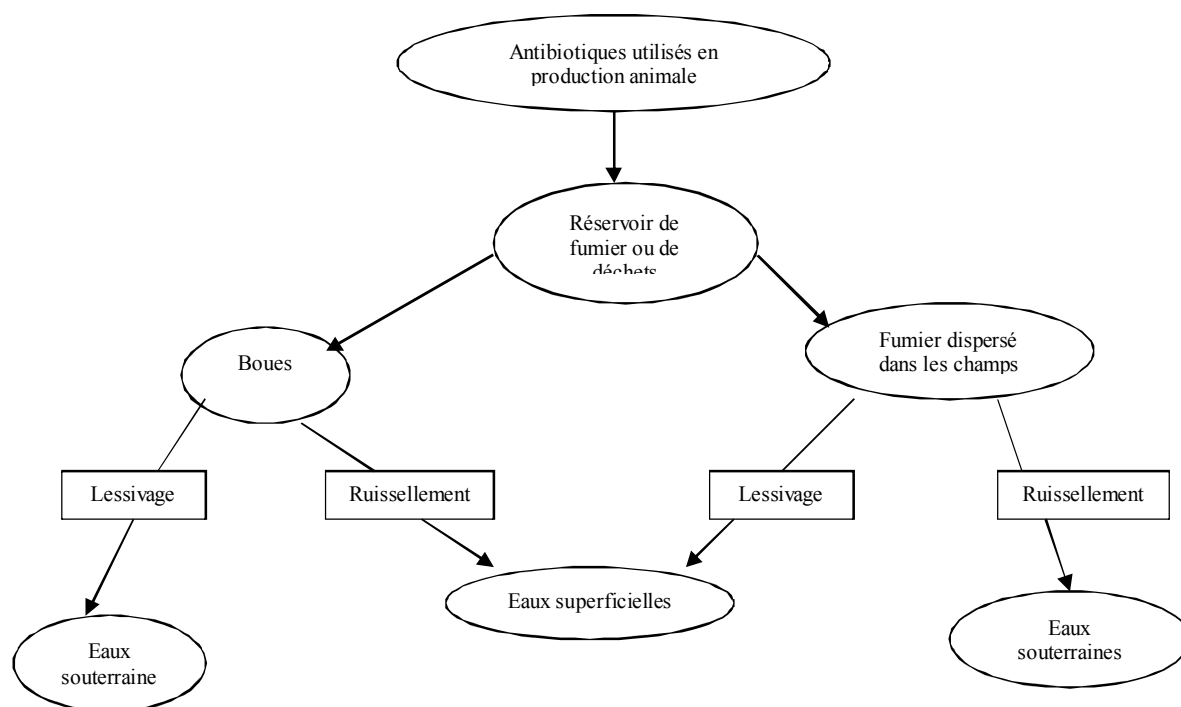


Figure 6 : Devenir des antibiotiques vétérinaires issus des animaux de rente en stabulation dans l'environnement

Les résidus médicamenteux contenus dans les déjections sont donc susceptibles de rejoindre en partie les sols (après épandage), les eaux souterraines (ESO) (après lessivage de sols), les eaux de superficielles (ESU) (après ruissellement sur les sols), et les sédiments, en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques et de celles des sols.

Concernant les animaux de compagnie, les résidus médicamenteux suivent la destination des déjections de ces animaux, par exemple les déchets ménagers, les eaux de lavage des rues, etc.

Pour les animaux d'élevage aquacole, les antibiotiques sont principalement incorporés dans les aliments des poissons et sont épandus dans les eaux d'élevages. Les résidus médicamenteux issus de ce secteur se retrouvent directement dans le milieu aquatique (31). Une proportion évaluée de 70 à 80% de la quantité d'antibiotiques administrés serait relarguée vers l'environnement (9). Les aliments non consommés, ainsi que l'excrétion des antibiotiques *via* les fèces et les urines des poissons présentent une source de pollution dans les fermes aquacoles et dans l'environnement.

1.2.2.2. Bactéries résistantes

Les bactéries des animaux tout comme celles des humains sont susceptibles de générer des résistances bactériennes, qui peuvent se disséminer dans l'environnement ou dans la chaîne alimentaire.

Afin de mieux comprendre et maîtriser ce phénomène, différentes actions ont été récemment menées en France parmi lesquelles :

- le plan EcoAntibio réalisé en 2011 par le ministère de l'agriculture, mis en œuvre entre 2012 et 2017, et qui a pour objectif de réduire les risques d'antibiorésistance ;
- l'auto-saisine de l'ANSES relative à l'évaluation des risques d'émergence de l'antibiorésistance liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale, rapport en date d'avril 2014. Cette auto-saisine a eu pour objectif de préciser les mesures les plus appropriées à mettre en œuvre, dans le domaine de la santé animale, pour une politique efficace de lutte contre l'antibiorésistance (32).

L'évolution de la résistance aux antibiotiques des bactéries pathogènes animales est suivie dans le cadre de la directive européenne sur la surveillance des zoonoses (directive 2003/99/CE), et *via* le réseau RESAPATH, existant depuis 1982 (initialement créé sous le nom de RESABO).

La directive européenne impose de suivre l'évolution des résistances bactériennes chez les agents zoonotiques (*Salmonella enterica* et *Campylobacter jejuni* et *coli*). Les espèces dites indicatrices (*E. coli* et *Enterococcus spp.*) peuvent également être surveillées de manière volontaire par les états membres (cas par exemple en France).

Concernant le réseau RESAPATH, il suit notamment l'évolution des résistances de *E. coli*, mais aussi d'autres bactéries pathogènes telles que les *Pasteurella*, les staphylocoques et les streptocoques.

À noter, résumer le suivi des résistances bactériennes et les tendances observées au cours de ces dernières années reste difficile en raison de la multiplicité des données collectées et des variables possibles pour les exploiter (par exemple la diversité des espèces animales, la diversité des types de production pour une espèce animale donnée, et même la diversité des stades de production pour une filière zootechnique donnée).

On peut néanmoins retenir que, chez toutes les espèces animales, il a été observé une augmentation régulière des niveaux de résistance aux céphalosporines vétérinaires de troisième et de quatrième génération chez *E. coli*. Pour cette bactérie, l'expansion de cette résistance est principalement assurée par la production de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) (gène *CTX-M*) et, dans une moindre mesure en Europe, aux céphalosporinases plasmidiques (gène *AmpC*). Les enzymes confèrent une résistance élevée à la plupart des β -lactamines thérapeutiques, et leurs gènes, principalement localisés sur des plasmides, diffusent très facilement entre bactéries. Ces bactéries s'échangent également entre espèces animales, conduisant au constat d'un réservoir animal commun, malgré la diversité des filières et des systèmes de production. Ces résistances apparaissent plus occasionnelles chez les entérobactéries autres que *E. coli*. En outre, il semble qu'il existe deux réservoirs distincts entre l'homme et l'animal. Ainsi, les souches EBLSE chez l'animal sont très largement différentes de celles retrouvées chez l'homme. Ce sont davantage les plasmides – plutôt que les populations bactériennes – qui sont retrouvés identiques chez l'homme et chez l'animal.

À noter également que la multirésistance des souches de *E.coli* soulève la question de leur co-sélection possible par d'anciens antibiotiques, les plus fréquemment prescrits, comme les tétracyclines ou les associations sulfamides/triméthoprim. Ainsi, chez les bovins, les porcs et les poules/poulets, la grande majorité des souches d' *E.coli* résistantes au ceftiofur le sont également à la tétracycline.

En parallèle, le genre *Salmonella*, aujourd'hui rarement responsable d'infections chez les bovins, affiche depuis plusieurs années une tendance nette à la réduction de son niveau de résistance aux antibiotiques.

Les principales bactéries à tropisme respiratoire (*Pasteurella*) isolées chez les différentes espèces animales conservent encore un très haut niveau de sensibilité aux antibiotiques.

Chez le staphylocoque doré, la résistance à la méticilline (SARM), indicatrice d'une résistance à l'ensemble des β -lactamines, est exceptionnelle dans les souches infectieuses en élevage en France et – il est intéressant de le souligner – l'un des seuls clones de SARM isolé d'une infection bovine s'est révélé être un clone épidémique humain. À noter que c'est sur le chromosome que se situe le gène *mecA* conférant la résistance à la méticilline chez *S.aureus* (33).

Les différences de supports génétiques des gènes de résistance (plasmidique ou chromosomique) permettent de fonder des hypothèses différentes sur les voies privilégiées de diffusion de la résistance chez l'animal.

À noter le cas particulier des élevages de poissons. En effet, si certains résultats d'antibiogrammes sont centralisés au niveau du RESAPATH, leur faible nombre ne permet pas actuellement de réaliser des statistiques. Ainsi, il n'existe à l'heure actuelle aucun outil spécifique de surveillance de la résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques chez les poissons, bien que des mesures de sensibilité (antibiogrammes) soient réalisées. Les « remontées de terrain » informelles indiquent toutefois clairement que des résistances acquises émergent chez ces bactéries et sont à l'origine d'échecs thérapeutiques souvent récurrents dans les élevages (32) (34).

Au regard de ces éléments, les animaux constituent, comme l'homme, des réservoirs de gènes de résistance. Les bactéries résistantes ainsi que les gènes de résistance peuvent être présents dans les excréta, et émis dans l'environnement.

1.2.2.3. Réglementation

Concernant les antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, la réglementation est variable selon les pays. En Europe et en Amérique du nord, les antibiotiques utilisés sont soumis à une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Le risque "écotoxicité" est évalué dans le dossier d'AMM pour toutes les molécules récentes (31). À noter, il n'existe pas de données pour les antibiotiques anciens, par exemple pour les tétracyclines et les sulfamides (molécules très anciennes n'étant plus protégées par des brevets, et pour lesquelles aucun moyen n'est mis en œuvre pour évaluer ce risque). Aussi, comme en médecine humaine, des études post-AMM permettraient de mieux évaluer le devenir de ces molécules après émission.

L'accès et l'utilisation aux antibiotiques est réglementé en France. Ces produits sont délivrés sur ordonnance par les vétérinaires, les pharmaciens ou encore les groupements agréés dans le cadre d'un « plan sanitaire d'Élevage ». L'administration de ces médicaments est réalisée par l'éleveur ou par le vétérinaire lui-même. Lorsqu'il n'existe pas de médicament vétérinaire

pour une espèce donnée et dans les indications souhaitées, le vétérinaire peut, conformément à l'article L5143-4 du Code de la Santé Publique, utiliser un médicament hors AMM en respectant le principe dit de « la cascade de la prescription ». Par conséquent, le mauvais usage des antibiotiques, notamment en France, est limité. Cependant, cette réglementation ne s'applique pas partout comme en Asie, par exemple, où 90% de la production mondiale aquacole est faite. La réglementation est dans la plupart des cas, selon les pays, quasi inexistante et les antibiotiques sont utilisés en grande quantité (34).

Concernant les effluents issus des élevages, l'épandage est réglementé par l'arrêté du 22 novembre 1993 relatif au code des bonnes pratiques agricoles. Ce texte a notamment pour objectif d'éviter les rejets directs dans le milieu naturel de liquides contenant des déjections animales ou des effluents d'origine végétale à partir des bâtiments d'élevage et de leurs annexes, de façon à éviter la pollution des eaux par ruissellement et infiltration dans le sol ou écoulement vers les eaux de surface.

Pour ce faire, trois points sont considérés :

L'évaluation des volumes à stocker (déjections et eaux souillées) :

- les *déjections* doivent être stockées pendant la période où l'épandage est inapproprié.
- la *production d'eaux souillées* doit être limitée. Elles sont de préférence dirigées vers des installations de traitement adaptées (filtration, décantation, fosses, lagunes, etc.). S'il n'y a pas de traitement, elles sont collectées dans un ouvrage de stockage qui leur est propre ou, à défaut, dans celui des déjections. Il faut éviter leur rejet direct dans le milieu naturel.

La qualité de la collecte : il convient de contrôler, sur l'ensemble de l'exploitation, la collecte des effluents d'origine animale (déjections liquides ou solides, eaux souillées) et des jus d'ensilage.

La qualité du stockage : les ouvrages de stockage doivent être étanches

Cas particuliers des animaux à l'extérieur : il faut éviter de laisser séjourner les animaux en densité importante sur des surfaces non étanches. En période d'hivernage extérieur, il est souhaitable de déplacer régulièrement l'aire d'affouragement au pré.

Par ailleurs, il est recommandé à toutes les exploitations agricoles de réaliser des plans de fumure prévisionnels à la parcelle et de tenir un cahier d'épandage des fertilisants. Y sont précisés la nature des cultures, les dates d'épandage, les volumes et quantités utilisés d'azote de toutes origines (déjections, boues, gadoues ou composts produits ou introduits sur l'exploitation, engrais azotés achetés).

Sur cette base, des codes de bonnes pratiques agricoles existent en France. L'application de ces bonnes pratiques permet de limiter les rejets directement dans l'environnement. Néanmoins, les antibiotiques et les gènes de résistance ne sont pas contrôlés dans les effluents avant épandage.

1.2.2.4. Synthèse

Concernant les antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire, il apparaît que :

- ces substances sont largement utilisées. Une réelle efficacité des actions mises en œuvre en France ces dernières années, visant à promouvoir le bon usage de ces molécules et à la réduction de leur consommation a été observée. Dans le cadre de ces actions, une réduction de l'usage des molécules d'intérêt critique est considérée ;
- les animaux sont plus exposés aux tétracyclines, aux polypeptides, aux pénicillines, aux macrolides, puis aux aminoglycosides et aux sulfamides ;
- les tétracyclines et les macrolides sont principalement émis sous forme inchangée dans les excréta, et sont persistants dans l'environnement. Le devenir des tétracyclines dans l'environnement n'est pas pris en compte dans son dossier d'AMM, dans la mesure où c'est une ancienne molécule ;
- les animaux de rentes et les élevages aquacoles constituent des sources d'émission directe d'antibiotiques et de résistances bactériennes dans l'environnement.

Concernant les résistances bactériennes, il a été mis en évidence :

- l'émergence des résistances bactériennes est également problématique chez les animaux ;
- les gènes de résistance, principalement localisés sur des plasmides, diffusent très facilement entre bactéries. Ces bactéries s'échangent également entre espèces animales, conduisant au constat d'un réservoir animal commun, malgré la diversité des filières et des systèmes de production ;
- les bactéries résistantes ainsi que les gènes de résistance peuvent être présents dans les excréta, et émis dans l'environnement.

D'un point de vue réglementaire, en France, il apparaît que :

- comme pour les antibiotiques utilisés en médecine humaine, une rubrique écotoxicité existe dans la partie AMM du médicament vétérinaire pour les molécules les plus récentes. Elle n'existe pas pour les molécules les plus anciennes ;
- la délivrance et l'usage des antibiotiques vétérinaire sont encadrés ;
- les émissions des effluents des animaux d'élevage sont encadrées par la réglementation.

1.2.3. Emission par les industries

1.2.3.1. Antibiotiques

Les industries fabriquant et mettant en forme les substances pharmaceutiques (correspondant aux industries chimiques et industries pharmaceutiques) sont susceptibles de générer des effluents contenant ces composés.

Lors de la réalisation du présent document, aucune donnée relative aux émissions de ces industries en France n'a été trouvée. Les données de la littérature indiquent que des concentrations non négligeables sont susceptibles d'être émises (35) (36) (37). À noter tout de même qu'en France, généralement, ces établissements possèdent leur propre système de traitement. Les rejets sont encadrés par la réglementation française.

Ce phénomène est plus problématique dans les pays émergents, constituant les principaux producteurs d'antibiotiques, et pour lesquels la législation reste flexible. En 2007, une étude a été menée sur les effluents provenant de 90 fabricants pharmaceutiques en Inde. De fortes concentrations de différents antibiotiques à large spectre ont été détectées, avec notamment une teneur de 31 milligrammes par litre (mg/l) de fluoroquinolones. La concentration la plus abondante était celle de la ciprofoxacine (quinolone), retrouvée à des doses bien supérieures aux doses toxiques pour certaines bactéries (38). Une autre étude menée en Chine a détecté dans les effluents d'une unité de production pharmaceutique une concentration de 20 mg/l en oxytétracycline (antibiotique à large spectre d'action), à des doses nettement supérieures à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) (39).

Par conséquent, les usines chimiques et pharmaceutiques constituent des sources d'émission d'antibiotiques. Les concentrations mesurées dans les pays émergents tels que l'Inde et le Chine sont très élevées, et soulèvent la question suivante : de telles concentrations sont-elles susceptibles de favoriser l'émergence de résistances bactériennes dans les environnements proches des points de rejet ?

1.2.3.2. Résistances bactériennes

Les études menées en Inde et en Chine ont mis en évidence la présence de hautes concentrations de gènes de résistance en antibiotiques dans les effluents des usines de productions. Les teneurs mesurées en aval de ces établissements étaient nettement supérieures à celles mesurées en amont (36) (40). Une étude danoise a décrit une augmentation de la prévalence de souches d'*Acinetobacter spp.* résistantes à un ou plusieurs antibiotiques à la sortie des usines pharmaceutiques (41). En Espagne, la prévalence des bactéries fécales résistantes aux antibiotiques était plus importante dans les eaux de la rivière en aval d'une usine de fabrication, comparée à la référence amont (42).

Sur cette base, des bactéries résistantes ainsi que des gènes de résistance sont retrouvés dans les effluents des usines de production et de mise en forme des antibiotiques.

1.2.3.3. Réglementation

En France, les usines raccordées aux stations d'épuration sont des installations classées répondant à la législation des Installations Classées Pour l'Environnement (ICPE). Ces usines doivent demander une autorisation de raccordement à une station. La décision finale revient au préfet. Certaines d'entre elles doivent faire l'objet d'un pré-traitement des effluents de la part des industriels avant d'être rejetés dans les réseaux de collecte. Ils ne sont mêlés aux eaux domestiques que lorsqu'ils ne présentent plus de danger pour les réseaux de collecte et ne perturbent pas le fonctionnement des usines de dépollution (43) (44).

Il faut noter que les grandes industries sont toutes équipées d'unités de traitement interne (45).

Concernant les déchets provenant d'installations classées autorisées (dont les boues d'épuration des eaux usées industrielles), le cadre législatif est celui des installations classées pour l'environnement - ICPE (Code de l'environnement) et les textes principaux encadrant l'épandage sont l'arrêté modifié du 2 février 1998 dans le cas général, et l'arrêté du 07/01/2002 et du 22/04/2008 pour les composts et autres déchets issus des installations de compostage soumises à déclaration et à autorisation mais qui ne peuvent pas satisfaire à la «logique produit».

1.2.3.4. Synthèse

Ainsi, concernant les émissions des industries de fabrication et de mise en forme pharmaceutique, il apparaît que :

- des antibiotiques, des bactéries résistantes et des gènes de résistance sont présents dans les effluents de ces établissements ;
- les réglementations diffèrent selon les pays :
 - dans les pays émergents, principaux producteurs d'antibiotiques, la législation reste flexible, conduisant à un mauvais traitement des effluents et en l'absence de contrôle des teneurs dans les effluents. Ainsi, des concentrations toxiques en antibiotiques ainsi que de nombreuses résistances bactériennes sont retrouvées dans les effluents ;
 - dans les pays développés, les émissions sont réglementées et contrôlées.

1.2.4. Cas particulier des stations d'épuration

Les eaux usées urbaines et industrielles sont traitées au niveau des stations d'épuration. Le traitement des eaux usées constitue la dernière étape avant leur rejet dans l'environnement. Dans ce paragraphe, c'est le traitement des eaux usées urbaines qui sera étudié, dans la mesure où les données disponibles dans la littérature portent sur les STEP recevant des effluents urbains.

