



INSTITUT NATIONAL
DES SCIENCES
APPLIQUÉES
TOULOUSE



Filière de traitement des boues et dissémination de l'antibiorésistance

A. EZZARIAI^{1,4}, L. SAUVADET¹, J. GNANESWARAN², S. SIRE², N. ARPAILLANGE³, M. BARRET², O. BERSEILLE², D. BIBBAL³, A. BOUSQUET-MELOU³, V. BRU-ADAN¹, V. DUPOUY³, L. EL FEL⁴, M. GUIRESSE², M. HAFIDI⁴, J. JIMENEZ¹, M. LACROIX³, D. RIBOUL², A. PERRAULT², E. PINELLI², N. WERY¹, D. PATUREAU¹

¹ LBE - INRAE Narbonne, avenue de l'étang, 11100 Narbonne, France.

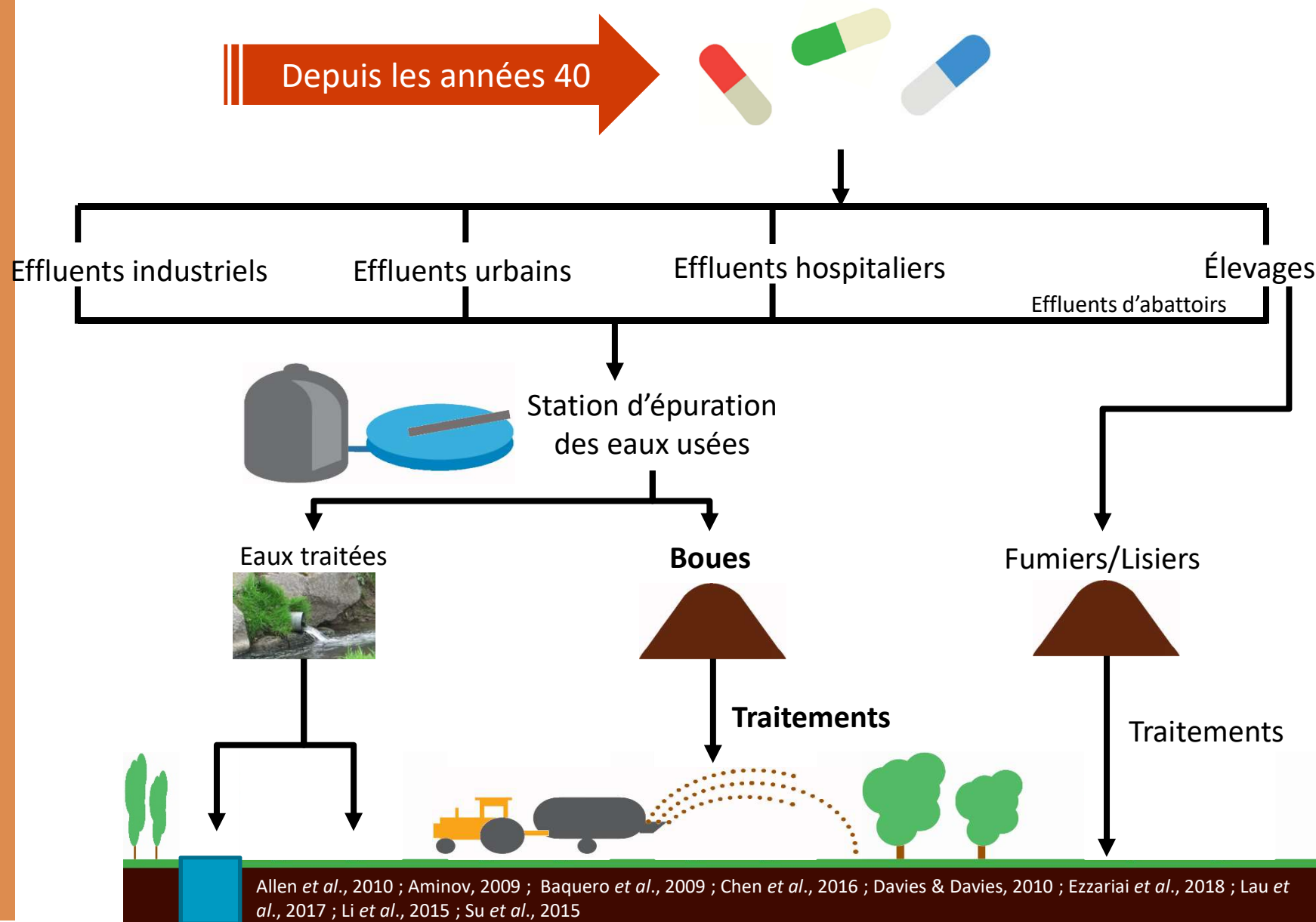
² Laboratoire Ecologie Fonctionnelle et Environnement UMR5245 – Université de Toulouse, CNRS – Avenue de l'Agrobiopole – BP32607 – 31326 Castanet-Tolosan cedex, France.

