

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivrée par UNIVERSITE MONTPELLIER

Préparée au sein de l'école doctorale GAIA

Et de l'unité de recherche

« Pathogènes Hydriques Santé Environnements »

Laboratoire HydroSciences Montpellier, UMR 5569

Spécialité : Ecologie de la Santé

Présentée par Ayad Qasim Mahdi ALMAKKI

*Antimicrobial resistance in an urban river continuum flowing
near hospital settings*

*Résistance aux antibiotiques dans des eaux urbaines péri-
hospitalières considérées dans un continuum hydrologique*

Soutenue le 03 Mai 2017 devant le jury composé de

Pr Marie-George TOURNOUD, Université Montpellier	Président
Dr Dominique HERVIO-HEATH, Ifremer, Plouzané	Rapporteur
Dr Didier BLAHA, Université Lyon 1	Rapporteur
Pr Estelle JUMAS-BILAK, Université Montpellier	Directeur de thèse
Dr Patricia LICZNAR-FAJARDO, Université Montpellier	Co-encadrant de thèse



RESUME-ABSTRACT

Abstract

Aquatic ecosystems subjected to anthropic pressures are places of rapid evolution of microbial communities. They are likely hotspots for emergence of infectious disease agents resistant to antibiotics. The city of Montpellier is located in a small watershed that undergoes brutal rainfall episodes and strong demographic pressures. A hospital is located in a runoff area including two small urban rivers originating from karstic groundwater few kilometers upstream. The aim of the study is to explore bacterial communities in urban rivers flowing near hospital settings in order to evaluate the influence of runoffs on antibiotics resistance in the bacterial communities. Bacterial communities are also described in upstream karstic aquifers.

An introductory section presents the methods available for studying antimicrobial resistance in environment and then reviews comprehensively bibliography on antibiotics resistance in urban runoffs. This part supports the experimental strategies. The method developed herein, called community Inhibitory Concentration (c-IC) determination is combined to taxonomic richness description to provide a tool that gives a rapid snapshot of resistant bacterial communities in aquatic environments. A strategy derived from c-IC approach allows the exploration of bacterial resistance in the urban hydrologic system near the hospital and in karstic aquifers. The collected microbiological data has been completed by hydrological, hydrogeological, climatic and physico-chemical data.

The impact of very low concentration of antibiotics on the bacterial community structure in various water bodies was demonstrated and appeared as an indicator of the vulnerability of ecosystems to antimicrobial pressures. The taxonomic repertory of the urban river communities was described and its dynamics was compared to environmental conditions. Hospital vicinity significantly increase the prevalence of resistant bacteria compared to a similar urban area remote from hospital. Diverse clinically relevant cephalosporins and carbapenems resistant bacteria have been isolated. Surprisingly, a NDM-producing *Escherichia coli*, which is a highly resistant and emerging pathogen was reported for the first time in a French River. The clone was detected in two independent sampling showing its persistence. The *bla*_{NDM-5} gene and its surrounding sequences were described on a transferable IncX3 plasmid, indicating possible genetic transfer to other bacteria. The antimicrobial resistance in karst groundwater varied in time and space and was hardly compared with that described in related rivers.

In urban settings, water quality and infectious risk is generally assessed on sewers and wastewater treatment plants effluents. This study shows that runoff waters in urbanized area contribute to the emergence and dissemination of antimicrobial resistance. Considering the worrisome epidemiology of infectious diseases, it urges to decipher all environmental reservoirs for resistant bacteria in order to complete knowledges about the epidemiological cycle of antimicrobial resistance and try to break or slow down it.

Keywords: Resistant bacterial communities, Resistant bacterial pathogens, Urban river and runoff, Hospital, Karstic groundwater, Carbapenemase-producing enterobacteria

Résumé

Les écosystèmes aquatiques soumis à des pressions anthropiques sont des lieux d'évolution rapide des communautés microbiennes. Cet environnement participe certainement à l'émergence d'agents infectieux résistants aux antibiotiques. La ville de Montpellier est située dans un petit bassin versant qui subit d'une part des épisodes de pluies brutales et d'autre part de fortes pressions démographiques. Le principal hôpital est situé dans une zone de ruissellement comprenant deux petites rivières urbaines provenant d'eaux souterraines karstiques à quelques kilomètres en amont.

L'objectif de cette étude est d'explorer les communautés bactériennes dans les rivières urbaines qui coulent près du centre hospitalier afin d'évaluer l'influence des ruissellements sur la résistance aux antibiotiques dans les communautés bactériennes. Les communautés bactériennes sont également décrites dans les aquifères karstiques en amont.

Une section introductive présente les méthodes disponibles pour l'étude de la résistance aux antimicrobiens dans l'environnement et une revue de la littérature expose les données actuelles sur la résistance aux antibiotiques dans l'eau de ruissellement urbain. Cette partie justifie les stratégies expérimentales. La méthode développée ici, appelée détermination de la concentration inhibitrice à l'échelle de la communauté bactérienne (*c-IC*, pour *community inhibitory concentration*), est combinée à une description de la richesse taxonomique pour donner une description instantanée des communautés bactériennes résistantes dans les environnements aquatiques. Une stratégie dérivée de l'approche *c-IC* permet d'explorer la résistance bactérienne dans le système hydrologique urbain près de l'hôpital et dans les aquifères karstiques. Les données microbiologiques recueillies sont complétées par des données hydrologiques, hydrogéologiques, climatiques et physico-chimiques.

L'impact de très faibles concentrations d'antibiotiques sur la structure de la communauté bactérienne dans divers environnements hydriques a été démontré et apparaît comme un indicateur de la vulnérabilité des écosystèmes face aux pressions antimicrobiennes. Le répertoire taxonomique des communautés fluviales urbaines a été décrit et sa dynamique a été confrontée aux conditions environnementales. Le voisinage des hôpitaux augmente significativement la prévalence des bactéries résistantes par rapport à une zone urbaine similaire éloignée de l'hôpital. Des bactéries d'intérêt médical résistantes aux céphalosporines et aux carbapénèmes ont été isolées. De façon surprenante, un *Escherichia coli* producteur de NDM-5, pathogène émergent hautement résistant, a été signalé pour la première fois dans une rivière française. Le clone a été détecté dans deux échantillons indépendants montrant sa persistance. Le gène *bla_{NDM-5}* et son environnement génétique ont été décrits sur un plasmide *IncX3* transférable, indiquant un transfert génétique horizontal possible. La résistance aux antimicrobiens dans l'eau souterraine karstique a varié dans le temps et dans l'espace et est difficilement comparable à celle décrite dans les rivières associées.

En milieu urbain, la qualité de l'eau et le risque infectieux sont généralement évalués sur les eaux usées et les effluents des stations d'épuration. Cette étude montre que les eaux de ruissellement dans des zones urbanisées contribuent à l'émergence et à la dissémination de la résistance aux antimicrobiens. Compte tenu de l'épidémiologie inquiétante des maladies infectieuses, cette étude invite à explorer les potentiels réservoirs environnementaux de bactéries résistantes afin de compléter les connaissances sur le cycle épidémiologique de la résistance aux antimicrobiens et essayer de l'interrompre ou de le ralentir.

Mots clés : Communautés de bactéries résistantes, Pathogènes bactériens résistants, Rivières et ruissellements urbains, Hôpital, Eaux souterraines karstiques, entérobactéries productrices de carbapénémase