1.2.4.1. Généralités sur les stations d'épuration

Le processus de traitement au sein des STEP est décomposé en plusieurs étapes (45) :

1. **Le traitement primaire** vise à éliminer par décantation les matières en suspension. A l'issue du traitement primaire, 50 à 60 % des matières en suspension sont éliminées. Cette étape est commune à l'ensemble des stations d'épuration. Pour répondre aux exigences réglementaires, une phase de traitement secondaire peut être conduite ;
2. **Le traitement secondaire** vise à éliminer les matières polluantes solubles. Cette étape est généralement réalisée par un traitement biologique de la pollution. Le traitement biologique peut se faire par voie aérobie (boues activées, lit bactérien, lagunage) ou par voie anaérobie (biométhanisation) (46). Le traitement le plus répandu est le traitement par boues activées. Lors de ce traitement, les eaux arrivent dans un bassin où sont développées des cultures de micro-organismes. Sous l'action d'un brassage mécanique et d'un apport d'air, les micro-organismes se reproduisent très rapidement. Ils se nourrissent de la pollution organique et du dioxygène de l'air pour produire du gaz carbonique et de l'eau. À la suite de ce traitement, la décantation secondaire permet de recueillir, sous la forme de boues, les matières polluantes agglomérées par les micro-organismes. Ainsi, c'est lors du traitement secondaire que la plupart des polluants sont éliminés. Selon le type de procédé utilisé, l'efficacité du traitement est différente.
3. Dans les zones dites « sensibles »¹², des traitements complémentaires peuvent être envisagés sur les eaux. On parle alors d'un **traitement tertiaire**. Pour ce faire, plusieurs procédés peuvent être utilisés (filtration, ozonation, chloration, irradiation aux UV, adsorption sur charbon actif, membrane de filtration). L'efficacité des traitements avancés varie selon le procédé utilisé.

Le processus d'élimination, comprenant un traitement secondaire par boues activées (principal système d'élimination mis en œuvre dans les stations d'épuration), est présenté sur la Figure 7 ci-après.

¹² Une zone sensible est une zone où la nécessité de préserver le milieu aquatique et les usages qui s'y rattachent justifie la mise en œuvre d'un traitement plus rigoureux des eaux résiduaires urbaines avant leur rejet.

PROCESSUS D'ELIMINATION DANS LES STATIONS D'EPURATION

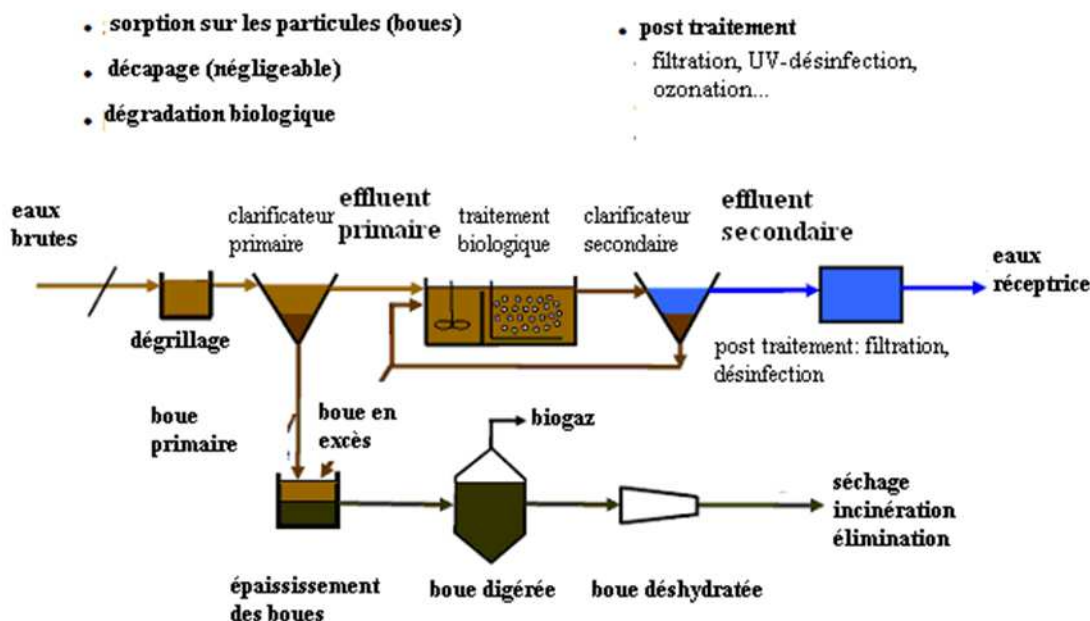


Figure 7 : Processus d'élimination dans les stations d'épuration

À l'issue du traitement, des eaux traitées et des boues sont obtenues. Les eaux peuvent être rejetées dans les cours d'eau. Les boues sont mises en décharge, incinérées, ou réutilisées *via* l'épandage (valorisation agricole). À noter, conventionnellement, pour réduire leur volume, les boues sont systématiquement épaissies et/ou déshydratées. Afin de réduire toute nuisance de nature biologique (par exemple leur fermentation), une ou des étapes supplémentaires de stabilisation sont parfois réalisées ; ces étapes peuvent consister en un chaulage, un compostage ou une digestion anaérobie (47) (48).

Sur la base de l'ensemble de ces éléments, dans les paragraphes suivants, c'est l'efficacité des traitements secondaire et tertiaire qui sera étudiée. En effet, c'est lors de ces étapes que l'élimination de la plupart des éléments présents dans les effluents (incluant les antibiotiques, les bactéries résistantes, les gènes de résistance et les éléments génétiques mobiles) est réalisée.

À titre d'information, les types de traitements requis (primaire, secondaire, tertiaire) en fonction du nombre d'habitants, en France, sont présentés en Annexe 3.

1.2.4.2. Traitement des antibiotiques dans les stations d'épuration

Après le traitement primaire, les antibiotiques présents dans les effluents subissent un traitement secondaire, qui consiste la plupart du temps en un traitement biologique.

Au cours du traitement biologique, l'élimination et la transformation des antibiotiques peut se faire sous l'influence de plusieurs facteurs, qui peuvent être **biotiques** (biodégradation des composés par des bactéries ou des champignons), et **abiotiques** (par exemple *via* sorption¹³, hydrolyse, photolyse).

Les performances de traitement sont variables en fonction du procédé utilisé (procédé par boues activées, lit bactérien, lagunage), des paramètres opératoires mis en œuvre, (par exemple temps de rétention hydraulique, temps de rétention des boues, pH, température, demande biologique en oxygène), ainsi que des propriétés physicochimiques des molécules (49).

Dans la littérature, de nombreuses études rapportant les performances de traitement des stations d'épuration sont disponibles. Néanmoins, ces études ne présentent pas forcément le procédé de traitement biologique utilisé, et les conditions opératoires mises en œuvre. Par conséquent, la comparaison et la discussion des résultats sont difficiles à réaliser. Ainsi, les performances de traitement reportées dans les différentes études varient fortement pour de nombreuses substances (abattement quasi-nulle à quasi-complète) (49). Aussi, dire qu'un procédé de traitement est plus efficace qu'un autre à l'heure actuelle n'est pas possible.

Au cours du traitement, certains composés, préalablement conjugués lors de la métabolisation hépatique, et présents sous la forme de sulfates ou de glucuronides dans les eaux usées, peuvent reprendre la forme du composé initial au cours du traitement. C'est le cas par exemple de la ciprofloxacine (30% de ce composé est excrété sous forme de glucuronide). C'est pourquoi certains composés sont mesurés à des concentrations plus importantes dans les effluents que dans les influents des STEP (10).

À l'issue du traitement biologique, en fonction des propriétés physico-chimiques des molécules, certains composés seront principalement retrouvés dans les boues primaires et secondaires, lorsqu'ils possèdent une affinité élevée pour les solides (sorption sur les boues) (10). Les antibiotiques peuvent également être éliminés de la phase aqueuse vers la phase solide, par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes : par échange d'ions avec des particules solides, en formant des complexes avec des ions métalliques ou par des interactions polaires hydrophiles. D'autres composés seront principalement retrouvés dans la phase aqueuse des stations d'épuration (cas de la plupart des antibiotiques).

Aussi, il apparaît que les β -lactames, les sulfamides (incluant le triméthoprim), les macrolides, la lincomycine, et le chloramphénicol sont principalement retrouvés dans les eaux traitées des STEP. *A contrario*, les tétracyclines ainsi que les fluoroquinolones sont facilement adsorbées sur les boues, dans lesquelles ces antibiotiques peuvent s'accumuler (50).

Sur la base de l'ensemble des éléments présentés ci-dessus, il apparaît que les traitements biologiques ne peuvent pas traiter la totalité des concentrations en antibiotiques mesurées dans les eaux usées. Par conséquent, ces composés sont susceptibles d'être relargués dans l'environnement.

Aussi, un traitement tertiaire peut-être envisagé. Le but de ces traitements est d'améliorer la qualité des effluents secondaires.

¹³ La sorption est le processus par lequel une substance est adsorbée (qui adhère à la surface) ou absorbée (qui s'incorpore dans la totalité du volume) d'une autre substance.

Le Tableau 3 ci-après présente une estimation semi-quantitative de l'élimination des antibiotiques dans les eaux, selon le traitement utilisé (49) (51).

	Filtration	Ozonation	Chloration		Irradiation UV		Adsorption sur charbon actif	Membrane de filtration
			Conc 1,0-1,2mg/l	Conc > 3mg/l	Dose de désinfection	20 à 100 fois dose normale		
Bêta lactames	-	80-100%	-	-	< 20%	-	45-95%	>95%
Sulfamides	< 20%	>95%	45-100%	>95%	0-45%	45-95%	65-95%	65-100%
Macrolides	0-45%	>95%	< 20%	>95%	< 20%	20-45%	80-95%	>95%
Tétracycline	< 20%	>95%	>95%	-	-	80-100%	>95%	>95%
Fluoroquinolones	0-45%	>95%	20-45%	-	< 20%	80-100%	80-100%	>95%
Nitimidazoles	-	-	-	-	< 20%	-	>95%	-
trimethoprime	0-80%	>95%	80-95%	>95%	< 20%	45-65%	65-95%	80-100%

Tableau 3: Estimation semi quantitative de l'élimination des antibiotiques dans les eaux par des traitements avancés

Au regard de ces données, il apparaît que les traitements tertiaires permettent un bon abattement des teneurs en antibiotiques dans les eaux. Les processus les plus efficaces semblent être l'ozonation et la membrane de filtration.

À noter que ces traitements tertiaires peuvent générer des produits de dégradation. Ce phénomène doit être étudié, dans la mesure où ces produits peuvent être toxiques.

1.2.4.3. Traitement des bactéries résistantes, des gènes de résistance et des éléments mobiles de résistance par les stations d'épuration

D'après les experts, le traitement par une STEP permet de réduire la charge bactérienne totale d'environ 2 log (hors désinfection spécifique). Néanmoins, les quantités de bactéries résistantes, continuellement rejetées dans l'environnement par le biais des STEP restent très élevées. Par jour, une STEP déverserait par le biais de ses effluents environ 10^9 à 10^{12} UFC (Unité Formant Colonie¹⁴) par équivalent habitant, parmi lesquelles entre 10^7 à 10^{10} des bactéries possèderaient au moins un type de résistance acquise (52). À noter que pour ces estimations, seule la fraction cultivable de la population bactérienne a été considérée, ne représentant donc qu'environ 1% de la fraction bactérienne totale, ce qui sous-estime probablement les quantités réelles.

Ainsi, certaines études basées sur la culture bactérienne ont montré que la prévalence des bactéries résistantes n'est pas diminuée, et peut même augmenter, après un traitement conventionnel par boues activées.

Ainsi, pour les entérocoques, il a été mis en évidence une augmentation significative de la prévalence des entérocoques résistants à la ciprofloxacine après traitement (53). Des résultats semblables ont été reportés, avec une augmentation significative des résistances de *E. faecalis* et *E. faecium* aux fluoroquinolones après traitement (54). Concernant *E. coli*, une augmentation significative de la prévalence de la résistance à la ciprofloxacine a été observée dans les effluents finaux (53). Ce phénomène peut-être expliqué par une sélection de la résistance à la ciprofloxacine et/ou une élimination plus importante des *E. coli* sensibles aux fluoroquinolones au cours du traitement. Dans une autre étude, une augmentation significative de la proportion de *E. coli* productrice de β -lactamases à spectre étendu parmi la population

¹⁴ Estimation approximative du nombre de cellules bactériennes viables dans un échantillon

de *E. coli* présents à l'issue du traitement (0,3% dans les influents et 0,6% dans les effluents) a été mise en évidence dans les effluents de STEP à Besançon en France (19).

En outre, une augmentation significative d'*Acinetobacter ssp.* à l'amoxicilline/acide clavulanique, au chloramphénicol, à la rifampicine, ainsi que des souches multi-résistantes (3 antibiotiques ou plus) a été mise en évidence (49).

Sur cette base, la quantité de bactéries résistantes en sortie de traitement semble être plus importante qu'à l'entrée. À noter que les performances de traitement sont liées aux procédés de traitement utilisés, ainsi qu'aux paramètres opératoires du traitement. Les résultats peuvent donc varier d'une station à une autre.

Certaines études métagénomiques ont mis en évidence des résultats qui vont dans le même sens.

Ainsi, les abondances relatives de certains gènes de résistance ne sont pas diminuées lorsqu'elles sont rapportées à la biomasse totale, et sont même parfois augmentées. Une étude portée sur l'occurrence des gènes de résistance aux tétracyclines (*tetA*, *tetB*, *tetE*, *tetW*, *tetM*, *tetZ*), sulfamides (*sul1*, *sul2*, *sul3*) et quinolones (*gryA*, *parC*, *qnrC*, *qnrD*) a conclu que globalement, la quantité de gènes de résistance n'était pas modifiée significativement entre les influents et les effluents (55). À noter que, pour cette étude, une légère diminution des gènes *tetB* et *tetW* a tout de même été observée. Le procédé de traitement de la station n'est pas précisé. Plusieurs études avaient déjà reportées l'absence d'abattement des concentrations pour le gène de résistance aux sulfamides *sul1* (56) (57) (58). Pour le gène *sul2*, également impliqué dans la résistance aux sulfamides, une augmentation de l'abondance relative a été observée dans les effluents traités d'une STEP (57). Par ailleurs, des études ont recherché une éventuelle corrélation entre les concentrations en antibiotiques et la présence des gènes de résistance. Pour les tétracyclines, une corrélation positive a été mise en évidence entre les concentrations en tétracyclines et les gènes de résistance *tetB* et *tetW* (55). D'autres études ont mis en évidence une corrélation positive entre la concentration de gènes et la concentration en sulfamides (58) (59), alors que d'autres ne l'ont pas observé (55). Aussi, des études complémentaires sont à effectuer afin de mieux comprendre les corrélations existant entre les concentrations en antibiotiques et les concentrations en gènes de résistance.

A contrario, des diminutions de la prévalence de certaines souches bactériennes résistantes, ou l'abondance relative de certains gènes de résistance, ont également été observées. La proportion relative de certains gènes impliqués dans la résistance à la tétracycline (*tetW* et *tetO*) était diminuée suite au traitement d'une STEP (56) (58).

Au regard de ces éléments, il semble y avoir des comportements différents selon les antibiotiques présents, la nature du gène étudié et des systèmes de traitements traduisant la complexité du système.

Par ailleurs, les boues issues du traitement constituent également une voie d'entrée de bactéries et de gènes de résistance dans l'environnement.

Une étude a montré que la prévalence des gènes *bla*_{TEM} et *sul1* était plus importante dans les boues que dans les eaux usées, alors que la prévalence des gènes *bla*_{CTX-M} et *qnrA* était diminuée. Il apparaît que des phages porteurs de ces gènes de résistance étaient présents dans les boues, même après digestion anaérobie (60).

Une autre étude a montré que les boues traitées sont la principale voie de sortie des gènes *sul1*, *tetW* et *tetO*. Globalement, il a été observé des concentrations de bactéries et de certains

gènes de résistance inférieures dans les boues chaulées ou digérées que dans les boues simplement épaissies ou déshydratées (56).

Au regard de ces résultats, il apparaît que peu d'études ont été réalisées sur les boues. Il apparaît nécessaire de mener des études complémentaires pour mieux comprendre ce phénomène.

Par ailleurs, tout comme pour le traitement des antibiotiques, un traitement tertiaire peut-être envisagé afin d'améliorer la qualité des effluents à la sortie des STEP. Néanmoins, à l'heure actuelle, il existe peu de données sur l'efficacité des traitements tertiaires sur les bactéries résistantes ainsi que sur les gènes de transferts. Les données disponibles ont mis en évidence :

- une efficacité de la filtration pour le traitement des bactéries résistantes et des gènes de résistance ;
- des résultats controversés concernant le traitement par chloration (réduction, absence de réduction, voire augmentation de la proportion de certaines bactéries résistantes et des gènes de résistance selon les études). Ainsi, il semblerait que les résultats dépendent de nombreux paramètres tels que le temps de contact, les doses, le mode opératoire, et les bactéries résistantes considérées.
- une réduction de la population bactérienne, mais une augmentation de la proportion de bactéries résistantes pour le traitement par les UV.

Des études complémentaires sont à mener pour mieux comprendre ces phénomènes.

1.2.4.4. Réglementation des stations d'épuration

Les stations d'épuration sont soumises à la réglementation en France.

Le respect de la réglementation permet de préserver l'efficacité des systèmes de traitement, et donc la qualité des rejets qu'elle est susceptible de rejeter dans l'environnement.

Ainsi, l'implantation d'une station et la gestion de ses rejets dans les milieux aquatiques est réglementée par l'arrêté du 22 juin 2007 relatif à la collecte, au transport et au traitement des eaux usées d'assainissement des agglomérations, ainsi qu'à la surveillance de leur fonctionnement et de leur efficacité, et aux dispositifs d'assainissement non collectifs recevant une charge brute de pollution organique supérieure à 1,2 kg/j de DBO5. Cet arrêté prévoit notamment de limiter la contamination des eaux environnementales et de préserver les habitants et les établissements recevant du public des nuisances de voisinage et des risques sanitaires.

Néanmoins, à l'heure actuelle, les concentrations en antibiotiques, les quantités de bactéries résistantes ainsi que des gènes de résistance présents dans les effluents ne sont pas analysées. Par conséquent, le rejet de ces éléments dans l'environnement n'est pas encadré d'un point de vue réglementaire.

Concernant les boues issues du traitement, leur devenir est également réglementé par plusieurs textes de loi.

Pour note, le Tableau 4 ci-après présente des données relatives aux quantités de boues envoyées dans les différentes filières d'élimination existant en France (61).

	Agriculture (en T M S/an)	Agriculture dont compost(en T M S/an)	Incinérées (en T M S/an)	Envoyées en centre d'enfouissement technique (en T M S/an)
Quantité de boues	69%	24%	18%	12%

Tableau 4 : Destination des boues issues des stations d'épuration en France en 2007

Au regard de ces éléments, il apparaît que l'épandage agricole est la pratique la plus répandue en France. À noter, la mise en décharge des boues, correspondant à la pratique la moins utilisée, est actuellement réduite, et ce, jusqu'en 2015, pour être interdite par la suite. Par ailleurs, actuellement, l'épandage agricole des boues reste en Europe la principale filière d'élimination. Cependant, il apparaît important de souligner que les boues urbaines représentent moins de 2% des déchets épandus en agriculture. Les déjections animales en représentent 94% (62).

Concernant l'épandage des boues d'épuration en France, la législation en place depuis de nombreuses années, définie par la norme NF U44-041 (1985), la directive européenne du 12 juin 1986, la loi sur l'eau du 3 janvier 1992 et de la loi de 1975 sur les déchets et du code de la santé publique, a été renforcée en 1997-98 par le décret n° 97-1133 du 8 décembre 1997 et l'arrêté du 8 janvier 1998. Cette évolution de la réglementation a pour objectif de protéger les acteurs socio-économiques des filières d'épandage ainsi que de définir les meilleures conditions d'innocuité pour l'homme et son environnement, et de fait, éviter tout abus et dérive.

Les grands axes de cette réglementation sont les suivants :

Les boues sont considérées comme des déchets. Le producteur de boues est responsable de la filière épandage (et de son suivi) ; il a en charge :

- une étude préalable systématique ;
- un programme prévisionnel annuel d'épandage et un bilan annuel ;
- une auto-surveillance de l'épandage, de la qualité des boues et des sols ;
- la constitution d'un dossier d'incidence, au titre de la loi sur l'eau ;
- la tenue d'un registre d'épandage (traçabilité).

Le préfet est destinataire de ces documents. Il les valide et contrôle que la réglementation est respectée (62).

Par conséquent, cette pratique est encadrée d'un point de vue réglementaire, et il existe une réelle traçabilité des terres épandues. En outre, la maîtrise des micro-organismes est prise en compte dans cette réglementation. Ainsi, la maîtrise des risques liés aux micro-organismes repose sur des limitations d'usage : distances à respecter vis-à-vis des habitations, des points d'eau, des cours d'eau, etc. et délais à respecter avant cultures maraîchères et avant pâturage des animaux. Néanmoins, actuellement, dans le cadre de cette législation, il n'y a pas de suivi réglementé des antibiotiques, de bactéries résistantes, ou des éléments mobiles de résistance dans l'environnement. Seuls des chercheurs s'intéressent à ces questions.