³ InTheRes UMR 1436 INRAE/ENV – 23 chemin des Capelles – BP 87614 – 31076 Toulouse cedex 03, France

⁴ LEE Laboratoire Ecologie et Environnement – Université Cadi Ayyad – Marrakech, Maroc

en partenariat avec





Depuis les années 40



Effluents industriels

Projet MadSludge « Limiter la dissémination de l'antibiorésistance : rôle des filières de traitement et de l'épandage »

Programme national de recherche santé-environnement-travail



Projet n° 2017-3 ABR-08

Élevages
boirs

Eaux traitées



Boues

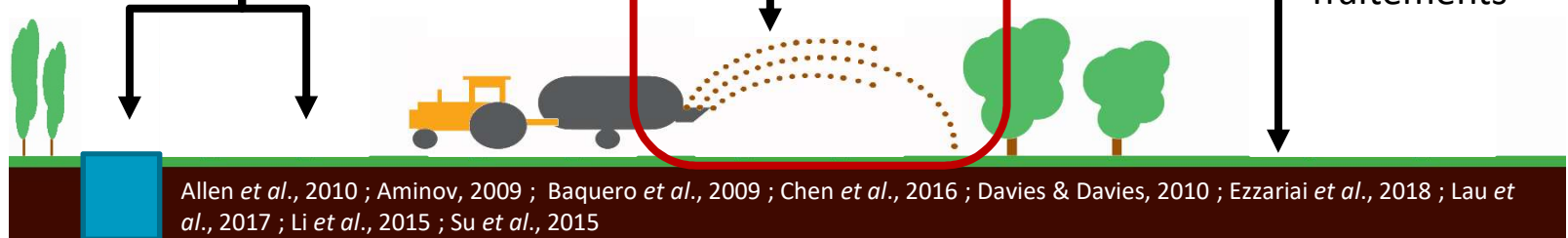


Fumiers/Lisiers



Traitements

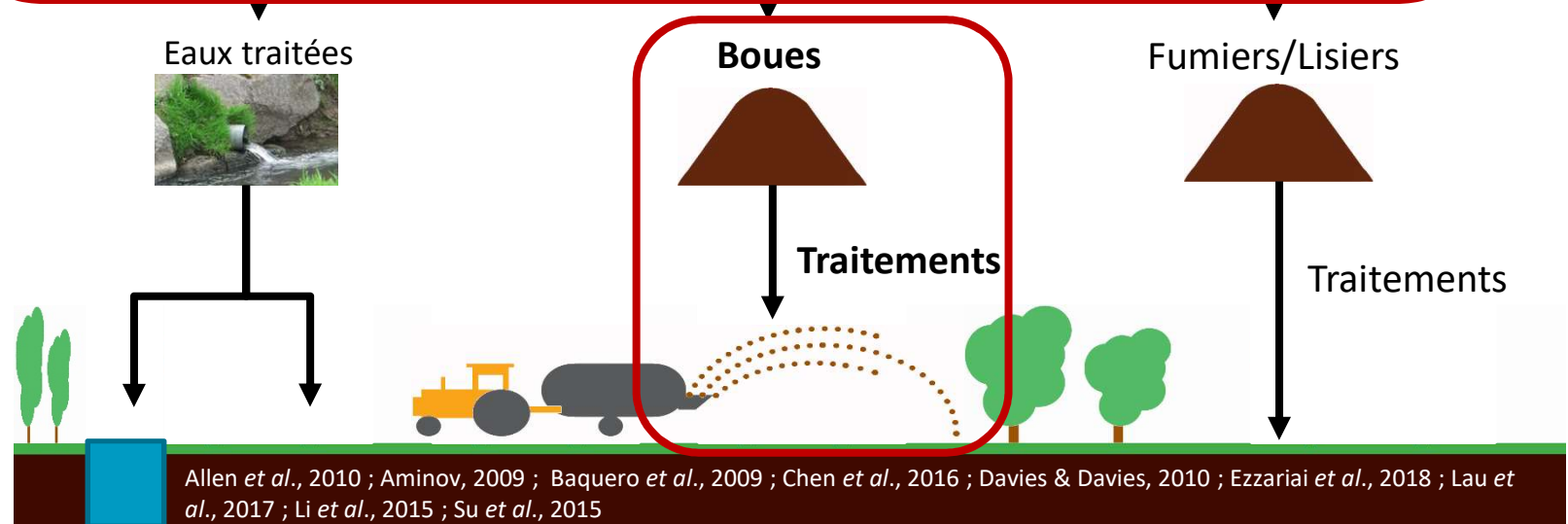
Traitements

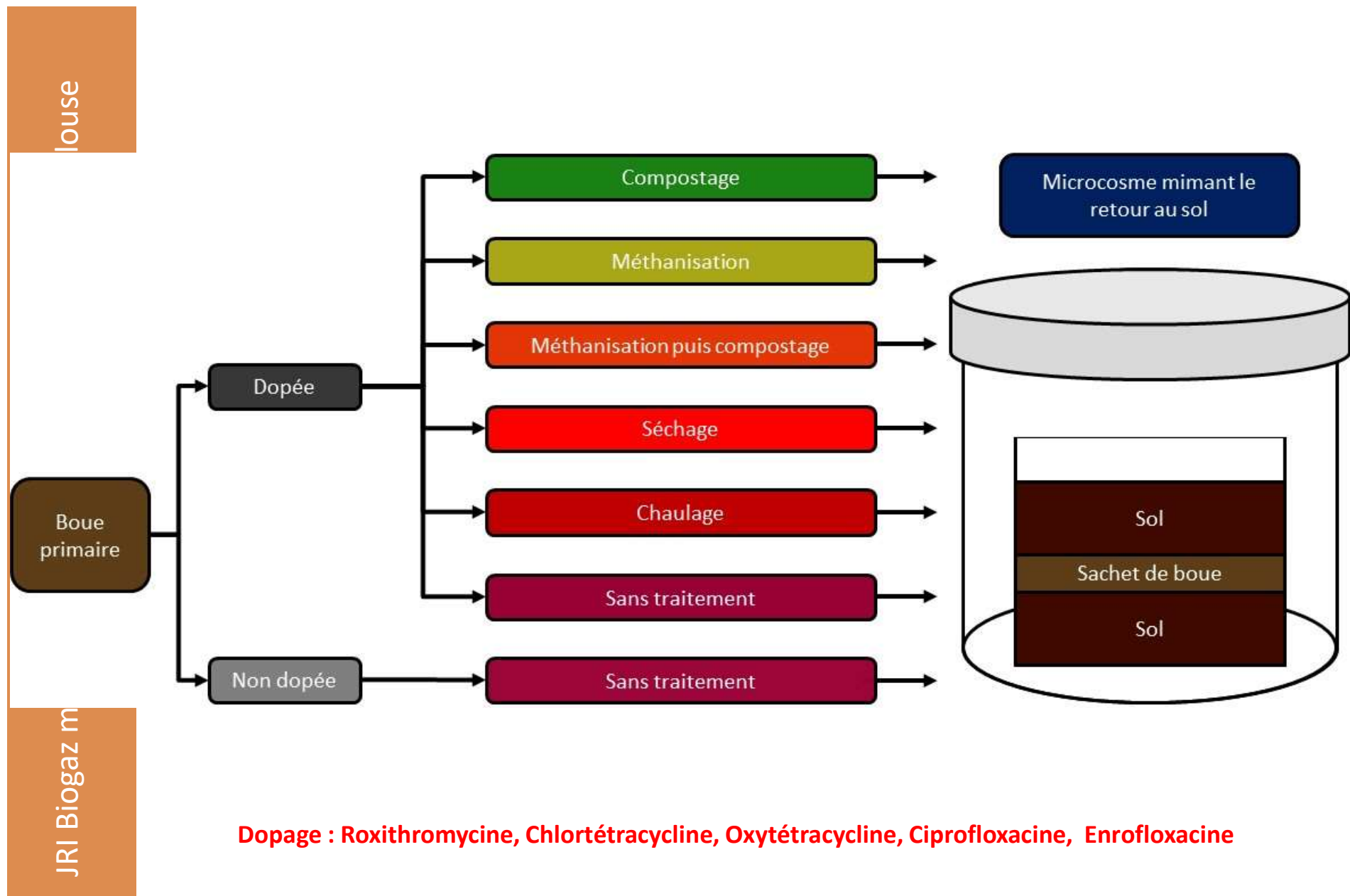


Depuis les années 40



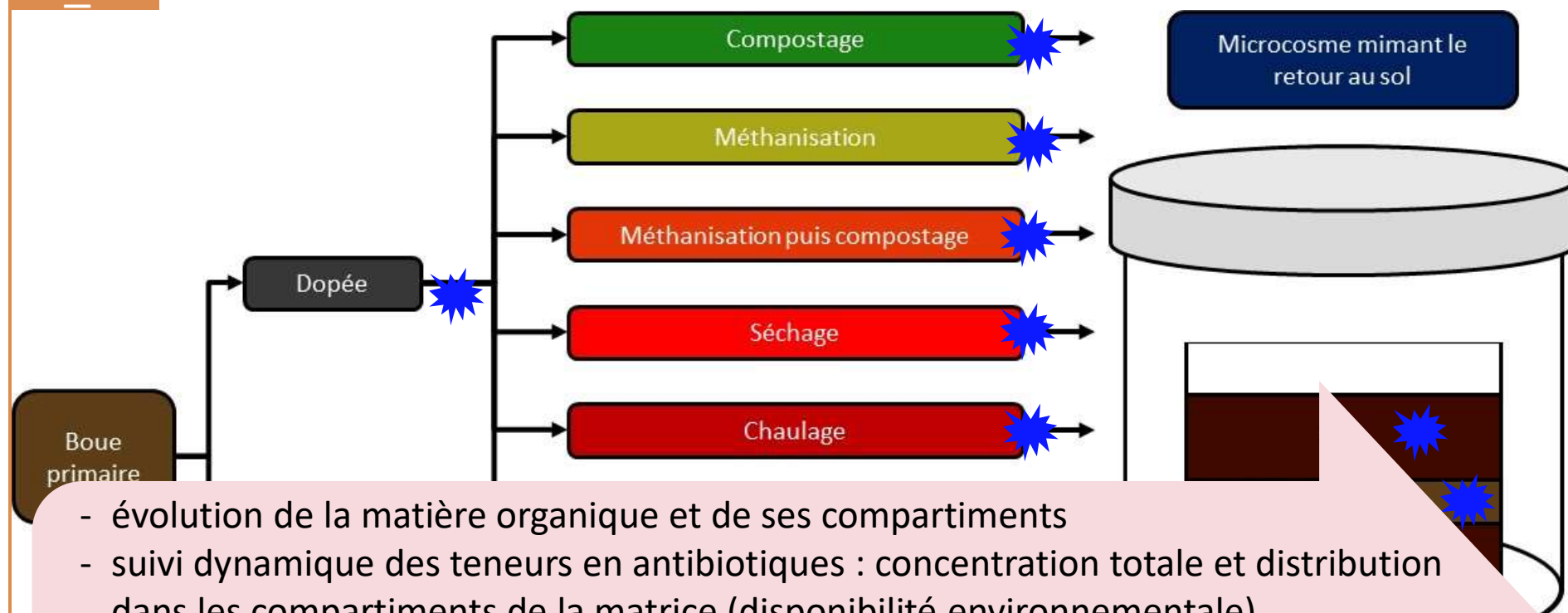
- ✓ Quel est l'impact des procédés sur l'antibiorésistance?
- ✓ Quelle est l'évolution de l'antibiorésistance apportée par les boues en présence du sol ?
- ✓ Comment sont impactées les communautés microbiennes du sol?
- ✓ Quels facteurs sont impliqués dans la dissémination de l'antibiorésistance ?