À noter qu'une cellule de veille sanitaire vétérinaire est prévue pour répondre à toute demande téléphonique ou écrite concernant les intoxications d'animaux domestiques et sauvages en lien supposé avec des épandage de boues et de capitaliser et expertiser les cas qui lui sont soumis.

Aucun cas avéré d'intoxication lié aux boues, pour des épandages réalisés dans le respect de la réglementation, n'a été détecté depuis 1998 et la mise en place de cette cellule.

1.2.4.5. Synthèse des résultats obtenus

Ainsi, sur la base des données disponibles, il apparaît que le traitement des antibiotiques et des résistances bactériennes est réalisé lors des traitements secondaires et tertiaires (s'ils existent) réalisés au sein des STEP. Les eaux traitées ainsi que les boues obtenues à l'issue du traitement peuvent contenir des antibiotiques et des bactéries résistantes. Ainsi, concernant les antibiotiques, il a été mis en évidence que :

- le traitement secondaire ne permet pas de traiter l'ensemble des antibiotiques. L'efficacité du traitement est variable et dépend de nombreux paramètres. Les données actuellement disponibles ne permettent pas de dire si un traitement est plus efficace qu'un autre. Des études sont à mener pour mieux définir les traitements adaptés aux antibiotiques ;
- à l'issue du traitement, en fonction des propriétés physico-chimiques des molécules, certaines sont majoritairement présentes dans les eaux traitées et d'autres dans les boues ;
- les traitements tertiaires permettent d'obtenir une bonne élimination des antibiotiques dans les eaux.

Concernant les résistances bactériennes, les résultats ont mis en évidence :

- que les quantités de bactéries résistantes et de gènes de résistance ne sont pas forcément diminuées par les traitements, et sont parfois même augmentées. Cette observation peut-être liée au fait que ces établissements constituent des « points chauds » de transfert des gènes de résistance. En effet, les stations d'épuration réunissent un ensemble de facteurs favorables au développement des bactéries résistantes et au transfert des gènes de résistance, dans la mesure où elles constituent un lieu de haute densité cellulaire, et que l'ensemble de la STEP reçoit de manière récurrente des effluents contenant des antibiotiques, des bactéries résistantes, ainsi que des structures génétiques mobiles et des gènes de résistance. Néanmoins, les mécanismes de transferts de gènes au sein des STEP sont encore mal connus ;
- certains procédés de traitements tertiaires comme la filtration permettraient d'améliorer l'élimination des bactéries résistantes et des gènes de résistance. Néanmoins, des études complémentaires doivent être réalisées afin de mieux connaître l'efficacité de ce type de traitement ;
- peu d'études ont été réalisées sur les boues. Des études complémentaires sont à mener afin de mieux comprendre le devenir des bactéries résistantes et des gènes de résistance au sein des boues.

Concernant la réglementation en France, bien que les antibiotiques et les résistances bactériennes ne soient pas quantifiés dans les rejets (eaux et boues), la réglementation existante permet de préserver le bon fonctionnement des stations d'épuration et de limiter les rejets au sein de l'environnement.

Au regard de ces résultats, il apparaît que des antibiotiques, des bactéries résistantes, ainsi que des structures génétiques mobiles sont retrouvées dans les eaux usées et les boues à l'issue du traitement, ce qui laisse suggérer que les stations d'épuration sont des réservoirs et des

fournisseurs environnementaux de déterminants génétiques de résistances. Ils pourront se retrouver au sein de l'environnement (sols, eaux de surface et eaux souterraines, sédiments).

1.2.5. Emissions d'effluents non traités

Dans certains cas particuliers, une fraction d'effluents non traités peut rejoindre l'environnement : il peut s'agir par exemple d'un non raccordement à une station d'épuration, de fuites des réseaux de collecte, ou du déversement accidentel des rejets non traités lors d'épisodes de forte pluviométrie (évacuation du surplus de charge dans les déversoirs d'orage permettant de protéger la station d'épuration).

Toutefois, ces sources d'émission dans l'environnement sont faibles et ponctuelles, comparées aux sources d'émissions citées dans les paragraphes précédents.

2. Devenir dans l'environnement et conséquences pour la santé humaine

2.1 Devenir dans l'environnement

Sur la base des éléments présentés dans le chapitre précédent, les principales sources de rejets d'antibiotiques et de bactéries résistantes dans l'environnement sont les suivantes :

- les STEP, traitant les effluents d'origines diverses (municipales, hospitalières, industrielles). Les deux produits obtenus à l'issue du traitement sont les boues et les eaux traitées. Les boues, en France, sont épandues la plupart du temps sur les surfaces agricoles. Concernant les eaux de surface, elles sont dans la majorité des cas rejetées dans les eaux de surface (et sont ainsi en contact direct avec les sédiments) ;
- les rejets issus de l'activité agricole : épandages de boues en provenance des STEP ou de fumiers/lisiers sur les parcelles agricoles, pâturage des animaux dans les prairies, pisciculture. Dans ce cadre, les rejets sont effectués directement sur les sols (cas de l'épandage et du pâturage des animaux) ou dans les eaux de surface et les sédiments (cas de la pisciculture). Pour l'épandage et le pâturage, les antibiotiques et les bactéries résistantes peuvent rejoindre indirectement les eaux de surface et les sédiments (*via* ruissellement), ainsi que les eaux souterraines (*via* lixiviation des sols).

L'ensemble de ces rejets est présenté sur la figure ci-après.

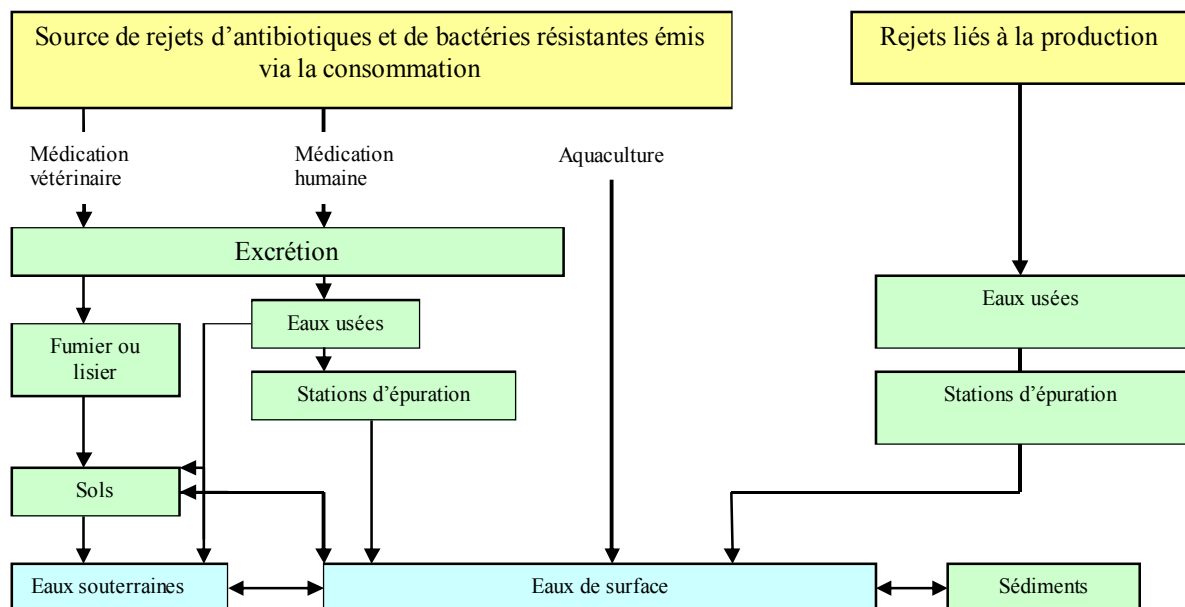


Figure 8 : Chemins possibles des antibiotiques et des résistances bactériennes dans l'environnement

Par conséquent, les sols, les eaux souterraines, les eaux de surface et les sédiments, constituent les milieux récepteurs. Il convient donc d'étudier le devenir des antibiotiques et des bactéries résistantes dans ces différents milieux.

2.1.1 Devenir des antibiotiques

2.1.1.1 Dans les sols

La contamination des sols par les antibiotiques est liée à l'épandage (épandage de boues ou de fumiers/lisiers) ou aux excréta des animaux en pâture.

À la surface des sols, ces molécules peuvent entrer en interaction avec la phase solide des sols superficiels par des réactions de sorption/désorption.

Ce mécanisme permet de contrôler la mobilité, la biotransformation et l'activité biologique des antibiotiques dans les sols. Ainsi, un antibiotique non adsorbé est plus facilement mobile, et par conséquent susceptible d'exercer une activité biologique ou sujet à la biotransformation.

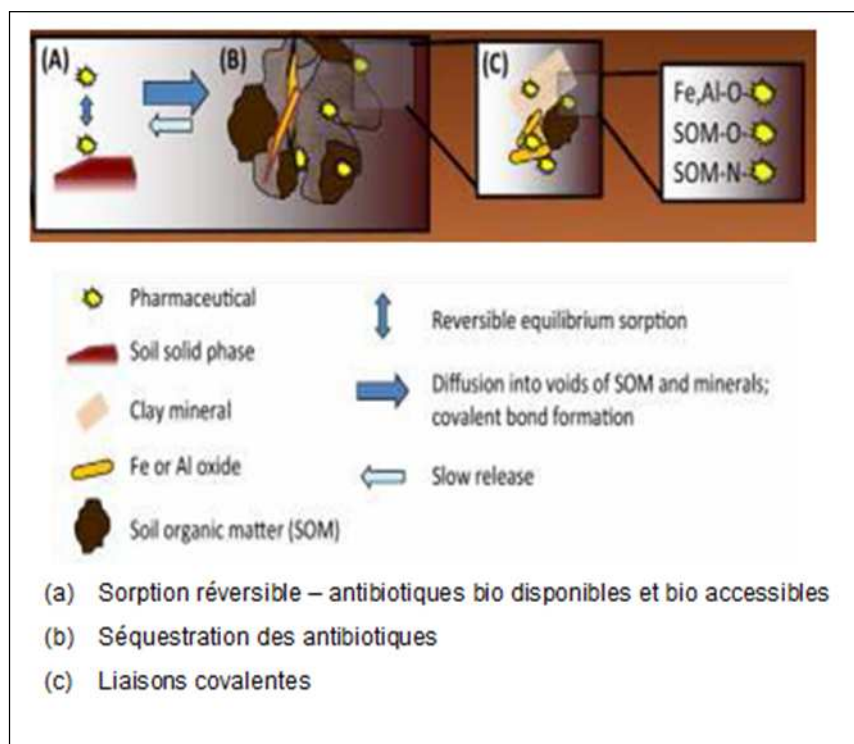
Le mécanisme de sorption dépend de différents facteurs qui sont (28) (29) (63) :

- liés à la molécule : à savoir les propriétés physico-chimiques de l'antibiotique (solubilité, coefficient log Kow, Kd, Koc, pKa). Ces éléments sont présentés en Annexe 4 ;
- liés à l'environnement : notamment le pH du milieu et de ses effets sur la spéciation chimique et de la charge de la molécule, qui joue un rôle majeur. La température, la composition physico-chimique du sol (en ions, minéraux et composition organique), l'humidité et le type de sol influent également sur le mécanisme de sorption.

Souvent, ce mécanisme est réversible. Néanmoins, les antibiotiques présents à la surface des sols peuvent également diffuser dans les micropores et les nanopores des sols, où ils sont présents sous une forme dite « séquestrée ». Ce processus permet un stockage de la molécule sous une forme non biodisponible (absence de mobilité, d'activité biologique et de dégradation de la molécule). À noter que ce procédé est en partie réversible, et permet la libération de petites quantités d'antibiotiques à des doses sub-inhibitrices dans les sols.

En parallèle de ces deux mécanismes (mécanisme de sorption réversible et mécanisme de séquestration), une partie des antibiotiques présents dans les micropores et des nanopores des sols peut former des liaisons covalentes, par exemple avec les minéraux présents dans les sols, formant alors un résidu non extractible. Ce dernier processus est quant à lui, non réversible.

L'ensemble de ces mécanismes est présenté sur la Figure 9 ci-après.



Pharmaceutical : médicament
 Soil solid phase : sol – phase solide
 Clay mineral : minéraux argileux
 Fe or Al oxyde : oxyde de fer ou oxyde d'aluminium
 Soil organic matter : matière organique dans les sols
 Reversible equilibrium sorption : équilibre de sorption réversible
 Diffusion into voids of SOM and minerals : covalent bond formation : diffusion dans les pores de la matière organique et des minéraux : formation de liaison covalente
 Slow release : faible relargage

Figure 9 : Devenir des antibiotiques dans les sols

Sur la base de ces éléments et des données disponibles dans la littérature, il apparaît que les β -lactamines se dégradent très rapidement dans les sols (quelques heures à quelques jours), car hydrolysées et biodégradées rapidement. Les macrolides et les sulfamides peuvent rester quelques jours à quelques mois. Pour la tylosine (macrolide), la demi-vie¹⁵ rapportée varie de 5 à 67 jours. Pour les sulfamides, la demi-vie de la partie facilement extractible (mécanisme de sorption réversible) peut varier de 2 à 10 jours, et peut atteindre 330 jours pour la partie séquestrée. Les fluoroquinolones et les tétracyclines peuvent persister pendant plusieurs mois. Par exemple, des boues urbaines contenant de la ciprofloxacine et de la norfloxacine (fluoroquinolones) ont été épandues sur le sol en Suisse. Ces composés ont pu être détectés jusqu'à 21 mois après épandage (63).

¹⁵ La demi-vie est le temps mis par une substance mère pour perdre la moitié de sa concentration dans les sols et dans les eaux

La Figure 10 ci-après schématise un classement des antibiotiques en fonction de leur sorption et de leur mobilité (29).

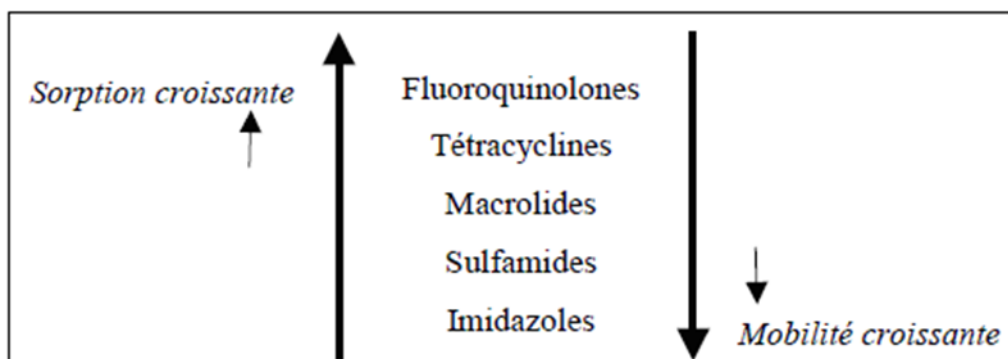


Figure 10 : Sorption et mobilité des familles d'antibiotiques

En outre, ces composés seraient capables de s'accumuler dans le temps, lorsque les teneurs apportées sont supérieures à la capacité d'élimination des sols (64). Ainsi, il a été mis en évidence une accumulation du sulfaméthoxazole (sulfamide) et de ciprofloxacine (fluoroquinolone) dans les sols mexicains, sous une forme séquestrée, pendant une période d'environ 20 ans (64).

Les résidus d'antibiotiques ainsi présents à des concentrations sub-inhibitrices peuvent exercer une pression de sélection, et agir comme éléments de communication et de régulation entre les bactéries. Ce mécanisme peut jouer un rôle dans le transfert des gènes de résistance. Ainsi, des concentrations en antibiotiques à de faibles teneurs dans les sols (0,1 mg/kg), peuvent avoir un effet sélectif sur les populations résistantes du sol. Par exemple, des concentrations sub-inhibitrices d'oxytétracycline (20 µg/l) sont capables de sélectionner des résistances aux tétracyclines (64).

Certains composés (notamment les plus mobiles, tels que les sulfamides) peuvent, sous certaines conditions, atteindre les eaux souterraines.

2.1.1.2 Eaux souterraines

La contamination des eaux souterraines par des antibiotiques provient principalement de l'usage agricole (37). Elle peut également provenir d'autres origines, comme par exemple du transfert des composés depuis l'assainissement individuel ou de fuite du réseau de collecte.

Avant d'atteindre la nappe, les composés doivent traverser les sols. La vulnérabilité des eaux souterraines, à savoir la capacité de la nappe à être impactée par des composés d'origine anthropique, est très variable selon la profondeur (une nappe superficielle est plus vulnérable qu'une nappe profonde), la nature des terrains et la protection géologique (elle dépend notamment de la perméabilité des sols) (35).

Ainsi, en fonction notamment du contexte géologique, hydrogéologique, des conditions météorologiques et des propriétés physico-chimiques des molécules, certains antibiotiques, comme les sulfamides (molécule hydrophile et mobile), pourront atteindre la nappe (64). Les concentrations mesurées dans les eaux souterraines sont faibles, de l'ordre du nanogramme par litre (ng/L).

S'il existe une relation hydraulique entre la nappe et par exemple une rivière ou un lac, les composés présents dans les eaux souterraines peuvent se retrouver dans les eaux de surface. Le phénomène inverse peut également se produire. Pour rappel, les eaux superficielles sont également impactées par d'autres sources de rejets anthropiques.

2.1.1.3 Les eaux de surface

Il existe de nombreuses sources de rejets d'antibiotiques dans les eaux de surface. Pour rappel, les principales sources sont présentées sur la Figure 8, au paragraphe 2.1.

Ainsi, les antibiotiques contenus dans les effluents des STEP urbaines (eaux usées issues des habitations et des hôpitaux) sont généralement rejetés dans les rivières, et sont présents, au niveau du point de rejet, à de faibles concentrations (teneur de l'ordre d'une dizaine à une centaine de nanogrammes par litre (ng/l)) (14).

Les composés et les teneurs mesurées dépendent de nombreux facteurs, notamment :

- des prescriptions médicales (type de molécule et période épidémique) (13) ;
- de la persistance dans les eaux des antibiotiques et/ou de leurs métabolites. Les fluoroquinolones, macrolides, tétracyclines et sulfamides sont relativement stables dans les eaux (13) (65) (37);
- des facteurs hydrologiques (notamment le débit du cours d'eau). Ainsi, plus le débit est important, plus les concentrations dans les eaux de surface sont faibles (13).

Ces deux derniers facteurs sont également vrais pour les STEP des usines de production d'antibiotiques. Pour ce type de structure, ce sont les composés fabriqués par l'usine qui sont mesurés dans les eaux de la rivière. Les concentrations peuvent atteindre l'ordre du milligramme par litre (mg/L), dans les pays émergents comme l'Inde et la Chine (39).

Dans le cas des usages agricoles (épandages et pâturage), de faibles concentrations en antibiotiques sont mesurées dans les eaux de surfaces (de l'ordre du ng/L). Les concentrations présentes à proximité des élevages agricoles varient, et dépendent de nombreux facteurs, comme ceux cités précédemment (doses et molécules utilisées, persistance des composés, débit du cours d'eau), de la mobilité des composés (les composés hydrophiles – par exemple les sulfamides et le triméthoprim – seront moins adsorbés sur les sols, donc potentiellement plus mobiles), ainsi que des caractéristiques des sols (37) (66).

Concernant les élevages piscicoles, il est estimé que 70 à 80% des médicaments utilisés dans l'alimentation des poissons pourraient rejoindre l'environnement. Ainsi, les sulfamides, le triméthoprim, les tétracyclines et les fluoroquinolones sont retrouvés en quantité importante dans les eaux. Les teneurs moyennes en antibiotiques mesurées dans les eaux des élevages piscicoles sont de l'ordre du microgramme par litre (µg/L) (37) (67).

Pour l'ensemble des sources de rejets, plus la distance à la source augmente, plus les concentrations dans les eaux diminuent. Ce phénomène peut s'expliquer par la dilution des composés, leur dégradation (photolyse, hydrolyse) ou leur sorption sur des particules solides ou à de la matière organique (13) (37). Ainsi, il apparaît que les tétracyclines, les aminoglycosides et les fluoroquinolones sont sensibles à la photodégradation. En revanche, les sulfamides et le triméthoprim sont moins photodégradables. En outre, les β -lactamines sont facilement hydrolysées.

Globalement, les antibiotiques vétérinaires sont majoritairement mesurés à proximité des zones d'usage agricole, et les antibiotiques d'usage humain sont principalement retrouvés à proximité des rejets de STEP (13) (66). À noter que les antibiotiques utilisés en médecine humaine sont mesurés en plus grande quantité et sont présents sur une distance plus longue le long des cours d'eau, ce qui semble indiquer que les eaux rejetées par les stations d'épuration dominent la contribution en antibiotiques de la phase aqueuse (13) (66).

En outre, les teneurs présentes dans les eaux varient en fonction des saisons :

- lorsque la pluviométrie, et donc les débits sont importants, les antibiotiques rejetés par les STEP sont dilués. Concernant l'usage agricole, les composés présents sur les sols sont lessivés et sont plus facilement mesurés dans les eaux de surface ;
- la température peut influencer la dégradation des composés. Globalement, des températures chaudes permettent une meilleure dégradation des composés.

Certains composés peuvent, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques, s'adsorber sur les sédiments.

2.1.1.4 Les sédiments

Au sein des sédiments, des mécanismes de sorption comme ceux définis précédemment au paragraphe 2.1.1.1 relatif au milieu sol, sont observés. Ainsi, les composés les moins mobiles, principalement les tétracyclines, les fluoroquinolones, et les macrolides, peuvent s'adsorber sur les sédiments des rivières et être relargués dans les eaux au cours du temps, en fonction des conditions environnementales (28) (66) (67) (68). Certaines de ces molécules sont susceptibles d'être présentes uniquement dans les sédiments (non détectés dans les eaux). C'est le cas par exemple de la roxithromycine, qui a été mesurée dans les sédiments, alors que les teneurs sont restées inférieures à la limite de quantification du laboratoire dans les eaux (66).

Globalement, les composés sont mesurés en plus grande quantité à proximité de la source de rejet. Ainsi, des composés utilisés uniquement pour un usage vétérinaire (chlortétracycline, sulfathiazole, sulfachloropyridazine, sulfadiméthoxine, tylosine), ont pu être mesurés à des concentrations bien plus élevées dans les zones d'activité agricole. Cette même observation a été faite pour les antibiotiques à usage humain, mesurés en plus grande quantité à proximité des rejets des STEP (66).

Concernant les élevages piscicoles, il apparaît que certains antibiotiques utilisés (acide oxolinique, fluméquine, sarafloxacin, oxytétracycline, sulfadiazine et triméthoprime) sont présents dans les sédiments (29). Des teneurs pouvant atteindre quelques mg/kg (de 0,5 à 8,9 mg/kg en oxytétracycline et de 2,3 mg/kg en enrofloxacin) ont été mesurées dans les sols à proximité des cages (67). Les antibiotiques (et les résidus d'antibiotiques) utilisés dans les élevages de poissons sont transportés par les courants, et peuvent être mesurés à quelques kilomètres des sites de production. Par conséquent, l'utilisation de grandes quantités d'antibiotiques dans les élevages aquacoles est susceptible de générer une extension de leur zone de contamination (69).

En outre, comme dans les sols, les antibiotiques présents à de faibles doses dans les sédiments peuvent exercer une pression de sélection. Ainsi, il a été observé une corrélation significative entre la présence de certains gènes de résistance et la présence des antibiotiques correspondants (39) (66) (68).

2.1.2 Devenir des bactéries résistantes

2.1.2.1 Sols

Dans la littérature, les données relatives aux épandages sur les sols concernent principalement les fumiers. Aucune donnée relative à l'épandage des boues des STEP n'a été trouvée lors de la réalisation du présent document. Ceci peut s'expliquer du fait que les boues ne représentent qu'une faible proportion des rejets épandus.

Ainsi, l'épandage de fumiers ajoute une quantité considérable de bactéries possédant des gènes de résistance. À noter, les communautés bactériennes des fumiers sont distinctes des communautés bactériennes des sols. Aussi, les bactéries contenues dans les fumiers ne survivent sur les terres amandées que quelques semaines à quelques mois, et l'ajout de bactéries résistantes est donc transitoire. Néanmoins, il a été mis en évidence une corrélation entre l'épandage de fumiers et la présence de résistance bactérienne dans les sols (30).

Ceci peut s'expliquer par le fait que les fumiers épandus sur les parcelles agricoles contiennent de nombreux éléments, notamment : des bactéries résistantes, des gènes de résistance, des éléments génétiques mobiles, des résidus d'antibiotiques, des nutriments, des métaux lourds, des désinfectants (64).

Ainsi, la présence de gènes de résistance dans les terres amandées contribue à la pollution environnementale du milieu. Les gènes sont souvent présents sur des éléments génétiques mobiles, tel que les intégrons, les transposons qui peuvent être transmis aux bactéries commensales du sol par transfert horizontal de gènes, permettant la persistance des gènes de résistance dans les sols.

Les résidus d'antibiotiques présents à des concentrations sub-inhibitrices, comme présenté précédemment au paragraphe 2.1.1.1, peuvent favoriser le transfert horizontal de gènes.

Les nutriments présents dans les terres amandées augmentent la quantité de carbone et d'azote dans les sols, et peuvent influencer le pH. Cet ajout peut stimuler l'activité microbienne des sols, et le transfert horizontal de gènes.

La présence de métaux lourds favorise les mécanismes de co-sélection des gènes de résistance. Ainsi, une co-sélection des gènes de résistance à la tétracycline et à la vancomycine a été mise en évidence avec la présence de cuivre dans la communauté microbienne des sols.

Sur cette base, l'épandage de fumier peut favoriser les transferts de gènes entre les bactéries présentes dans les fumiers et les bactéries autochtones présentes dans les sols.

À noter que l'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques et des éléments génétiques mobiles demande souvent un coût énergétique à la cellule hôte, du fait d'une synthèse supplémentaire de protéines, qui sont *a priori* non essentielles. Aussi, le remplacement des populations résistantes par des populations sensibles pourrait apparaître en absence de pression de sélection dans la mesure où les bactéries mutantes deviennent moins compétitives. Néanmoins, certaines souches ont la capacité de compenser le coût biologique, permettant ainsi la diffusion de la résistance à un coût minimal, en l'absence d'antibiotiques (64).

Sur la base de l'ensemble de ces éléments, certaines résistances bactériennes sont susceptibles de persister sur le long terme.

En outre, certaines bactéries résistantes présentes dans les sols et les fumiers sont phylogénétiquement proches des pathogènes humains, comme par exemple *Acinetobacter spp*, avec lesquelles elles pourront faire des échanges de gènes (30). Ainsi, les bactéries résistantes présentes dans les sols seront susceptibles de migrer vers d'autres compartiments environnementaux et d'impacter le microbiome humain (30) (64) (70) (71).

2.1.2.2 Les eaux souterraines

En fonction du contexte hydrogéologique (à savoir en présence d'une nappe libre sans couverture imperméable, et d'une forte perméabilité des sols), les bactéries résistantes et les gènes de résistance présents dans les excréta des animaux (fumiers ou lisiers) peuvent atteindre les eaux souterraines.

Les données bibliographiques existantes traitent notamment de la qualité des eaux souterraines à proximité des élevages agricoles, et plus particulièrement des élevages de porcs (72) (73) (74) (75). Une étude a également analysé la qualité des eaux souterraines à proximité d'une fuite d'égout (76).

Globalement, il apparaît que la nappe est plus impactée par les bactéries résistantes et les gènes de résistance en aval d'un point de rejet, comparé à la référence amont. Ainsi, une augmentation du pourcentage de bactéries résistantes (bactéries d'indicateurs fécaux) à la tétracycline et à la clindamycine a été observée entre l'amont et l'aval d'une production de porcs (73). Par ailleurs, la fréquence de détection des gènes à la tétracycline (*tetM*, *tetO*, *tetQ*, *tetW*) a été plus élevée au niveau des piézomètres¹⁶ localisés au droit et en aval de la lagune utilisée pour le traitement et le stockage des rejets d'une production de porcs, pour lequel cet antibiotique était utilisé (74). Ces données soulignent que les établissements agricoles sont susceptibles d'impacter la nappe. La contamination semble décroître en s'éloignant de la source (76).

Certaines bactéries résistantes ne provenant pas de la source de rejet ont été observées dans les eaux souterraines (75) (76). Ainsi, il a été mis en évidence que des souches de *Pseudomonas* présentes dans les eaux souterraines étaient résistantes à 4 à 7 antibiotiques, alors que les souches de *Pseudomonas* au niveau de la source de rejet n'étaient résistantes qu'à 2 à 5 antibiotiques. En amont du point de rejet, une forêt était présente, n'expliquant pas la présence de ces résistances (76).

Sur cette base, les résistances bactériennes présentes dans les eaux souterraines peuvent également provenir de bactéries autochtones présentes dans les eaux et les sols, pouvant contribuer à l'acquisition de gènes de résistance en provenance de *pool* de gènes environnementaux.

2.1.2.3 Les eaux superficielles

Des bactéries résistantes ainsi que des gènes de résistance peuvent être présents dans les eaux superficielles, notamment au droit et en aval des points de rejets des STEP, des établissements agricoles et des élevages de poissons.

¹⁶ Ouvrage, constituant un tube dans le sol, permettant depuis la surface d'accéder à l'eau de la nappe phréatique

Une augmentation de bactéries multi-résistantes et de la contamination par des bactéries résistantes d'origine humaine est observée dans les eaux superficielles après rejet d'une STEP d'effluents municipaux. Une diminution de cette contamination est observée le long du continuum de la rivière. Il semblerait que cette réduction se fasse au profit de souches mieux adaptées à l'environnement (13) (19) (42).

Plusieurs études ont mis en évidence une augmentation des résistances, ou des multi-résistances bactériennes au droit et en aval des points de rejets des usines de fabrication d'antibiotiques. Ainsi, il a été mis en évidence un pourcentage plus important de phénotypes de multi-résistance dans une rivière au droit et à 20 km en aval d'une usine de production d'oxytétracycline. La plupart des isolats possédaient des gènes de résistance à la famille des tétracyclines (tel que *tetA*, *tetC*, *tetJ*, *tetD*, *tetY* et *tetR*) (40). Dans une autre étude, des similarités assez importantes dans les compositions bactériennes ont été observées entre les eaux usées d'une STEP traitant les effluents d'une usine de production de pénicilline en Chine, et les eaux prélevées dans la rivière réceptrice à 30 km en aval. Les échantillons au droit de la STEP et ceux en aval présentaient des niveaux de résistance plus importants aux β -lactamines, qu'aux autres classes d'antibiotiques (36). Une augmentation de la résistance de bactéries fécales (*E. coli*, coliformes totaux et *Enterococcus*) à la céfalexine et à l'amoxicilline a été observée en aval d'une usine produisant ces deux composés en Espagne. Les gènes de résistance *bla*_{TEM}, *bla*_{C_{TX-M}} et *bla*_{SHV} qui confèrent les résistances aux β -lactamines (et donc à la céfalexine et à l'amoxicilline) étaient relativement abondants. Une diminution de ces gènes de résistance pour les sites de prélèvement a été observée en aval du point de rejet (42).

Concernant l'usage agricole, des bactéries d'indicateurs fécaux résistantes aux antibiotiques (principalement entérocoques résistants aux macrolides et aux tétracyclines) ont été observées dans les cours d'eau en période estivale (correspondant à la partie de l'année où les animaux sont en pâturage). Ces apports sont faibles, comparés aux apports en provenance des habitations, et sont amenés à se réduire le long du continuum (13).

Concernant les élevages aquacoles, des bactéries aquatiques dans ces environnements présentent des résistances aux antibiotiques utilisés en pisciculture (77) (78). Des gènes de résistance aux sulfamides (liés en partie à la présence d'intégrons) et aux tétracyclines chez *Acinetobacter spp.* ont été reportés. La présence de ces gènes constitue un réservoir qui peut augmenter en présence de pressions de sélection, tels que les antibiotiques utilisés en pisciculture (79). Les résistances peuvent être transmises à l'homme, soit directement (par ingestion des bactéries résistantes), soit indirectement (par transfert horizontal de gènes entre les bactéries environnementales et les bactéries pathogènes humaines) (78).

2.1.2.4 Les sédiments

Les sédiments sont des milieux favorables à la survie des bactéries, notamment des bactéries fécales, compte tenu de la présence de nutriments et de leur capacité à protéger les bactéries de la lumière (42). En tout état de cause, des bactéries résistantes émises par les humains et les animaux sont susceptibles d'être présentes dans les sédiments.

Ainsi, des bactéries résistantes et des gènes de résistance sont observés dans les sédiments de rivières, à proximité immédiate d'activités humaines et agricoles. Dans ces zones, des gènes de résistance aux tétracyclines, aux quinolones, aux sulfamides, ainsi des gènes de résistance BLSE ont été mis en évidence (59) (80) (81) (82).

En outre, une corrélation significative a pu être mise en évidence entre la plupart des gènes de résistance détectés et la présence de métaux lourds tels que le cuivre et le zinc (80). Ce

phénomène est important, dans la mesure où les métaux sont largement présents dans les rejets d'activités humaines et agricoles, et sont, la plupart du temps, non traités par les STEP. Par ailleurs, une augmentation de bactéries multi-résistantes a été mise en évidence dans les sédiments au niveau des rejets de STEP traitant les effluents d'une usine de production d'antibiotiques et d'une STEP traitant des effluents urbains et hospitaliers (42). Cette observation se justifie dans la mesure où les STEP constituent des points chauds.

Les sédiments à proximité de zones piscicoles constituent des zones importantes de résistance aux antibiotiques, où sont concentrées des antibiotiques et des gènes de résistance variés. Ainsi, il a été mis en évidence que le nombre de bactéries résistantes à l'oxytétracycline dans les sédiments marins à proximité d'une zone piscicole augmentait après une thérapie à l'oxytétracycline, et des gènes de résistance *tetM* ont été observés dans les bactéries à gram positif et à gram négatif de genres variés (83). Des gènes de résistance aux tétracyclines (*tetM*, *tetL*, *tetO*) et aux macrolides (*ermB*) ont également été mis en évidence (84).

Ces observations suggèrent que la contamination des sédiments par des gènes de résistance aux antibiotiques est en partie liée à l'activité anthropique. Ces gènes de résistance peuvent se disséminer dans les eaux du bassin versant.

Sur la base de l'ensemble de ces éléments, il apparaît que les sédiments constituent potentiellement des réservoirs de contaminants variés contenant notamment des antibiotiques, des bactéries résistantes et des gènes de résistance.

2.2 Conséquences pour la santé humaine

2.2.1 Les antibiotiques

Comme présenté précédemment au paragraphe 2.1.1, des concentrations résiduelles en antibiotiques sont présentes dans les sols (et donc potentiellement les poussières), les eaux et les sédiments.

Au sein de l'environnement, ces composés peuvent être transférés vers différents milieux d'exposition, *via* des mécanismes de transfert (transport par le vent, les eaux, transfert des sols vers les plantes, des sols et des eaux vers les animaux, etc.). L'homme peut y être exposé par différentes voies d'exposition : ingestion, contact cutané et inhalation.

Le schéma conceptuel présenté dans le Tableau 5 ci-après présente les mécanismes de transfert susceptibles d'exister au sein de l'environnement, les milieux auxquels l'homme peut être exposé, et les voies d'exposition associées.

Milieux impactés	Eaux, sols, poussières, sédiments
Voies de transfert	Vent (transport des sols et poussières) Eaux Plantes (bioaccumulation des composés présents dans les sols) Animaux (bioaccumulation des molécules ingérées présentes dans les sols, les eaux)
Milieux d'exposition	Sols et poussières Eaux (eaux récréatives, eau potable) Aliments (viandes, poissons, plantes)
Voies d'exposition	Inhalation (sols et poussières) Ingestion (aliments, sols et poussière, eaux) Contact cutané (eaux, sols)
Cibles	Homme

Tableau 5 : Transmission des antibiotiques depuis l'environnement à l'homme

Pour rappel, les composés rencontrés dans les milieux d'exposition dépendent en partie de leurs propriétés physico-chimiques. En effet, chaque famille de composé ne possède pas la même persistance et la même mobilité au sein de l'environnement. L'Annexe 5 présente l'occurrence de certaines classes d'antibiotiques rapportée dans la littérature, selon certains milieux d'exposition (85).

Ainsi, l'homme peut être exposé à des résidus d'antibiotiques. Aussi, il convient de se demander si ces composés, même présents à de faibles doses, présentent des risques pour la santé humaine. Certains articles ont étudié ces risques. Le Tableau 6 ci-après récapitule les données existantes, par voies et milieux d'exposition.

Voies et milieux d'exposition	Observations	Etude
Inhalation de sols et de poussières	Les antibiotiques présents sur les poussières sont susceptibles de générer des risques allergiques (en particulier lié à la présence de tylosine et de sulfaméthazine, composés ayant un potentiel allergisant). L'exposition permanente aux poussières à des concentrations sub-thérapeutiques à différents antibiotiques pourrait favoriser le développement de résistances bactériennes.	(1)
Ingestion de plantes/végétaux¹⁷	Les teneurs mesurées dans les végétaux sont inférieures à la Dose Journalière Admissible ¹⁸ (DJA)	(86) (87)
	Risque potentiel pour les personnes allergiques aux antibiotiques.	(88)
Ingestion de viandes ou de produits animaux	Présence d'antibiotique de la classe des tétracyclines dans le lait de vache. Les teneurs sont inférieures aux concentrations résiduelles admissibles aux Etats-Unis.	(89)
	Développement d'un guide par la FDA pour déterminer les risques des résidus d'antibiotiques pour les produits alimentaires. Le guide recommande de déterminer l'impact des résidus d'antibiotiques sur la flore intestinale d'un homme sain et un éventuel développement de résistances bactériennes. Ce guide permet de calculer une DJA pour les résidus d'antibiotiques, afin qu'ils ne posent pas de problème pour la santé humaine.	(90) (91)
Ingestion de sols et de poussières	Absence de données	
Ingestion d'eau potable	Teneur nulle ou à l'état de trace (de l'ordre du ng/l). Les concentrations mesurées ne semblent pas générer de risques toxiques pour l'homme par ingestion d'eau.	(92)
Ingestion d'eau récréative	Absence de données	
Contact cutané (eaux, sols)	Absence de données	

Tableau 6 : Synthèse des données bibliographiques sur l'exposition humaine aux antibiotiques au sein de l'environnement

Sur la base des données disponibles, il apparaît que :

- les antibiotiques peuvent présenter des risques d'allergie pour les populations exposées ;
- à partir de certaines doses, les antibiotiques présents dans les aliments peuvent générer des résistances bactériennes chez l'homme. Des Concentrations Maximales Admissibles ont été élaborées afin de contrôler ce risque. À noter, il ne peut être exclu

¹⁷ Les teneurs présentes dans les plantes et les végétaux dépendent de nombreux facteurs : concentrations en antibiotiques présentes dans les sols, type de sol, type de plante ou de végétaux, partie de la plante étudiée, capacité de transformation de la molécule par la plante, etc.

¹⁸ Quantité d'une substance qu'un individu moyen de 60 kg peut théoriquement ingérer quotidiennement, sans risques pour la santé

que ces risques existent, par exemple en Inde en aval des usines de production d'antibiotiques où les eaux sont contaminées (eaux de la rivière, eaux des puits) (93). Dans ce contexte particulier, l'homme peut être exposé à ces composés notamment *via* ingestion d'eau, de poissons, de viandes ou de végétaux contaminés.

Par ailleurs, comme vu dans le paragraphe 2.1, ces molécules, au sein de l'environnement peuvent exercer une pression de sélection, et contribuer au développement de résistances bactériennes. Elles sont, par conséquent, susceptibles de présenter des risques pour la santé humaine. Ce point est étudié dans le paragraphe ci-après.

2.2.2 Les bactéries résistantes

Les antibiotiques, les bactéries résistantes et les gènes de résistance sont naturellement présents dans les milieux eaux, sols et sédiments. Comme vu au paragraphe 2.1, des apports anthropiques y sont déversés en quantité importante. L'environnement ne possède pas la capacité de tout éliminer. Ils sont donc susceptibles de former des dépôts, pouvant interagir avec le microbiome environnemental (94).