Dopage : Roxithromycine, Chlortétracycline, Oxytétracycline, Ciprofloxacine, Enrofloxacin

✱: Prélèvement des échantillons



- évolution de la matière organique et de ses compartiments
- suivi dynamique des teneurs en antibiotiques : concentration totale et distribution dans les compartiments de la matrice (disponibilité environnementale)
- suivi diversité et abondance du résistome et des éléments génétiques mobiles
- suivi des bactéries résistantes à des antibiotiques
- suivi microflore totale

➤ évolution de la matière organique et de ses compartiments

Bilan matière, MS, MV, gaz, accessibilité et complexité de la matière organique par fractionnement et fluorescence tridimensionnelle Jimenez et al., 2015

➤ suivi dynamique des teneurs en antibiotiques

Extraction par ASE couplée à LC-MS-MS via méthode ajout dosé Ezzariai et al., 2018

➤ suivi diversité et abondance du résistome et des éléments génétiques mobiles

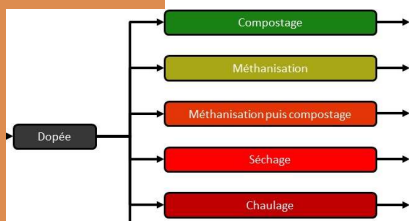
Extraction ADN puis qPCR haut-débit sur 95 gènes et calcul de l'abondance relative (GRA / ARNr 16S)

➤ suivi des bactéries résistantes à des antibiotiques

Quantification sur milieu spécifique des *E. coli* et *Enterococcus spp.* totaux et résistants à tet, cip, ery (concentration en antibiotique à deux fois la valeur seuil épidémiologique fixée par EUCAST, 2018)

➤ suivi microflore totale

Extraction ADN puis séquençage haut-débit Illumina après amplification de ARNr 16S (marqueur taxonomique des bactéries)

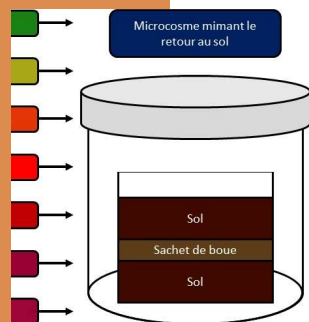


Matière et antibiotiques

- ✓ Bilan matière validé pour chaque procédé
- ✓ Boues traitées ayant des accessibilités et complexités différentes
- ✓ Abattement des antibiotiques au cours des procédés

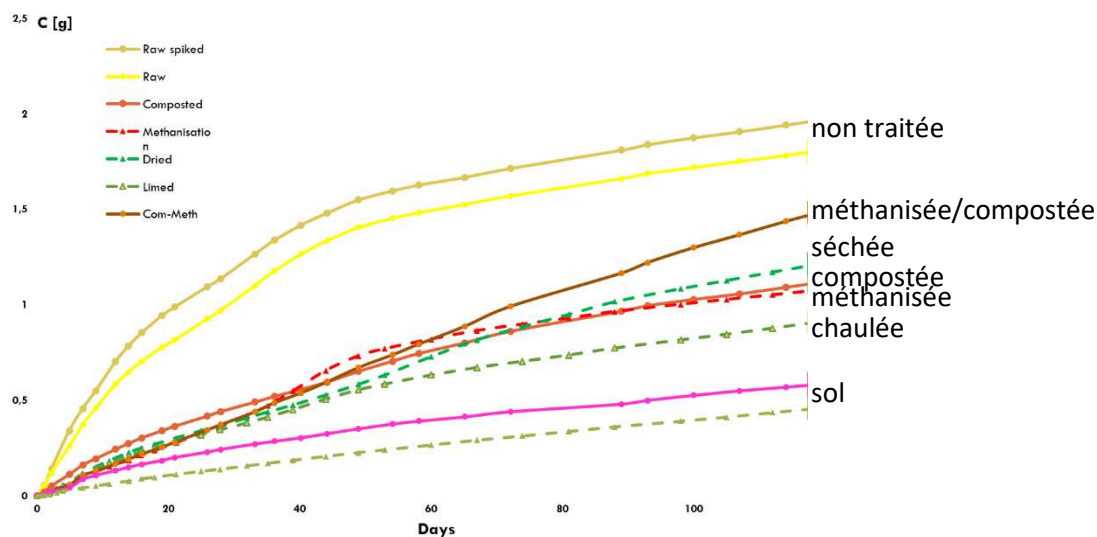
	ROX	OTC	CTC	ENR
	Abattement (%)			
Compostage de boue	52-87 (*)	100 (**)	69-95 (**)	NS
Digestion anaérobie	46-56 (**)	58-63 (**)	70-100 (*)	NS
Compostage de digestat	ND	ND	ND	ND
Séchage de boue	56 (*)	45 (*)	0	NS
Chaulage de boue	86 (*)	31	8	NS

ND : non détecté, NS : non significatif

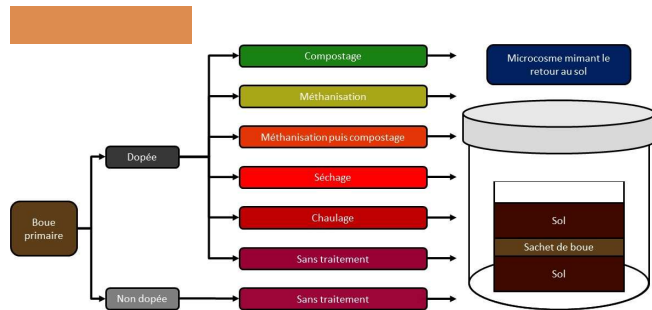


Matière et antibiotiques

- ✓ Cumul de C minéralisé = f (accessibilité et complexité de la matière)

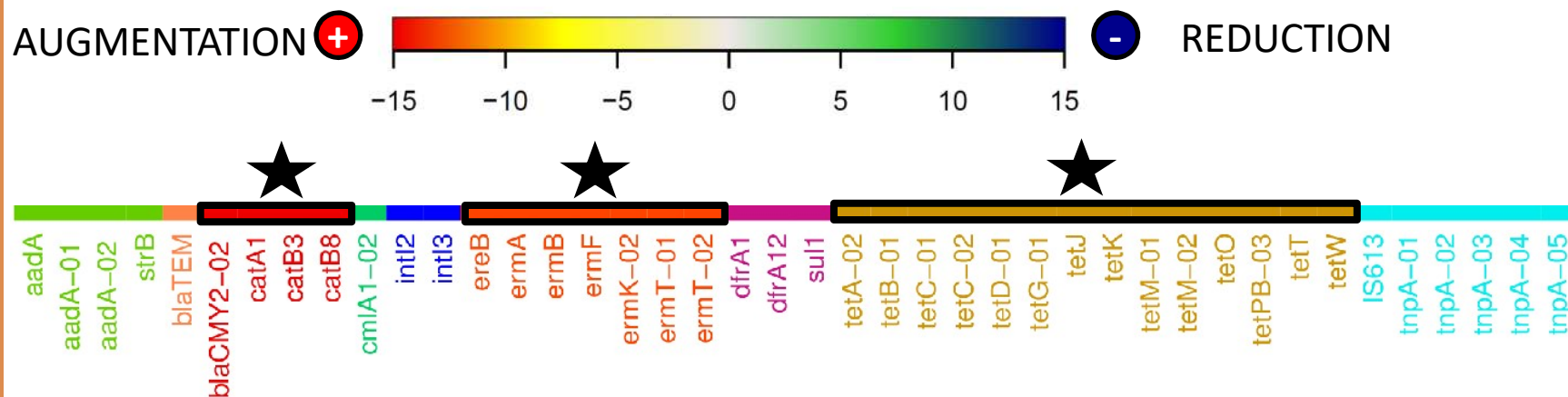


- ✓ Au temps final (120 jours) aucun antibiotique n'est détecté, ni dans les boues, ni dans le sol



Résistome et mobilome

Variation d'abondance relative des gènes entre T0 et Tfinal

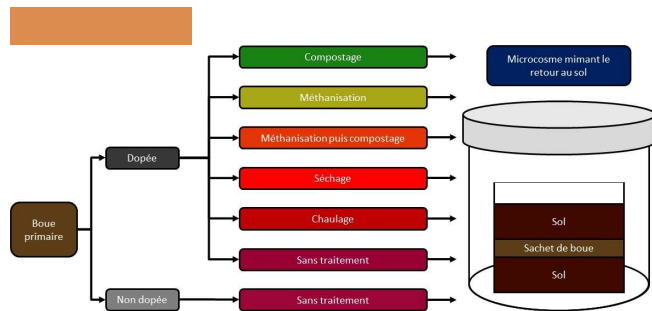


Gènes de résistances aux antibiotiques :