Ainsi, l'exposition des microorganismes environnementaux aux mixtures présentes dans les rejets d'activités humaines (gènes de résistance, antibiotiques et agents sélectifs) favorise le transfert horizontal de gène. Les antibiotiques peuvent induire une réponse SOS chez les cellules, capable d'affecter le génome bactérien, incluant, outre les transferts horizontaux de gènes, l'augmentation du taux de mutation chromosomique et des recombinaisons (cas notamment pour les intégrons) (5) (95). Ainsi, par exemple, la présence d'importantes quantités d'antibiotiques dans les effluents des usines de production en Inde a été associée à une augmentation de la présence de gènes de résistance aux antibiotiques dans les eaux de surface (39). Ce phénomène est également rapporté au niveau de sites aquacoles (79) (83). Les milieux et les conditions qui favorisent de telles recombinaisons et transferts ne sont pas bien élucidés (milieu nutritif, agents de co-sélection, mécanisme de dose-réponse, etc.) (95) (96).

Néanmoins, ce qui est sûr, c'est que l'ensemble de ces phénomènes permet d'augmenter la diversité, ainsi que la prolifération du résistome, et du mobilome dans diverses souches et espèces (5). Ainsi, des gènes de résistance identiques peuvent se retrouver chez diverses espèces bactériennes d'intérêt clinique, chez les animaux (domestiques, sauvages), ainsi que dans des sites éloignés des activités humaines (5) (97) (98) (99). Par exemple, il a été mis en évidence que le gène CTX-M, qui confère la résistance aux pénicillines et notamment aux céphalosporines de troisième génération (C3G), était retrouvé chez des bactéries environnementales, humaines et animales (85). Le progéniteur de ce gène proviendrait de bactéries environnementales présentes dans les sols, du genre *Kluyvera* spp.

Le gène *qnrA*, conférant la résistance aux fluoroquinolones, proviendrait de bactéries environnementales du système aquatique de l'espèce *Shewanella algae* (100).

Récemment, des séquences 100% identiques de gènes de résistance de divers pathogènes d'importance clinique et de bactéries commensales des sols ont été observées, soulignant un potentiel transfert horizontal de gène entre les bactéries résistantes environnementales et les bactéries résistantes pathogènes (101).

La Figure 11 ci-après synthétise les interactions existantes entre les apports anthropiques et le microbiome (95).

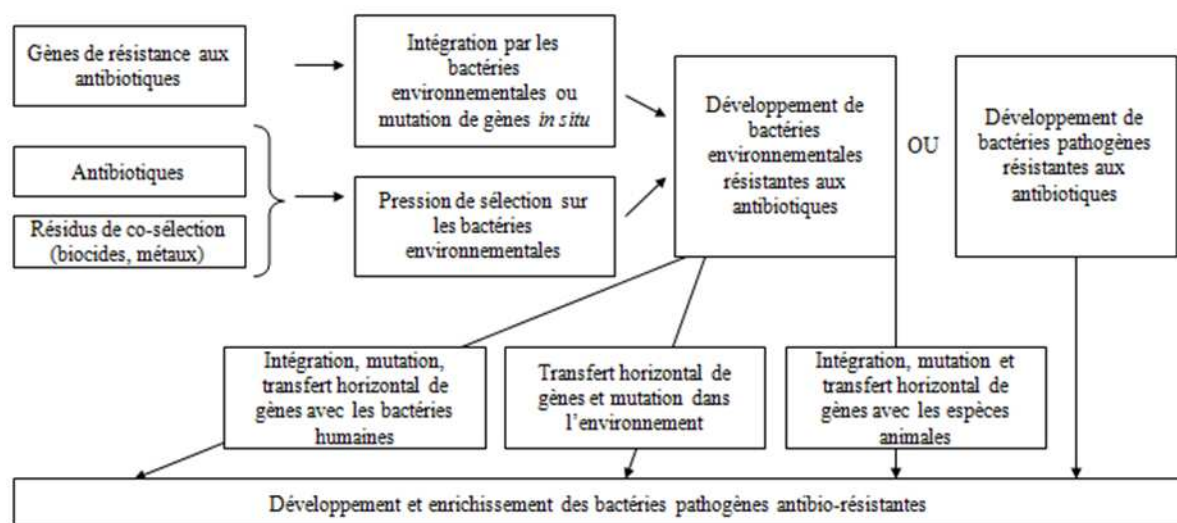


Figure 11 : Interaction entre les apports anthropiques et le microbiome

À noter, une fois établie, une résistance peut persister, même en l'absence de pression de sélection. Ainsi, la fixation de gènes de résistance et leurs vecteurs mobiles peuvent être permanents (64).

Sur cette base, les apports anthropiques participent au développement et à l'enrichissement des bactéries antibiorésistantes au sein de l'environnement. Ces bactéries, dont les bactéries pathogènes, peuvent alors être transportées vers des milieux d'exposition, où l'homme peut-être exposé.

Le Tableau 7 ci-après présente les voies de transferts, milieux d'exposition et voies d'exposition potentielles.

Milieux impactés	Eaux, sols et sédiments
Voies de transfert	Vent (transport des sols et de poussières, aérosols) Eaux (de surface, souterraines) Animaux (élevage, sauvages, oiseaux, poissons, de compagnie) Homme (<i>via</i> manuportage) Plantes
Milieu d'exposition	Air Eau (récréative, potable(102)(103)) Sols Animaux Aliments (plantes, poissons, viande)
Voies d'exposition	Inhalation (sols et poussières, aérosols) Ingestion (eaux, aliments, sols et poussières) Contact cutané (sols, eaux, animaux, plantes, aliments, homme)
Cibles	Homme

Tableau 7 : Transmission des bactéries résistantes depuis l'environnement à l'homme

Au vu de ces éléments, des bactéries résistantes potentiellement pathogènes peuvent être présentes dans de nombreux milieux d'exposition au sein de l'environnement (les eaux, les sols, l'air et les aliments).

Les principales voies d'exposition pour lesquels des risques sanitaires ont été rapportés dans la littérature sont le manuportage (entre homme, homme/animaux) et l'ingestion (aliments, eaux).

En effet, après ingestion, une bactérie pathogène peut générer des risques sanitaires (cas des patients infectés). Concernant les bactéries non pathogènes, la plupart passent dans l'intestin sans causer de maladie. Cependant, il peut exister des transferts horizontaux de gènes avec les bactéries commensales humaines, permettant aux gènes de résistance d'intégrer la flore intestinale (cas des patients colonisés) (85).

De nombreuses études ont porté sur les risques sanitaires pour l'homme, liés à l'utilisation des antibiotiques et à la présence de bactéries résistantes dans le milieu agricole. En effet, il est admis que les animaux sont des réservoirs de résistance bactérienne (100) (104). De ce fait, des bactéries résistantes sont présentes dans l'environnement proche des fermes, ainsi que dans les viandes et le lait animal. À noter que l'utilisation d'antibiotiques en agriculture peut générer de nouveaux types de résistance qui peuvent se disséminer dans la population humaine (105). Ainsi, l'homme (et notamment les personnes travaillant dans les fermes) est exposé directement aux bactéries résistantes, par la consommation des aliments de la ferme, ou indirectement, par contact avec les organismes résistants qui se sont disséminés dans l'environnement et les écosystèmes (90).

Les animaux et les hommes peuvent donc s'échanger leurs mobilomes, et il existe un lien étroit entre les résistances observées chez les hommes et les animaux. Par exemple, dans les années 1990, la prévalence de la résistance aux entérocoques à la vancomycine était bien plus importante en Europe (2-12%) qu'aux Etats-Unis (inférieure à 1%). À cette époque, des glycopeptides étaient utilisés en Europe pour le traitement des humains à l'hôpital (vancomycine) et comme facteur de croissance chez les animaux (avoparcine). Aux Etats-Unis, seule la vancomycine était utilisée pour le traitement des humains à l'hôpital, l'avoparcine étant interdite. La prévalence des résistances à la vancomycine en Europe a décliné après l'interdiction de l'utilisation de l'avoparcine. Cette comparaison suggère que les antibiotiques utilisés en agriculture peuvent avoir un effet quantitatif non négligeable sur la dissémination des résistances au sein d'une communauté (105).

La transmission de gènes de résistance peut également se faire *via* le manuportage, les aliments (végétaux, animaux, poissons) et l'eau (récréative, potable). C'est le cas par exemple du gène New Delhi Metallo-bêta_lactamase-1 (NDM-1), qui confère la résistance aux carbapénèmes, dont le réservoir semble provenir de l'Inde et du Pakistan, où il a été retrouvé dans l'environnement. Ce gène est porté par un plasmide, et peut donc être transféré à de nombreuses bactéries. Il peut-être porté par des patients sains ou malades. De nombreux cas ont été reportés à travers le monde, à savoir en Europe, aux Etats-Unis, au Canada, en Asie, en Afrique et en Australie. En général, les patients avaient voyagés en Inde ou au Pakistan, sans forcément avoir fait un séjour à l'hôpital. Plusieurs causes permettant d'expliquer la dissémination de ce gène ont été identifiées : il s'agit du manque d'hygiène dans les pays où se trouvent les réservoirs, favorisant la contamination des eaux et des aliments, ainsi que la mobilité des personnes, à l'origine d'une dissémination rapide au niveau mondial (106).

Par conséquent, le développement de nouvelles résistances au sein de l'environnement, ainsi que leur prolifération et leur transmission à l'homme est un fait réel. Ainsi, il existe de nombreuses interactions entre l'environnement, les animaux et les hommes. Les interactions entre les différents milieux, depuis les émissions jusqu'aux cibles d'exposition, sont présentées sur la Figure 12 ci-après (85).

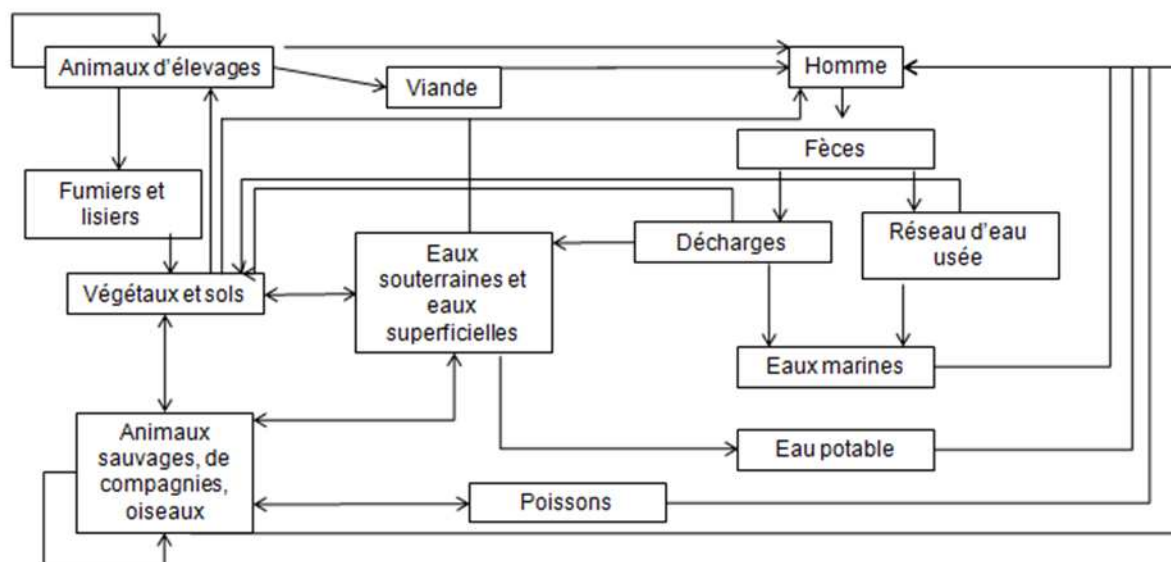


Figure 12 : Interaction entre les différents compartiments au sein de l'environnement

Néanmoins, les mécanismes impliqués dans l'émergence de résistances bactériennes sont complexes, et il est impossible à l'heure actuelle, compte tenu des incertitudes et du manque de données, d'évaluer quantitativement ce phénomène (95) (96). Des recherches doivent être menées afin de mieux comprendre les mécanismes en jeu, et permettre la mise en œuvre des mesures de gestion adaptées. Des axes de recherches sont proposés plus loin dans le document au paragraphe 3.2.

3. Discussion et perspectives

Les antibiotiques sont, à l'origine, des molécules naturelles présentes dans l'environnement. Des bactéries résistantes sont également présentes, en dehors de toute pression de sélection exercée par ces composés.

Ces environnements et leurs dynamiques sont perturbés par les rejets anthropiques, qui apportent de nouvelles molécules et de nouveaux gènes de résistance sur des sites naïfs. Ce phénomène est susceptible de générer de nouvelles recombinaisons génétiques et de nouveaux complexes chez les bactéries commensales et pathogènes, qui peuvent être transmis à l'homme, mais également aux animaux, ces derniers étant en contact direct et indirect avec l'homme. Le risque sanitaire principal est, *in fine*, la création de nouvelles souches résistantes, avec des impasses thérapeutiques.

Afin de limiter ce phénomène, il convient d'identifier, dans un premier temps, les mesures qui permettraient de limiter les rejets au niveau des sources d'émission, telles qu'identifiées au paragraphe 1.2 du premier chapitre de cette thèse. Cela permettrait de réduire les interactions entre les rejets anthropiques et le microbiome environnemental, et donc de ralentir l'évolution des résistances bactériennes. Dans la mesure où les gènes de résistance sont capables de diffuser rapidement à travers le monde (cas par exemple du gène NDM-1), il paraît indispensable que des mesures soient prises à l'échelle internationale.

Par ailleurs, le devenir des antibiotiques, des bactéries résistantes, et des gènes de résistance au sein de l'environnement n'est pas tout à fait connu. En outre, les milieux et les conditions dans lesquels se produisent les modifications génétiques ne sont pas encore bien compris. Il convient donc, dans un deuxième temps, de définir les axes de recherche pour lesquels il existe un réel manque de données, et qui permettront de mieux comprendre et donc de gérer ces phénomènes.

3.1 Réduction des rejets au niveau des sources d'émission

3.1.1 Emission liées à la médecine humaine

Dans un premier temps, il apparaît nécessaire de rationaliser la consommation des antibiotiques en médecine humaine, et de sensibiliser les professionnels ainsi que les patients d'un point de vue environnemental sur le sujet, avec notamment :

- la promotion du bon usage des antibiotiques;
- l'utilisation, lorsque cela est possible, de thérapeutiques alternatives (par exemple usage des probiotiques) ;
- promouvoir l'utilisation, en priorité, des molécules dégradables plutôt que des composés persistant dans l'environnement ;
- promouvoir une meilleure gestion des médicaments non utilisés (par exemple rapporter systématiquement les médicaments non utilisés en pharmacie) ;
- respecter des mesures simples d'hygiène (par exemple le lavage des mains).

En France, les différents plans antibiotiques mis en place depuis le début des années 2000 ont permis de contribuer à la réduction et à la promotion du bon usage des antibiotiques, et à

sensibiliser le personnel de santé ainsi que la population. Les actions pourraient porter sur l'utilisation, lorsque cela est possible, d'alternatives thérapeutiques (comme l'usage de probiotiques) ou de molécules antibiotiques non persistantes (par exemple les β -lactamines). À noter que l'utilisation rationnée n'est pas toujours effective notamment dans certains pays pour lesquels ces molécules peuvent être obtenues sans ordonnance.

Concernant les rejets, en milieu hospitalier, l'installation de systèmes de prétraitement des effluents, lorsqu'il n'est pas déjà en place, permettrait d'éliminer partiellement les antibiotiques et les bactéries résistantes, avant leur rejet dans les réseaux publics (107). En outre, lorsque cela est possible, les hôpitaux pourraient être équipés de leur propre système de traitement. Un système pilote est actuellement en cours sur le site de Bellecombe en Haute Savoie (projet SIPIBEL¹⁹).

D'un point de vue réglementaire, une partie évaluant l'écotoxicité de la molécule existe depuis 2006 dans le dossier d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). Pour la majeure partie des médicaments existants, on ne dispose pas d'une connaissance de l'impact environnemental compte tenu de l'antériorité et d'une absence d'obligation de rattrapage (31). Une recherche de la toxicité et de la persistance des antibiotiques (pour lesquels aucune évaluation n'a été réalisée) dans l'environnement permettrait d'améliorer les connaissances. Cette réévaluation devrait s'adresser en priorité aux molécules décrites comme persistantes dans l'environnement, telles que celles de la famille des quinolones, les sulfamides et les tétracyclines.

En outre, la partie écotoxicité ne prend pas en compte le devenir du médicament et de ses métabolites lorsqu'il va se retrouver avec d'autres composés chimiques dans les effluents puis dans l'environnement (autres antibiotiques, pesticides, biocides, métaux lourds...). Le composé, dans le meilleur des cas, est dégradé, et dans le cas contraire peut générer des produits de dégradation toxiques. Un suivi post AMM évaluant le devenir de ces composés pourrait être envisagé.

3.1.2 Emission liées à la médecine vétérinaire

Tout comme en médecine humaine, l'information et la promotion du bon usage des antibiotiques en médecine vétérinaire permet de réduire la consommation, et donc les émissions d'antibiotiques et de bactéries résistantes. Pour ce faire, les actions qui peuvent être mises en œuvre sont :

- une réduction de la consommation, et notamment des antibiotiques d'intérêt critique. Ce point est l'objectif du plan EcoAntibio actuellement mis en œuvre en France.
- abolir, dans les pays qui les utilisent encore, les antibiotiques comme facteur de croissance. Ces composés ne sont plus utilisés en Europe depuis 2006 ;
- utilisation des composés les moins persistants dans l'environnement ;
- utilisation, lorsque cela est possible, de thérapeutiques alternatives, telles que la vaccination, les probiotiques. La promotion du développement des alternatives évitant l'utilisation des antibiotiques est actée dans le plan EcoAntibio.

¹⁹ Le site de Bellecombe a été mis en place à partir de 2010 avec pour objectifs d'étudier la caractérisation la traitabilité et les impacts des effluents hospitaliers en station d'épuration urbaine.

Par conséquent, en France, de nombreuses actions sont déjà mises en œuvre pour réduire la consommation et promouvoir le bon usage des antibiotiques.

Par ailleurs, le respect des bonnes pratiques agricoles, comme le fait d'avoir une plus faible densité animale, limite la transmission de maladies infectieuses au sein du cheptel, permet ainsi le maintien des animaux en bonne santé, et donc la réduction de l'utilisation des antibiotiques.

Concernant les émissions, des actions peuvent être mises en place afin de limiter les rejets des animaux en pâture dans l'environnement. Ainsi, la création de zones tampons autour des prairies (par exemple via la mise en place de structures naturelles autour des champs d'élevage pour filtrer les antibiotiques tels que les zones d'enherbement) permet de limiter le ruissellement sur les parcelles agricoles (107).

Par ailleurs, une réglementation sur les concentrations en antibiotiques présents dans les fumiers destinés à être épandus pourrait être mise en place pour voir si ces déchets nécessitent un traitement avant épandage.

Par exemple, le compostage permettrait l'élimination de 50 à 70% de certains antibiotiques. Ce type de traitement a des effets variables sur les gènes de résistance (augmentation ou diminution des gènes de résistance, variable du fait de l'implication du système microbiologique complexe). Le stockage en milieu anaérobie permet également une bonne élimination de la plupart des sulfamides et du triméthoprim. Le sulfaméthoxazole et l'oxytétracycline seraient plus facilement dégradés en milieu aérobie (107). Des recherches pourraient être menées afin de mieux comprendre le devenir des antibiotiques et de leurs produits de dégradation dans les fumiers.

Concernant la réglementation, tout comme les antibiotiques en médecine humaine, pour les antibiotiques les plus anciens, on ne dispose pas d'une connaissance sur leur éventuel impact environnemental. Des études post-AMM permettraient de mieux évaluer le devenir de ces molécules après émission.

3.1.3 Emission par les industries

Il apparaît nécessaire que les teneurs en antibiotiques présentes dans les effluents issus des usines de production et de mise en forme pharmaceutique soient contrôlées. Aussi, des concentrations standard en antibiotiques à ne pas dépasser pourraient être établies, avec des restrictions sur les composés synthétiques et les composés persistant dans l'environnement, qui constituent les produits les plus susceptibles de générer de nouvelles résistances.

Par ailleurs, la mise en place d'un système de prétraitement, s'il n'est pas déjà réalisé, permet de réduire les quantités à traiter, et donc d'améliorer l'efficacité du traitement, associée à une baisse des rejets au sein de l'environnement.

3.1.4 Emission par les stations d'épuration

Il est nécessaire d'identifier les systèmes de traitement les plus efficaces pour éliminer les antibiotiques et les bactéries résistantes. Cela permettrait d'adapter les traitements, notamment pour les STEP reconnues comme recevant des quantités importantes d'antibiotiques et de

bactéries résistantes (par exemple les STEP recevant les effluents des établissements de soins). *In fine*, cela permettrait de réduire leur rejet dans l'environnement.