- Aminoglycosides
- Beta-lactamases
- Amphénicols, Chloramphénicols, Florfénicol, Fluoroquinolones, Quinolones
- Désactivateurs beta-lactames
- Macrolides
- Sulfonamides
- Tétracyclines

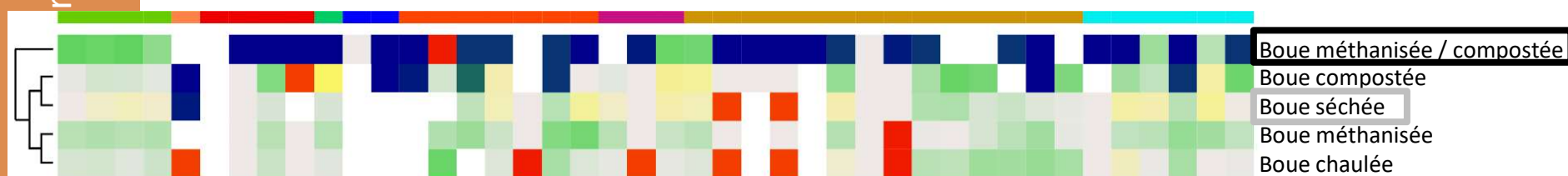
Éléments génétiques mobiles :

- Intégrases
- Transposases

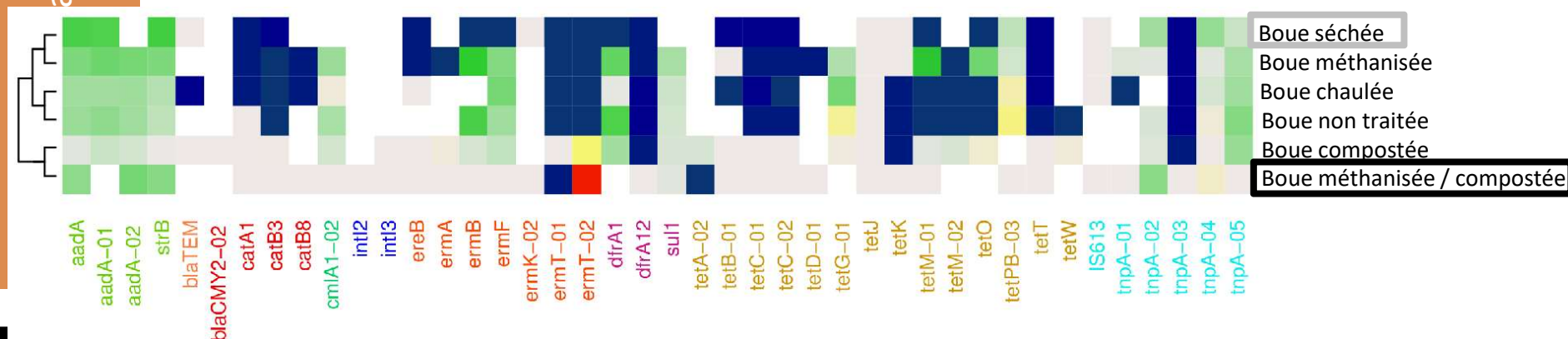


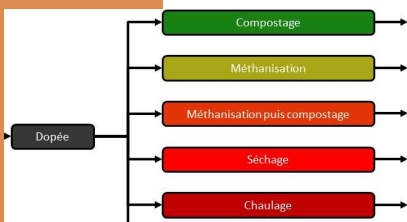
Résistome et mobilome

Effet du traitement: abattement maximal avec couplage méthanisation/compostage

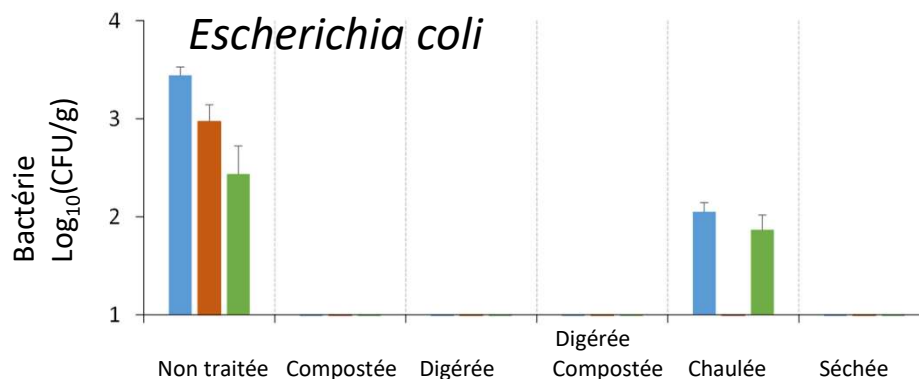


Effet du retour au sol: abattement d'autant plus important pour les boues dont le traitement a peu impacté l'antibiorésistance