En première approche, sur la base des données disponibles, les traitements tertiaires, et notamment les traitements avec filtration, permettraient une bonne élimination des antibiotiques et des bactéries résistantes dans les eaux.

Concernant les boues, à l'issue du traitement des STEP, elles comportent des antibiotiques, des bactéries résistantes et des gènes de résistance. Aussi, l'incinération paraît être la solution de gestion qui représente le « zéro-risque ». En 2010, 1% des boues ont été épandues dans les champs en Suède, et 99% ont été incinérées ou recyclées (peut être une source de production d'énergie) (107).

Cependant, en France, la plupart des boues sont épandues. Aussi, des concentrations maximales admissibles en antibiotiques et en bactéries résistantes dans les boues pourraient être établies. Néanmoins, pour fixer ces valeurs, il est nécessaire de mieux comprendre le devenir et les mécanismes de résistance qui ont lieu dans l'environnement.

3.2 Les axes de recherche

Afin de mieux comprendre les mécanismes qui ont lieu dans le milieu environnemental, des études complémentaires doivent être menées. Les axes de recherche, identifiés dans le présent document ainsi que dans la littérature, peuvent porter sur les problématiques suivantes :

- étudier et déterminer le rôle des métabolites dans l'environnement (94). À l'heure actuelle, ces phénomènes sont peu décrits dans la littérature, et les risques associés ne sont pas connus. En outre, certaines métabolites sont capables, sous certaines conditions, de reprendre la forme du composé parent. Il est nécessaire d'identifier les conditions permettant cette transformation et de quantifier cette réaction, dans la mesure où les antibiotiques sont capables, à faibles doses, d'interagir avec le microbiome environnemental ;
- poursuivre les études portant sur l'évaluation de l'efficacité des traitements secondaires et tertiaires des STEP, pour les antibiotiques, les bactéries résistantes et les gènes de résistance (49). Cela permettrait de déterminer les traitements les plus efficaces, et donc de pouvoir adapter, dans la mesure du possible, les traitements des STEP recevant ces éléments en grande quantité ;
- étudier le devenir des bactéries résistantes et des gènes de résistance dans les boues des stations d'épuration, en fonction du système de traitement. En effet, comme vu au paragraphe 1.2.4.3, ce phénomène est peu étudié, et très peu de données sont disponibles. Par ailleurs, il peut également être étudié la corrélation entre la présence des antibiotiques et les bactéries résistantes/gènes de résistance dans les boues. Ces données permettront d'évaluer les quantités susceptibles d'être épandues sur les parcelles agricoles ;
- étudier le devenir des différents antibiotiques et de leurs métabolites, ainsi que des bactéries résistantes et des gènes de résistance dans les fumiers en fonction des différents procédés de stockage ;
- déterminer les concentrations minimales d'antibiotiques et/ou d'agents co-sélectifs qui permettent de sélectionner une résistance, ainsi que les conditions nécessaires pour que ce phénomène se réalise (temps d'exposition, température, pH, agents nutritifs, etc.). Ces concentrations sont probablement dépendantes d'un antibiotique/d'un agent de co-sélection, d'une bactérie, d'un mécanisme de résistance et d'un environnement

donné (par exemple pour un type de sol sableux, argileux, une eau chargée en matière dissoute, etc.) (95). L'acquisition de ces données pourrait notamment contribuer à fixer des concentrations maximales admissibles dans les boues et les fumiers destinés à être épandus, ainsi que dans les eaux rejetées par les STEP dans l'environnement ;

- déterminer les quantités de mutations et de transferts de gènes qui peuvent se produire dans un environnement donné ;
- étudier la capacité de persistance des résistances bactériennes dans un environnement donné ;
- rechercher des données sur la dose-réponse, à savoir la quantité de bactéries résistantes pathogènes susceptibles de générer une infection, pour un type de patient donné (95).

Ainsi, une meilleure connaissance du devenir des antibiotiques et des éléments de résistance au niveau environnemental permettrait d'anticiper et de prévenir la création de futures résistances bactériennes et de mettre en œuvre des mesures de gestion plus adaptées pour limiter l'émergence de nouvelles résistances (par exemple en localisant les points chauds).

Conclusion

Le présent document a eu pour objectif de répondre à la problématique suivante : est-ce que le rejet des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement est susceptible de générer des risques sanitaires pour la santé humaine ?

Pour ce faire, dans un premier temps, les sources d'émission des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement ont été identifiées.

Ainsi, en médecine humaine, les antibiotiques, les bactéries résistantes et des gènes de résistance émis par l'homme se retrouvent dans la majorité des cas dans les réseaux d'assainissement urbain. Ils sont par conséquent présents dans les influents des stations d'épuration. Néanmoins, les stations de traitement n'ont pas été conçues pour traiter ces éléments. De ce fait, les antibiotiques ne sont traités que partiellement. Concernant les bactéries résistantes et les gènes de résistance, leur quantité n'est pas forcément réduite par les traitements, et elle est parfois même augmentée. Cette dernière observation peut-être liée au fait que ces établissements réunissent un ensemble de facteurs favorables au développement des bactéries résistantes et au transfert des gènes de résistance (lieu de haute densité cellulaire, recevant de manière récurrente des effluents contenant des antibiotiques, des bactéries résistantes, ainsi que des structures génétiques mobiles et des gènes de résistance). À noter, les mécanismes de transfert de gènes au sein des stations de traitement sont encore mal connus. Aussi, les antibiotiques, les bactéries résistantes ainsi que les gènes de résistance sont retrouvés dans les produits issus du traitement à savoir les eaux traitées (rejetées en partie dans les eaux superficielles), et les boues, qui, en France, sont la plupart du temps épandues sur les parcelles agricoles.

En médecine vétérinaire, les antibiotiques, les bactéries résistantes et les gènes de résistance sont directement émis dans l'environnement. Concernant les animaux de rente, les déjections sont rejetés directement (cas des animaux en pâture) ou indirectement (cas des animaux en stabulation) sur les sols ; dans ce dernier cas, les excréta sont d'abord entreposés (plusieurs mois), puis dans un second temps épandus sur les terres agricoles. Pour les élevages de poissons, les rejets sont émis directement dans le milieu aquatique. Pour les animaux de compagnie, les rejets finissent dans les déchets ménagers, les eaux de lavage des rues, etc.

Concernant les émissions des usines de production d'antibiotiques, les effluents, après traitement, sont émis directement dans les eaux de surface.

Sur cette base, les antibiotiques, les bactéries résistantes et les gènes de résistance sont présents dans l'environnement (les sols, les eaux, les sédiments). Aussi, la deuxième partie du présent document a donc étudié le devenir de ces éléments dans l'environnement, et les conséquences associées pour la santé humaine.

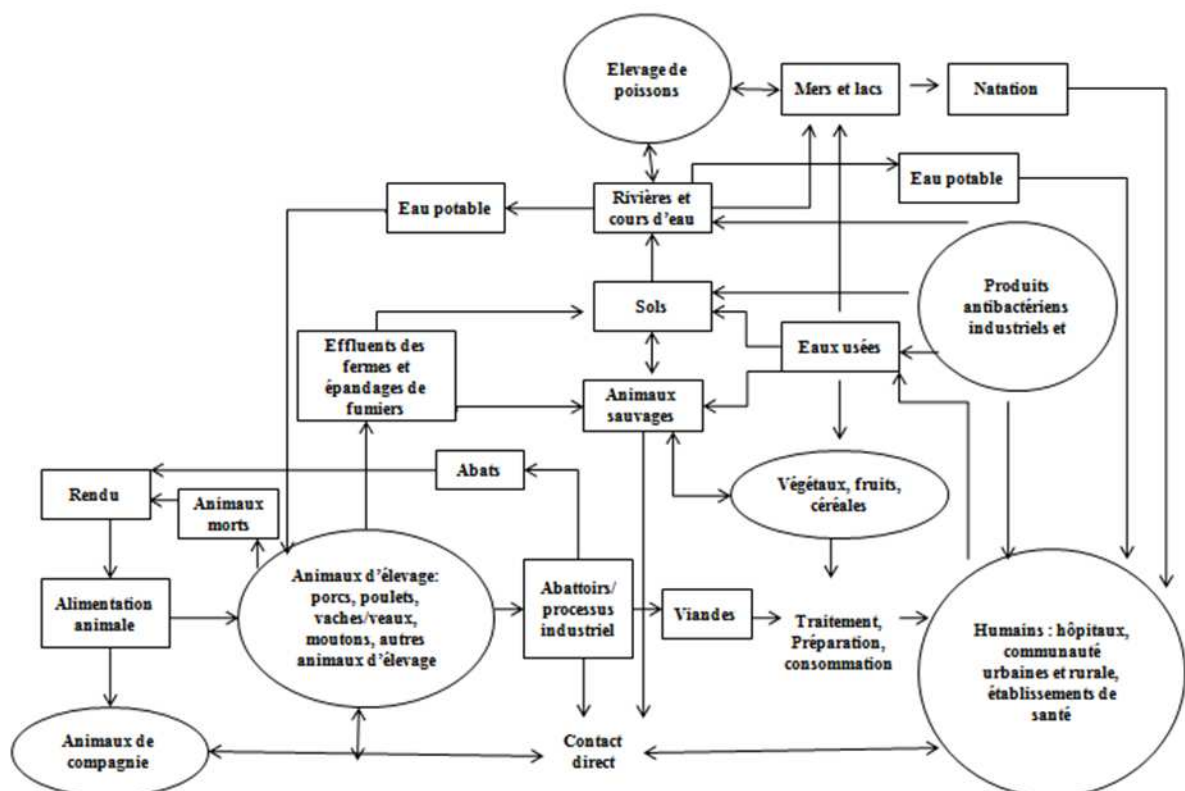
Concernant les antibiotiques, leur devenir dans l'environnement dépend principalement de leurs propriétés physico-chimiques, ainsi que des conditions environnementales. Ainsi, par exemple, les fluoroquinolones et les macrolides sont persistants dans les eaux. Les fluoroquinolones et les tétracyclines sont persistants dans les sols. Aussi, ces composés sont retrouvés à des concentrations élevées à proximité de leur source de rejet. Ils pourront être transportés vers différents milieux d'exposition (sols et poussières, eau potable, eau récréative, plantes, viandes, poissons), où l'homme pourra être exposé. Les risques sanitaires identifiés par la présence des antibiotiques dans l'environnement sont des potentiels risques

allergènes pour les personnes sensibles, et également le développement de résistances bactériennes.

Concernant les résistances bactériennes, après rejet dans l'environnement, des échanges de gènes entre les bactéries anthropiques et les bactéries environnementales, sous certaines conditions, peuvent se faire dans les différents milieux (sols, eaux, sédiments). La présence d'antibiotiques, même à faible dose, peut contribuer au transfert et à la recombinaison de gènes de résistance. À noter que les conditions dans lesquelles se réalisent de tels échanges ne sont, à l'heure actuelle, pas bien connues. Ainsi, il a été mis en évidence que certains gènes de résistance observés chez l'homme, mais également chez les animaux, proviennent de l'environnement. Par exemple, le gène CTX-M, qui confère la résistance aux pénicillines et notamment aux céphalosporines de troisième génération, est retrouvé chez des bactéries environnementales, humaines et animales.

Ainsi, les bactéries résistantes présentes dans l'environnement, ainsi que les éléments génétiques mobiles, peuvent être transférés vers différents milieux d'exposition (air (aérosols), eaux récréatives, eaux potables, sols et poussières, animaux, aliments), où l'homme, mais également les animaux, sont être exposés.

Ainsi, les interactions entre les différents compartiments depuis les émissions de résistances bactériennes jusqu'aux expositions, sont présentées sur la figure ci-après.



Au regard de l'ensemble de ces éléments, il existe deux principaux risques sanitaires liés au rejet des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement. Ainsi, ce phénomène contribue à l'augmentation du pourcentage de bactéries résistantes déjà connues. Par ailleurs, il peut-être à l'origine de l'émergence de nouvelles souches de bactéries résistantes.

Afin de gérer ces risques, plusieurs démarches ont été identifiées, et sont présentées au chapitre 3 du présent document. Ces actions consistent notamment :

- à réduire les émissions dans l'environnement, afin de limiter le phénomène d'émergence de nouvelles souches ;
- de continuer les recherches, afin de mieux comprendre les mécanismes en jeu et orienter des mesures de gestion adéquates, dans le but de limiter l'émergence de nouvelles résistances.

Bibliographie

1. **Martinez, J.L.** Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. s.l. : Environmental pollution, 2009. Vol. 157, 11, pp. 2893-2902.
2. **Kümmerer, K.** Antibiotics in the aquatic environment - A review - Part II. s.l. : Chemosphere, 2009. Vol. 75, 4, pp. 435-441.
3. **Inserm, Dossier d'information.** <http://www.inserm.fr/thematiques/microbiologie-et-maladies-infectieuses/dossiers-d-information/la-resistance-aux-antibiotiques>. [En ligne]
4. **Stadler, T.** *Implication des effluents d'activités hospitalières et de la filière carnée sur la dissémination de l'antibiorésistance: dynamique des intégrons de l'émission au rejet.* Limoges : Université de Limoges, 2012.
5. **Gillings, M.R.** Evolutionary consequences of antibiotic use for the resistome, mobilome, and microbial pangenome. s.l. : frontiers in Microbiology, 2013. Vol. 4, 4.
6. **ansm.** *Evolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2012.* s.l. : ansm, 2013.
7. <http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Les-antibiotiques-consideres-comme-critiques-premieres-reflexions-sur-leur-caracterisation-Point-d-information>. [En ligne]
8. **Antwerpen, Universiteit.** *Selon un nouveau rapport de l'OMS, la consommation d'antibiotiques varie du simple au quadruple dans la région européenne.* s.l. : Organisation mondiale de la santé-Bureau régionale de l'Europe, 2014.
9. **Tamtam, F.** *Source et devenir des antibiotiques dans le bassin versant de la Seine.* 2008.
10. **Thomas, K.V., Dye, C., Schlabach, M., et al.** Source to sink tracking of selected human pharmaceuticals from two Oslo city hospitals and a wastewater treatment works. s.l. : Journal of Environmental Monitoring, 2007. Vol. 9, pp. 1410-1418.
11. **Kümmerer, K., Henninger, A.** Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospital households into effluents. s.l. : Clinical Microbiology Infection, 2003. Vol. 9, 12, pp. 1203-1214.
12. **Oppliger, A.** Antibiotiques et bactéries antibiorésistantes dans les effluents d'hôpitaux. Chambéry : s.n., 2008.
13. **Petit, F., Denamur, E., Budzinski, H., et al.** *Devenir des antibiotiques, flux de gènes et de bactéries antibiorésistantes en estuaire de Seine, exposition à l'Homme (FLASH).* s.l. : Seine Aval, 2012.
14. **Mullot, J.U.** *Modélisation des flux de médicaments dans les effluents hospitaliers.* s.l. : Université Paris-Sud 11, 2009.
15. **Birosova, L., Mackulak, T., Bodik, I., et al.** Pilot study of seasonal occurrence and distribution of antibiotics and drug resistant bacteria in wastewater treatment plants in Slovakia. s.l. : Science of the Total Environment, 2014. Vol. 490, pp. 440-444.
16. **ECDC.** *Antimicrobial resistance surveillance in Europe.* s.l. : ECDC, 2012.
17. **Korzeniewska, E., Harnisz, M.** Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital effluents. s.l. : Journal of Environmental Management, 2013. Vol. 123, pp. 1-7.
18. **Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B. et al.** Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. s.l. : Microbiol. Ecol., 2003. Vol. 43, pp. 325-335.
19. **Bréchet, C., Plantin, J., Sauget, M., et al.** Wastewater treatment plants release large amounts of extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* into the environment. Besançon : Clinical Infectious Diseases, 2014.
20. **Blanch, A.R., Caplin, J.L., Iversen, A., et al.** Comparison of enterococcal populations related to urban and hospital wastewater in various climatic and geographic regions. s.l. : J. Appl. Microbiol., 2003. Vol. 94, pp. 994-1002.

21. **Passerat, J., Tamtam, F., Le Bot, B., et al.** Antimicrobials and faecal bacteria resistant to antimicrobials in the rivers of the Seine river watershed : impacts of hospital effluents. s.l. : Journal Européen d'Hydrologie, 2010. Vol. 41, pp. 1-13.
22. **Harris, S., Morris, C., Morris, D., et al.** Antimicrobial resistant *Escherichia coli* in the municipal wastewater system : effect of hospital effluent and environmental fate. s.l. : Science of the Total Environment, 2014. Vol. 468-469, pp. 1078-1085.
23. **Reinthal, F., Posch, J., Feierl, G., et al.** Antibiotic resistance of *E.coli* in sewage sludge. s.l. : water Research, 2003. Vol. 37, 8, pp. 1685-1690.
24. **Galvin, S., Boyle, F., Hickley, P., et al.** Enumeration and characterization of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* bacteria in effluent from municipal, hospital, and secondary treatment facility sources. s.l. : Appl Environ Microbiol., 2010. Vol. 76, 14, pp. 4772-4779.
25. **K.Kümmerer.** Resistance in the environment. s.l. : Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2004. Vol. 54, 2, pp. 311-320.
26. **ANSES.** *Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2012*. s.l. : ANSES, 2013.
27. **Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt.** *Ecobio : réduire l'utilisation des antibiotiques vétérinaires*. s.l. : Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt, 2012.
28. **Sarmah, A., Meyer, M., Boxall, A.** A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. s.l. : Chemosphere, 2006. Vol. 65, pp. 725-759.
29. **Algros, E.** *Antibiotiques dans l'environnement : sources, concentrations, persistance, effets et risques potentiels*. s.l. : UHP - Université Henri Poincaré, 2005.
30. **Heuer, H., Schmitt, H., Smalla, K.** Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. s.l. : Current Opinion in Microbiology, 2011. Vol. 14, 3, pp. 236-243.
31. **Bouvier, M., Durand, F., Guillet, R.** *Médicament et environnement _ la régulation du médicament vis à vis du risque environnemental*. s.l. : Conseil général de l'environnement et du développement durable, 2010.
32. **ANSES.** *Evaluation des risques d'émergence d'antibiorésistances liées aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale*. s.l. : ANSES, 2014.
33. —. *Spécial antibiotiques et antibiorésistance*. s.l. : Bulletin Epidémiologique santé animale - alimentation, 2012.
34. **Gordon, L.** *Résistance aux antibiotiques utilisés en pisciculture chez des indicateurs bactériens isolés de l'environnement dulçaquicole : caractérisation de la résistance au florfénicol chez *Aeromonas* spp.* s.l. : INRA, 2007.
35. **Haguenoer, J.M.** Les résidus de médicaments présentent-ils un risque pour la santé publique? s.l. : Santé publique, 2010. Vol. 22, 3, pp. 324-342.
36. **Li, D., Yang, M., Hu, j., et al.** Antibiotic-resistance profile in environmental bacteria isolated from penicillin production wastewater treatment plant and the receiving river. s.l. : Environmental microbiology, 2009. Vol. 11, 6, pp. 1506-1517.
37. **Segura, P., François, M., Gagnon, C., et al.** Review of the occurrence of anti-infectives in contaminated wastewaters and natural and drinking waters. s.l. : Environmental Health Perspectives, 2009. Vol. 117, 5.
38. **Larsson, J., Perdo, C., Paxeus, N.** Effluent from drug manufactures contains extremely high levels of pharmaceuticals. s.l. : Journal of Hazardous Materials, 2007. Vol. 148, 3, pp. 751-755.

39. **Kristiansson, E., Fick, J., Janzon, A., et al.** Pyrosequencing of antibiotic-contaminated river sediments reveals high levels of resistance and gene transfer elements. s.l. : Plos one, 2011. Vol. 6, 2.
40. **Li, D., Yu, T., Yang, M., et al.** Antibiotic resistance characteristics of environmental bacteria from an oxytetracycline production wastewater treatment plant and its receiving river. s.l. : Applied and Environmental Microbiology., 2010. Vol. 76, 11, pp. 3444-3451.
41. **Guardabassi, L., Petersen, A., Olsen, J.E., et al.** Antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. isolates from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant. s.l. : Applied and Environmental Microbiology., 1998. Vol. 64, 9, pp. 3499-3502.
42. **Sidrach-Cardona, R., Hijosa-Valsero, M., Marti, E., et al.** Prevalence of antibiotic-resistant fecal bacteria in a river impacted by both an antibiotic production plant and urban treated discharges. s.l. : Science of the Total Environment, 2014. Vol. 488-489, pp. 220-227.
43. **Y.Libes.** http://www4.ac-nancy-metz.fr/ia54-circos/ienstmax/sites/ienstmax/IMG/pdf/pdf_Les_eaux_usees_et_leur_epuration.pdf. [En ligne] Académie de Nancy-Metz.
44. **Fondation de l'Eau Potable.** <http://www.safewater.org/PDFS/resourcesknowthefacts/traitement+eaux+usees.pdf>. [En ligne]
45. **ONEMA.** http://www.onema.fr/IMG/pdf/10_Fiche_epuration_de_l_eau_web.pdf. [En ligne]
46. **Dhaouadi, H.** Traitement des eaux usées urbaines, les procédés biologiques d'épuration. s.l. : Université Virtuelle de Tunis, 2008.
47. **ADEME.** <http://www.ademe.fr/partenaires/boues/pages/fl5.htm>. [En ligne]
48. **AMORCE.** *Boues de Station d'Épuration : techniques de traitement, valorisation et élimination.* 2012. DT51.
49. **Rizzo, L., Manaia, C., Merlin, C., et al.** Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment : A review. s.l. : Science of the Total Environment, 2013. Vol. 447, pp. 345-360.
50. **Zhou, L.J., Ying, G.G., Liu, S., et al.** Occurrence and fate of eleven classes of antibiotics in two typical wastewater treatment plants in south China. s.l. : Science of the total environment, 2013. Vol. 452-453, 1, pp. 365-376.
51. **Le-Minh, N., Khan, S.J., Drewes, J.E.** Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. s.l. : Water research, 2010. Vol. 44, 15, pp. 4295-4323.
52. **Novo, A., Manaia, C.** Factors influencing antibiotic resistance burden in municipal wastewater treatment plants. s.l. : Applied Microbiology and Biotechnology, 2010. Vol. 87, 3, pp. 1157-1166.
53. **Ferreira da silva, M., Vaz-Moreira, I., Gonzalez-Pajuelo, M., et al.** Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae populations isolated from an urban wastewater treatment plant. s.l. : FEMS Microbiology., 2007. Vol. 60, pp. 166-176.
54. **Luczkiewicz, A., Jankowska, K., Fudala-Ksiazek, S., et al.** Antimicrobial resistance of fecal indicators in municipal wastewater treatment plant. s.l. : Water research., 2010. Vol. 44, pp. 5089-5097.
55. **Xu, J., Xu, Y., Wang, H., et al.** Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river. s.l. : Chemosphere, 2014.
56. **Munir, M., Wong, K., Xagorarakis, I.** Release of antibiotic resistant bacteria and genes in the effluent and biosolids of five wastewater utilities in Michigan. s.l. : Water Research, 2011. Vol. 45, 2, pp. 681-693.
57. **Czekalski, N., Berthold, T., Caucci, S., et al.** Increased Levels of Multiresistant Bacteria and Resistance Genes after Wastewater Treatment and Their Dissemination into Lake Geneva, Switzerland. s.l. : Frontiers in microbiology., 2012. Vol. 3, p. 106.

58. **Gao, P., Munir, M., Xagorarakis, I.** Correlation of tetracycline and sulfonamide antibiotics with corresponding resistance genes and resistant bacteria in a conventional municipal wastewater treatment plant. s.l. : Science of The Total Environment, 2012. Vol. 421-422, 1, pp. 173-183.
59. **Luo, Y., Mao, D., Rysz, M., et al.** Trends in Antibiotic Resistance Genes Occurrence in the Haihe River, China. s.l. : Environmental Science and Technology, 2010. Vol. 44, 19, pp. 7220-7225.
60. **Calero-Cáceres, W., Melgarejo, A., Colomer-Lluch, M., et al.** Sludge as a potential important source of antibiotic resistance genes in both the bacterial and bacteriophage fractions. s.l. : Environment science and technology, 2014. Vol. 48, 13, pp. 7602-7611.
61. **Legroux, J.P., Truchot, C.** *Bilan de dix années d'application de la réglementation relative à l'épandage des boues issues du traitement des eaux usées.* s.l. : Ministère de l'alimentation, de l'agriculture et de la pêche, 2010.
62. **Dudkowski, A.** Epandage agricole des boues de stations d'épuration d'eaux usées urbaines. s.l. : Le courrier de l'environnement de l'INRA, 2010.
63. **Tolls, J.** Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review. s.l. : Environmental science and technology, 2001. Vol. 35, 17, pp. 3397-3406.
64. **Jechalke, S., Heuer, H., Siemens, J., et al.** Fate and effects of veterinary antibiotics in soil. s.l. : Trends in microbiology, 2014.
65. **Guo, I., Qiu, H., He, Y., et al.** Occurrence of antibiotics and antibiotic resistance genes in a sewage treatment plant and its effluent-receiving river. s.l. : Chemosphere, 2014.
66. **Kim, S.C., Carlson, K.** Temporal and Spatial Trends in the Occurrence of Human and Veterinary Antibiotics in Aqueous and River Sediment Matrices. s.l. : Environmental science and technology. Vol. 41, 1, pp. 50-57.
67. **Rico, A., Oliveira, R., McDonough, S., et al.** Use, fate and ecological risks of antibiotics applied in tilapia cage farming in Thailand. s.l. : Environmental pollution, 2014. Vol. 191, p. 8_16.
68. **Shi, H., Yang, Y., Liu, M., et al.** Occurrence and distribution of antibiotics in the surface sediments of the Yangtze Estuary and nearby coastal areas. s.l. : Marine Pollution Bulletin, 2014. Vol. 83, 1, pp. 317-323.
69. **Buschmann, A.H., Tomova, A., López, A., et al.** Salmon aquaculture and antimicrobial resistance in the marine environment. s.l. : PLoS One, 2012. 8.
70. **Youenou, B., Brothier, E., Nazaret, S.** Diversity among strains of *Pseudomonas aeruginosa* from manure and soil, evaluated by multiple locus variable number tandem repeat analysis and antibiotic resistance profiles. s.l. : Res.Microbiology, 2014. Vol. 165, 1, pp. 2-13.
71. **Wichmann, F., Udikovic-Kolic, N., Andrew, S., et al.** Diverse antibiotic resistance genes in dairy cow manure. s.l. : MBio., 2014. Vol. 5, 2.
72. **Li, X., Xatanabe, N., Xiao, C., et al.** Antibiotic-resistant *E. coli* in surface water and groundwater in dairy operations in Northern California. s.l. : Environmental Monitoring assessment, 2014. Vol. 186, 2, pp. 1253-1260.
73. **Sapkota, A.R., Curriero, F.C., Gibson, K.E., et al.** Antibiotic-resistant enterococci and fecal indicators in surface water and groundwater impacted by a concentrated Swine feeding operation. s.l. : Environmental Health Perspectives, 2007. Vol. 115, 7, pp. 1040-1045.
74. **Mackies, R.I., Koike, S., Krapac, I., et al.** Tetracycline residues and tetracycline resistance genes in groundwater impacted by swine production facilities. s.l. : Animal Biotechnology, 2006. Vol. 17, 2, pp. 157-176.
75. **Koike, S., Krapac, I.G., Oliver, H., et al.** Monitoring and source tracking of tetracycline resistance genes in lagoons and groundwater adjacent to swine production facilities over a 3-year period. s.l. : Appl Environ Microbiol., 2007. Vol. 73, 15, pp. 4813-4823.

76. **Gallert, C., Fund, K., Winter, J.** Antibiotic resistance of bacteria in raw and biologically treated sewage and in groundwater below leaking sewers. s.l. : Appl Microbiol Biotechnol., 2005. Vol. 69, 1, pp. 106-112.
77. **Akinbowale, O.L, Peng, H., Barton, M.D.** Antimicrobial resistance in bacteria isolated from aquaculture sources in Australia. s.l. : Journal of Applied Microbiology, 2006. Vol. 100, 5, pp. 1103-1113.
78. **Heuer, O., Kruse, H., Grave, K.** Human Health consequences of use of antimicrobial agents in aquaculture. s.l. : Clinical Infectious Diseases, 2009. Vol. 49, 8, pp. 1248-1253.
79. **Agersø, Y., Petersen, A.** The tetracycline resistance determinant Tet 39 and the sulphonamide resistance gene sulII are common among resistant *Acinetobacter* spp. isolated from integrated fish farms in Thailand. s.l. : Chemosphere, 2007. Vol. 59, 1, pp. 23-27.
80. **Su, H.C., Pan, C.G., Ying, G.G., et al.** Contamination profiles of antibiotic resistance genes in the sediments at a catchment scale. s.l. : Sci Total Environ., 2014. Vol. 490, pp. 708-714.
81. **Pei, R., Kim, S.C., Carlson, K.H., et al.** Effect of river landscape on the sediment concentrations of antibiotics and corresponding antibiotic resistance genes (ARG). s.l. : Water Res., 2006. Vol. 40, 12, pp. 2427-2435.
82. **Lu, S.Y., Zhang, Y.L., Geng, S.N., et al.** High diversity of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in an urban river sediment habitat. s.l. : Applied Environmental Microbiology, 2010. Vol. 76, 17, pp. 5972-5876.
83. **Zhang, X.X., Zhang, T., Fang, H.H.** Antibiotic resistance genes in water environment. s.l. : Applied Microbiology Biotechnology, 2009. Vol. 82, 3, pp. 397-414.
84. **Di Cesare, A., Luna, G.M., Vignaroli, C.** Aquaculture can promote the presence and spread of antibiotic-resistant Enterococci in marine sediments. s.l. : PLoS One, 2013. Vol. 8, 4.
85. **Wellington, E., Boxall, A., Cross, P., et al.** The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. s.l. : The Lancet, 2013. Vol. 13, 2, pp. 155-165.
86. **Kang, DH., Gupta, S., Rosen, C., et al.** Antibiotic uptake by vegetable crops from manure-applied soils. s.l. : J Agric Food Chem., 2013. Vol. 61, 42, pp. 9992-10001.
87. **Boxall, AB., Johnson, P., Smith, EJ., et al.** Uptake of veterinary medicines from soils into plants. s.l. : J Agric Food Chem., 2006. Vol. 54, 6, pp. 2288-2297.
88. **Kumar, K., Gupta, SC., Baidoo, SK., et al.** Antibiotic uptake by plants from soil fertilized with animal manure. 2005. Vol. 34, 6, pp. 2082-2085.
89. **Baron, P.A., Love, D.C., Nachman, K.E.** Pharmaceuticals and personal care products in chicken meat and other food animal products: A market-basket pilot study. s.l. : Sci Total Environ., 2014. Vol. 490, pp. 296-300.
90. **Landers, T., Cohen, B., Wittum, T., et al.** A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential. s.l. : Public Health Rep., 2012. Vol. 127, 1, pp. 4-22.
91. **Services, U.S Department of Health and Human.** *Guidance for Industry, studies to evaluate the safety of residues of veterinary drugs in human food : general approach to establish a microbiological ADI.* s.l. : FDA, 2013.
92. **Rutgersson, C., Gunnarsson, L., Kristiansson, E., et al.** Oral exposure to industrial effluent with exceptionnally high levels of drugs does not indicate acute toxic effects in rats. s.l. : Environ Toxicol Chem, 2013. Vol. 32, pp. 577-584.
93. **Mason, M.** <http://www.washingtontimes.com/news/2009/jan/26/worlds-highest-drug-levels-entering-india-stream/?page=all>. [En ligne] The Washington Times, 2009.
94. **Manzetti, S., Ghisi, R.** The environmental release and fate of atibiotics. s.l. : Marine pollution bulletin, 2014. Vol. 79, 1-2, pp. 7-15.

95. **Ashbolt, N., Amezquita, A., Backhaus, T., et al.** Human Health Risk Assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. s.l. : environmental health perspectives, 2013. Vol. 121, pp. 993-1001.
96. **Larsson, J.** Antibiotics in the environment. s.l. : Upsala journal of medical sciences, 2014. Vol. 119, pp. 108-112.
97. **Aubron, C., Poirel, L., Ash, R.J., et al.** Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, U.S. rivers. s.l. : Emerging infectious diseases, 2005. Vol. 11, 2.
98. **Hartmann, A., Locatelli, A., Amoureux, L., et al.** Occurrence of CTX-M producing *Escherichia coli* in soils, cattle, and farm environment in France (Burgundy region). s.l. : Frontiers in microbiology, 2012. Vol. 3, 83.
99. **Perry, J.A., Wright, G.D.** The antibiotic resistance “mobilome”: searching for the link between environment and clinic. s.l. : frontiers in Microbiology, 2013.
100. **Allen, H., Donato, J., Huimi Wang, H. et al.** Call of the wild : antibiotic resistance genes in natural environments. s.l. : Nature Reviews Microbiology, 2010. Vol. 8, pp. 251-259.
101. **Forsberg, K.J., Reyes, A., Wang, B., et al.** The shared antibiotic resistome of soil bacteria and human pathogens. s.l. : Science, 2012. Vol. 337, 6098, pp. 1107-1111.
102. **Flores Ribeiro, A., Bodilid, J., Allonso, L., et al.** Occurrence of multi-antibiotic resistant *Pseudomonas* spp. in drinking water produced from karstic hydrosystems. s.l. : Science of the total environment, 2014. Vol. 490, pp. 370-378.
103. **Guo, X., Li, J., Yang, F., et al.** Prevalence of sulfonamide and tetracycline resistance genes in drinking water treatment plants in the Yangtze river delta, China. s.l. : Science of the total environment, 2014. Vol. 493, pp. 626-631.
104. **Guerra, B., Fischer, J., Helmuth, R.** An emerging public health problem : acquired carbapenemase producing microorganisms are present in food producing animals, their environment, companion animals and wild birds. s.l. : Veterinary microbiology, 2014. Vol. 171, 3-4, pp. 290-297.
105. **Smith, D.L., Dushoff, J., Morris, J.G.** Agricultural antibiotics and human health. s.l. : Plos medicine, 2005.
106. **Wilson, M.E., Chen, L.H.** NDM-1 and the role of travel in its dissemination. s.l. : Current infectious disease reports, 2012.
107. **Pruden, A., Larsson, J., Amezquita, A., et al.** Management options for reducing the release of antibiotics and antibiotic resistance genes to the environment. s.l. : Environmental health perspectives, 2013. Vol. 121, 8.
108. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in municipal wastewater : an uncharted threat?* **Börjesson, S., Matussek, A., Melin, S., et al.** s.l. : J.Appl. Microbiol, 2010, Vol. 108, pp. 1244-1251.
109. <http://www.entreprises.cci-paris-idf.fr/web/environnement/eau/gerer-eau-metier/rejets-eaux-professionnels-sante>. [En ligne] CCI Paris ile de France.
110. **Hamscher, G., Pawelzick, H.T., Sczesny, S., et al.** Antibiotics in dust originating from a pig-fattening farm : a new source of health hazard for farmers? s.l. : Environmental Health perspectives, 2003. Vol. 111, 13, pp. 1590-1594.
111. **Jakobsen, L., Sandvang, D., Hansen, L.H., et al.** Characterisation, dissemination and persistence of gentamicin resistant *Escherichia coli* from a Danish university hospital to the waste water environment. s.l. : Environmental international, 2008. Vol. 34, 1, pp. 108-115.

Annexes

Annexe 1 : Consommation des antibiotiques en France, en ville et à l'hôpital, entre 2000 et 2012

Annexe 2 : Fonctionnement des intégrons

Annexe 3 : Généralités sur les stations d'épuration en France

Annexe 4 : Caractéristiques physico-chimique des antibiotiques

Annexe 5 : Occurrence des antibiotiques dans certains milieux d'exposition, rapportée dans la littérature

Annexe 1 : Consommation des antibiotiques en France, en ville et à l'hôpital, entre 2000
et 2012

L'évolution de la consommation des principales classes d'antibiotiques en ville et à l'hôpital, en Dose Définie Journalière/1 000 habitants/jour, est présentée dans les tableaux ci-après. Ces données sont extraites du rapport « Evolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2012 », élaboré par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) en date de juin 2013.

Classe ATC	2000	2002	2004	2006	2008	2010	2011	% variation globale
JOIA – Tétracyclines	3,3	3,4	3,5	3,3	3,4	3,2	3,1	-6,8%
JOIC – Bêta-lactamines, Pénicillines	16,3	16,3	12,8	14,6	14,7	15,6	16,5	1,5%
dont JOICA – Pénicillines à large spectre	10,9	9,1	7,0	8,0	8,2	8,5	9,2	-15,7%
dont JOICR – Association de pénicillines	4,7	6,4	5,2	6,1	6,0	6,6	6,9	47,9%
JOID – Autres bêta-lactamines	4,6	3,7	3,1	2,8	2,5	2,7	2,6	-44,3%
dont JOIDB – Céphalosporines de 1 ^{re} génération	1,3	0,6	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	-95,3%
dont JOIDC – Céphalosporines de 2 ^{me} génération	1,7	1,4	1,3	1,0	0,8	0,8	0,6	-64,8%
dont JOIDD – Céphalosporines de 3 ^{me} génération	1,6	1,7	1,5	1,6	1,7	1,8	1,9	18,7%
JOIE – Sulfamides et triméthoprim	0,6	0,5	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	-32,5%
JOIF – Macrolides	6,0	5,2	4,3	3,9	4,1	3,8	3,8	-36,4%
JOIG – Aminosides	0,1	0,0	0,1	0,1	0,1	0,0	0,0	-37,6%
JOIM – Quinolones	2,1	2,1	2,1	2,2	2,1	2,0	1,8	-16,5%
JOIR+JOIX – Associations et autres antibactériens	0,5	0,8	0,9	0,6	0,5	0,6	0,5	10,5%
Total (nombre DDJ/1000H/J)	33,4	32,0	27,1	27,9	28,0	28,2	28,7	-14,1%

Evolution de la consommation des principales classes d'antibiotiques en ville (classification ATC) en Dose Définie Journalière²⁰/1000 habitants/jour des principales classes d'antibiotiques

²⁰ Dose Définie D'exposition (DDJ) : Établie sous l'égide du « Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology » de l'OMS, la DDJ constitue une posologie de référence pour un adulte de soixante-dix kilos dans l'indication principale de chaque molécule.

Classe ATC	2000	2002	2004	2006	2008	2010	2011	% variation globale
JOIC – Bêta-lactamines, Pénicillines	1,50	1,48	1,30	1,18	1,24	1,23	1,19	-20,9%
dont JOIC1 – Pénicillines à large spectre	0,58	0,54	0,46	0,43	0,43	0,42	0,39	-32,2%
dont JOICR – Association de pénicillines	0,84	0,85	0,77	0,70	0,74	0,74	0,73	-13,5%
dont JOICR02 – Amoxicilline et inhibiteur d'enzyme	0,82	0,82	0,75	0,68	0,72	0,71	0,70	-15,2%
dont JOICR05 – Pipéracilline et inhibiteur d'enzyme	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,03	34,7%
JOID – Autres bêta-lactamines	0,39	0,28	0,23	0,25	0,23	0,30	0,27	-29,4%
dont JOIDB – Céphalosporines de 1 ^{ère} génération	0,16	0,08	0,04	0,05	0,05	0,06	0,04	-71,5%
dont JOIDC – Céphalosporines de 2 ^{ème} génération	0,09	0,06	0,03	0,02	0,02	0,02	0,03	-64,9%
dont JOIDD – Céphalosporines de 3 ^{ème} génération	0,12	0,13	0,13	0,15	0,13	0,18	0,16	39,8%
dont JOIDH – Carbapénems	0,0135	0,02	0,02	0,02	0,02	0,0270	0,0296	119,4%
JOIE – Sulfamides et triméthoprim	0,06	0,04	0,04	0,05	0,04	0,04	0,04	-26,6%
JOIF – Macrolides	0,18	0,18	0,15	0,13	0,13	0,11	0,13	-30,9%
JOIG – Aminosides	0,13	0,11	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	-56,0%
JOIM – Quinolones	0,33	0,34	0,34	0,35	0,31	0,31	0,25	-23,2%
JOIR+JOIX – Associations et autres antibactériens	0,12	0,12	0,14	0,13	0,13	0,14	0,14	20,5%
Autres classes	0,07	0,13	0,11	0,07	0,03	0,01	0,04	-36,7%
Total (nombre DDJ/1000H/J)	2,8	2,7	2,4	2,2	2,2	2,2	2,1	-23,4%

Evolution de la consommation des principales classes d'antibiotiques à l'hôpital (classification ATC) en Dose Définie Journalière/1000 habitants/jour

Au regard de ces données, il apparaît que les bêta-lactamines (JOIC+JOID) sont les antibiotiques les plus utilisés en ville et à l'hôpital.