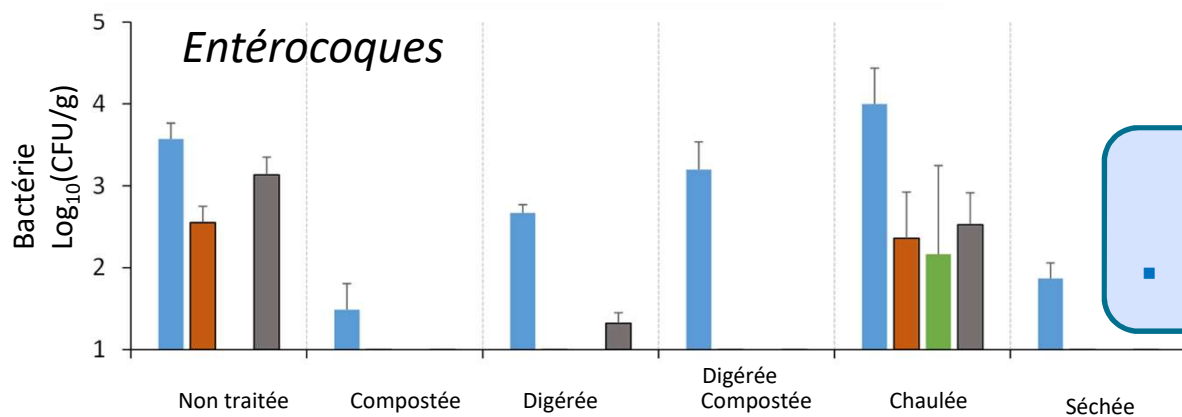




Bactéries résistantes (fin de procédé)

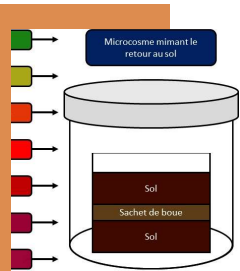


↓ Population bactérienne



Evolution
 ■ du profil de résistance
 ■ de la population bactérienne

■ Totaux ■ Tet-R ■ Cip-R ■ Ery-R



Bactéries résistantes (sol)

Au tfinal (120 jours) dans les litter bags :

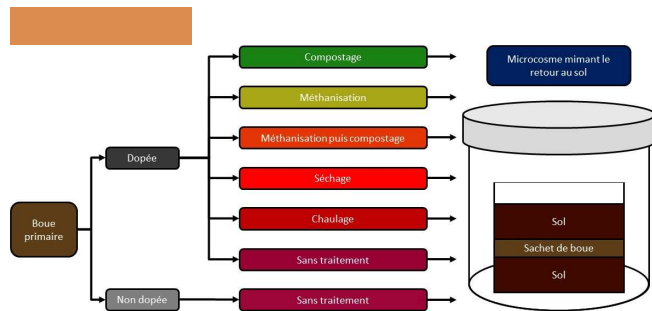
- absence de *Escherichia coli*
- maintien des Entérocoques totaux mais absence de résistants

Au tfinal dans les sols :

- absence de *Escherichia coli*
- comptage d'Entérocoques totaux sur modalités boue digérée, séchée et chaulée

JRI Biogaz méthanisation 8-10 septembre 2020 -





Pour conclure

- ✓ Atténuation des résistome et mobilome au cours des traitements
- ✓ Atténuation plus importante via le couplage digestion-compostage
- ✓ Poursuite de cette atténuation dans les boues en contact avec le sol (surtout pour les boues peu impactées par le traitement)
- ✓ Absence de *E. coli* et *Enterococcus spp* résistantes dans les boues en fin d'incubation
- ✓ Etude sur les transferts de gènes ou bactéries possibles entre boue et sol à poursuivre
- ✓ Rôle des communautés microbiennes et de la nature de la matière sur cette atténuation en cours d'évaluation via le traitement statistique de ces données

JRI Biogaz méthanisation 8-10 septembre 2020