En ville, elles représentent deux tiers de la consommation. Les macrolides constituent la seconde grande classe la plus consommée. Parmi les autres classes fréquemment prescrites figurent les tétracyclines et les quinolones.

La comparaison de la consommation dans ces différentes classes montre que la part des associations de pénicillines (notamment avec l'acide clavulanique) a fortement progressé (+47,9%). Celle des céphalosporines de 3^{ème} génération a également augmenté dans une proportion importante (+39,8%).

A l'hôpital, en 2011, après les bêta-lactamines, les quinolones constituent la seconde classe la plus consommée, suivie par les macrolides et les autres antibactériens.

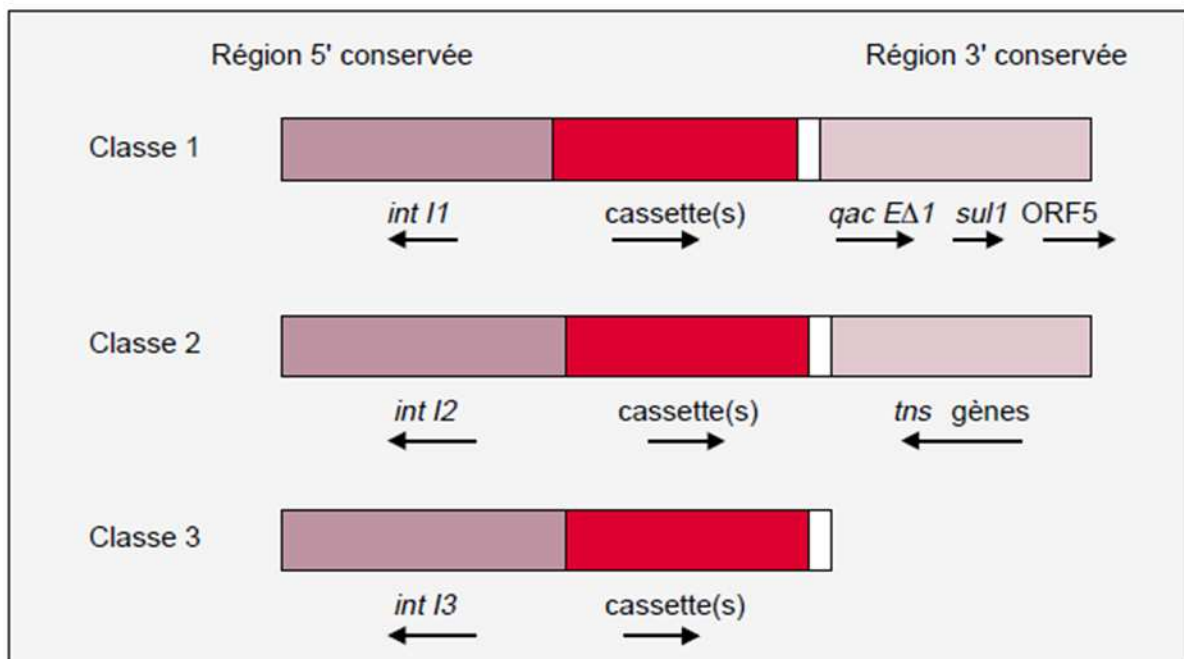
Sur l'ensemble de la période 2000 à 2011, la consommation a diminué dans toutes les classes, à l'exception de trois : les carbapénèmes (+ 119,4%), les céphalosporines de 3^{ème} génération (+ 39,8%) et, enfin les « autres antibactériens » (mais dont la progression demeure faible (+ 20,5%). Parmi les huit céphalosporines de 3^{ème} génération disponibles, la ceftriaxone était largement prédominante et représentait en 2011 plus de la moitié de la consommation totale. Il faut également relever que la consommation de quinolones a baissé, notamment en 2011.

Annexe 2 : Fonctionnement des intégrons

Les intégrons sont des éléments génétiques susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques. Ils peuvent héberger des gènes de résistance insérés sous forme d'éléments mobiles, les cassettes. Celles-ci sont intégrées ou excisées par un système de recombinaison spécifique de site qui fait intervenir une intégrase. Ce système leur permet de promouvoir efficacement la dissémination des gènes de résistance au sein du monde bactérien. On les trouve principalement dans les bactéries à gram négatif (entérobactéries, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Campyobacter*), et parfois dans les bactéries à gram positif.

Le mécanisme des intégrons est le suivant. Sous une pression de sélection (par exemple des antibiotiques), une réponse SOS va permettre l'activation de l'expression du gène *intI*, codant pour une intégrase IntI, qui augmente le taux de recombinaison des cassettes de gènes.

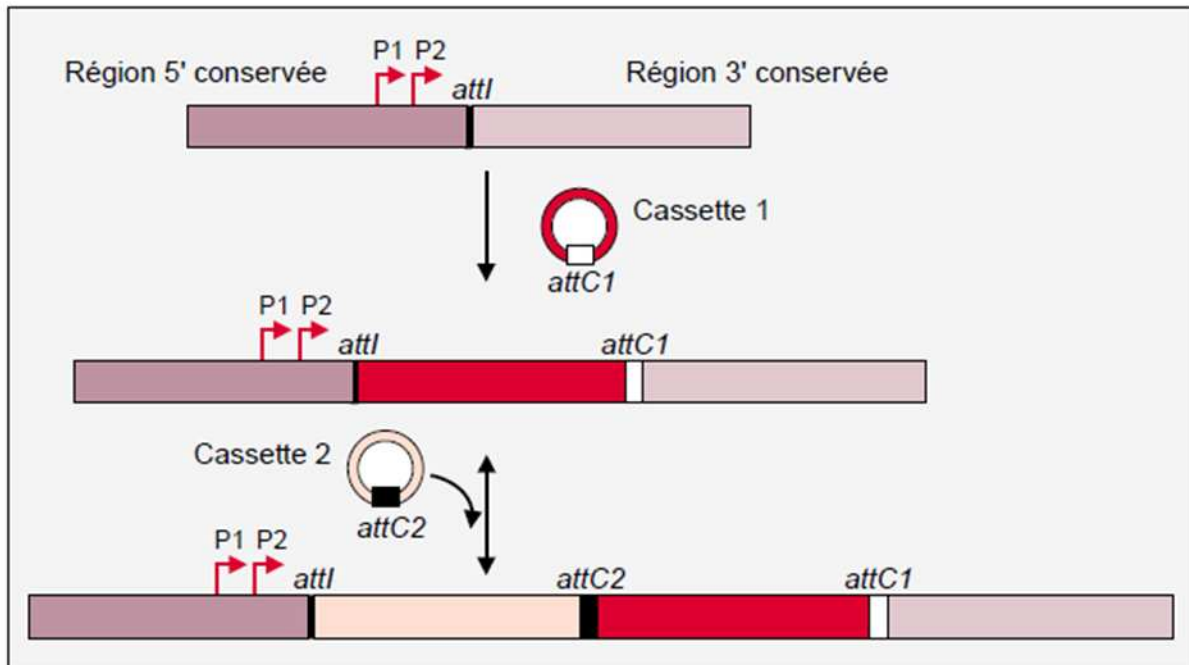
Plusieurs classes d'intégrons ont été définies en fonction de leur intégrase et trois d'entre elles (classes 1, 2, et 3), sont impliquées à ce jour dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques, et sont présentées sur la figure ci-après.



Les trois classes d'intégrons impliquées dans la résistance aux antibiotiques. Les flèches indiquent le sens de la transcription. Le rectangle en aval de la cassette représente le site de recombinaison attC. La région 5' conservée contient le gène *int* codant pour une intégrase. La région 3' conservée est différente selon les intégrons. Les intégrons de classe 1 contiennent 3 cadres de lecture ouverts: *qacEΔ1*, *sul1* et *ORF5*. Les intégrons de classe 2 contiennent les gènes *tns* codant pour des fonctions de transposition. La région 3' des intégrons de classe 3 n'a pas été décrite.

La région 3' de ces trois classes d'intégrons est très différente. La région 3' des intégrons de la classe 1 (le mieux connu) contient trois cadres de lecture ouverts. Le premier, *qacEΔ1* code pour une protéine de résistance aux ammoniums quaternaires. Le second gène *sul1* code pour une protéine de résistance aux sulfamides et le troisième, désigné *ORF5*, ne code pour aucune protéine de fonction connue.

Ainsi, ces intégrons peuvent intégrer des cassettes de gènes, porteuses de résistance. Ce mécanisme est présenté sur la figure ci-après.



Intégration des cassettes dans un intégron. L'intégration des cassettes 1 puis 2 se fait préférentiellement au niveau du site de recombinaison attI situé dans la région 5' conservée de l'intégron. Différentes cassettes peuvent être intégrées, chacune possédant un site attC unique. L'expression des cassettes se fait à partir d'un promoteur commun P1-P2 situé également dans la région 5' conservée de l'intégron. L'excision de la cassette 1 se fait sous forme circulaire et a lieu par recombinaison entre le site attC1 et le site attC2.

Les cassettes sont toutes orientées dans la même direction et sont généralement dépourvues de promoteur. Les gènes sont co-transcrits comme au sein d'un opéron sous la dépendance d'une région promotrice localisée dans la région 5' conservée de l'intégron. L'expression des cassettes est tributaire de la position par rapport au promoteur, les gènes localisés dans des cassettes éloignées étant faiblement exprimés. La pression de sélection antibiotique peut favoriser des réarrangements de cassettes afin de permettre le positionnement d'une cassette faiblement exprimée à une localisation plus proche du promoteur.

Ainsi, les intégrons constituent un système de capture et d'expression de gènes jouant un rôle important dans l'acquisition et la dissémination des gènes de résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Le mouvement des cassettes permet une mosaïque de combinaisons.

Annexe 3 : Généralités sur les stations d'épuration en France

La plupart des Français sont rattachés à un système d'assainissement collectif. Au-delà de plus de 2 000 équivalents habitant, la majorité des stations d'épuration effectuent un traitement secondaire, soit près de 93,5% de la population française rattachée à un système d'assainissement collectif en 2008.

La répartition et le type de traitement réalisé par les stations d'épuration sont présentés dans les tableaux ci-après.

Station en équivalent habitant (EH)	Ouverture d'une station	Répartition du nombre de station sur le territoire	Population totale traitée	Type de population	Type de traitement utilisé
< 200 EH		23,3%	0,3%	Rural	
≥ 200EH et < 2 000EH	Préfet délivre un précipice de déclaration. Ce précipice peut imposer un traitement	55,6%	6,1%	Rural	60% possèdent au moins un niveau de traitement secondaire
≥ 2 000EH et <10 000 EH	complémentaire	14,6%	12,4%	urbaine	98% ont au moins un niveau de traitement secondaire
≥ 10 000EH	Il faut demander une procédure d'autorisation. Une enquête publique est ouverte	6,6%	81,1%	urbaine	- 98% ont au moins un niveau de traitement secondaire - 83% possède un traitement rigoureux

Répartition et type de traitement des stations d'épurations en France (2008)

Annexe 4 : Caractéristiques physico-chimique des antibiotiques

Les caractéristiques physico-chimiques des antibiotiques permettent d'obtenir des informations sur leur comportement potentiel dans l'environnement.

Ainsi, les caractéristiques physico-chimiques des principales classes d'antibiotiques sont présentées dans le tableau ci-après.

Famille d'antibiotiques	Masses moléculaires	pKa ₂₁	Constante de Henry (Pa.L/mol) ²²	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Log Kow ²³	Kd (L/kg) ²⁴	Koc (L/Kg) ²⁵
Aminosides	332,4 à 615,6	6,9 à 8,5	$8,5 \cdot 10^{-12}$ à $4,1 \cdot 10^{-8}$	10 000 à 50 000	- 8,1 à - 0,8		
B-lactames	334,4 à 615,6	2,7	$2,5 \cdot 10^{-19}$ à $1,2 \cdot 10^{-12}$	22 à 10 100	0,9 à 2,9		
Fluoroquinolones	229,5 à 417,6	6 et 8,6	$5,2 \cdot 10^{-17}$ à $3,2 \cdot 10^{-8}$	3,2 à 17 790	-1 à 1,6	260 à 3 037	1 100 à 768 740
Glycopeptides	1450,7	5	Négligeable	> 1 000	Non soluble dans octanol		
Imidazoles	171,5 à 315,3	2,4	$2,3 \cdot 10^{-13}$ à $2,7 \cdot 10^{-10}$	6,3 à 407	-0,02 à 3,9	0,57 à 0,91	35 à 57
Macrolides	687,9 à 916,1	7,7 à 8,9	$7,8 \cdot 10^{-23}$ à $4,8 \cdot 10^{-22}$	0,45 à 15	1,6 à 3,1	8,3 à 128	110 à 7 990

²¹ pKa (constante de dissociation) représente le degré d'ionisation de la molécule à un pH connu

²² Constante de Henry (Hc) : rapport de la concentration d'une molécule dans la phase gazeuse sur la concentration en phase aqueuse. Les composés à faible Hc ont tendance à rester en phase aqueuse.

²³ Log Kow (coefficient de partage octanol/eau) : rapport entre la concentration à l'équilibre d'une substance chimique dans l'octanol et la concentration de la même substance dans l'eau. Il représente l'hydrophobicité de la molécule. Pour log Kow <2,5, le potentiel de sorption est faible, pour 2,5 < log Kow < 4,0, le potentiel est modéré, pour log de Kow > 4,0, le potentiel de sorption est élevé.

²⁴ Kd (coefficient de partage carbone-organique-eau) : rapport entre la concentration en élément adsorbé et la concentration à l'état dissous à l'équilibre. Plus la valeur est élevée, plus la sorption est importante.

²⁵ Koc (coefficient de partage carbone organique-eau) : rapport entre la quantité adsorbée d'un composé par unité de poids de carbone organique du sol ou du sédiment et la concentration en ce même composé en solution aqueuse à l'équilibre. La tendance d'un composé à s'adsorber sur un sol dépend de ses propriétés physico-chimiques et de la teneur en carbone organique du sol ou du sédiment. Koc permet de déterminer la mobilité d'un composé dans les sols : plus Koc est grand, plus le composé est immobile.

Famille d'antibiotiques	Masses moléculaires	pKa ²¹	Constante de Henry (Pa.L/mol) ²²	Solubilité dans l'eau (mg/L)	Log Kow ²³	Kd (L/kg) ²⁴	Koc (L/Kg) ²⁵
Polypeptides	499,6 à 1038	-	Négligeable à $2,8.10^{-23}$	Non soluble à complètement soluble	-1 à 3,2		5 300 à 30 000
Sulfamides	172,2 à 300,3	2 à 3 et 4,5 à 10,6	$1,3.10^{-12}$ à $1,8.10^{-8}$	7,5 à 1 500	-0,1 à 1,7	0,6 à 7,4	18 à 323
Tétracyclines	444,5 à 527,6	3,3/ 7,7/ 9,3	$1,7.10^{-36}$ à $2,0.10^{-26}$	230 à 52 000	-1,3 à 0,05	77,6 à 3 020	195 à 93 320

Sur la base de ces éléments, il apparaît que l'ensemble des antibiotiques possèdent une faible constante de Henry ($H_c < 0,1$ Pa.L/mol). En tout état de cause, ces molécules sont très peu volatilisables (absence de transfert vers l'atmosphère).

Au regard de la solubilité, l'ensemble des composés est soluble à fortement soluble dans l'eau. Ils sont donc présents dans l'hydrosphère. A noter, au sein de chaque famille, la présence de solubilités hétérogènes entre les composés. Les macrolides apparaissent comme étant la famille la moins hydrosoluble, et les aminoglycosides comme étant la famille la plus soluble.

Les coefficients de log Kow sont tous inférieurs à 3,9. Par conséquent, les antibiotiques sont hydrophobes et leur potentiel de sorption paraît faible. Par conséquent, ce n'est pas le caractère hydrophobe de ces molécules qui explique la sorption élevée observée pour les tétracyclines et les fluoroquinolones. Néanmoins, les Kd pour ces deux familles sont relativement élevés, indiquant une sorption importante (290 à 1 620 L/kg pour les tétracyclines et 310 à 6 310 L/kg pour les fluoroquinolones), par comparaison avec les sulfamides (de 0,6 à 4,9 L/kg).

En outre, d'autres mécanismes gouvernent la sorption des antibiotiques. Les pH environnementaux sont compris entre 5 à 9. Sur la base des pKa relevés pour les tétracyclines et les fluoroquinolones, ces molécules se trouveront sous forme ionique, pouvant de ce fait réagir avec les éléments du sol.

En revanche, les β -lactames et les imidazoles ayant des pKa acides (respectivement de 2,6 et 2,4), ces composés sont principalement présents sous forme anionique aux pH de l'environnement, et ne peuvent former de liaisons ioniques avec la matière organique typiquement chargée négativement, ce qui peut expliquer en partie leurs faibles coefficients de sorption.

Pour un même antibiotique, les Kd et Koc varient en fonction des caractéristiques de la matrice solide en question.

Annexe 5 : Occurrence des antibiotiques dans certains milieux d'exposition, rapportée dans la littérature

	Comportement général	Boues des STEP	Eaux de rivière	Eaux souterraines	Eaux potables	Poissons	Sols	Végétaux	Exemple des composés mesurés
Chloramphénicol	Non persistant et non mobile	-	✓	×	-	-	-	-	-
2,4-diaminopyridines	Persistant et immobile	✓	✓	×	×	-	✓	✓	Triméthoprim
Fluoroquinolones	Persistant et immobile	✓	✓	×	×	-	✓	-	Ciprofloxacine, norfloxacine, ofloxacine
B-lactames	Non persistant et mobile	-	×	×	×	-	-	-	Amoxicilline, cloxacilline, dicloxacilline, méticilline, oxacilline, pénicilline G, pénicilline V
Macrolides	Légèrement persistant et légèrement mobile	✓	✓	×	-	-	-	-	Azithromycine, clarithromycine, lincomycine, roxithromycine, spiramycine, tylosine
Sulfamides	Persistant et mobile	✓	✓	✓	×	-	✓	✓	Sulfaméthaxole, sulfadiazine, sulfamérazine, sulfaméthazine, sulfapyridine
Tétracyclines	Persistant et immobile	-	✓	×	×	✓	✓	✓	Chlortétracycline, doxycycline, oxytétracycline, tétracycline

Persistence : temps pendant lequel le composé pourra rester dans l'environnement naturel

Mobilité : capacité de la substance à être mobile entre les compartiments sols et eaux

✓: détecté

× : non détecté

-: non mesuré

Nom - Prénoms SAUSSEREAU Amélie

Titre de la thèse : Rejet des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement : risques sanitaires ?

Résumé de la thèse :

L'utilisation d'antibiotiques a permis de faire considérablement reculer la mortalité associée aux maladies infectieuses au cours du XX^{ème} siècle. Néanmoins, leur emploi massif et répété a conduit à l'apparition de bactéries résistantes. Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues préoccupantes car susceptibles de générer à long terme des impasses thérapeutiques. Depuis plusieurs années, des questions se posent quant au devenir des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement. Aussi, une des questions soulevées est la suivante : le rejet de ces éléments dans l'environnement est-il susceptible de générer des risques sanitaires pour l'homme ? Cette thèse a eu pour objectif de faire un état des lieux sur cette problématique. Pour ce faire, elle se divise en trois grands chapitres. Le premier chapitre traite de l'utilisation des antibiotiques, de l'émergence des résistances et des émissions dans l'environnement. Le second chapitre présente le devenir des antibiotiques et des bactéries résistantes dans l'environnement, ainsi que les conséquences pour la santé humaine. Dans un troisième temps, une discussion a été élaborée à partir des résultats obtenus. Des axes d'amélioration et de recherche ont été proposés.

MOTS CLÉS : *ANTIBIOTIQUES, BACTÉRIES RÉSISTANTES, ENVIRONNEMENT, SANTÉ HUMAINE*

JURY

PRÉSIDENT : Mr Jean-Michel ROBERT, Professeur de Chimie Thérapeutique,
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS : Mme Françoise BALLEREAU, Professeur de Santé Publique,
Faculté de Pharmacie de Nantes

Mlle Delphine SEHEDIC, Pharmacien

Adresse de l'auteur : 20, rue des noelles, 44 690 la Haye Fouassière