

CARACTÉRISATION DES SOUCHES DE *ESCHERICHIA COLI* PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES À SPECTRE ÉTENDU DANS LES EFFLUENTS COMMUNAUTAIRES ET HOSPITALIERS

Bréchet C., Plantin J., Thouverez M., Cholley P., Hocquet D., Bertrand X.

Hygiène hospitalière – Centre Hospitalier Régional Universitaire, 25030 Besançon, France

Résumé

Objet de l'étude : Explorer le rôle potentiel de la filière eaux usées dans la dissémination des *Escherichia coli* producteurs de bêta-lactamases à spectre étendu (ECBLSE) en recherchant et quantifiant les souches de ECBLSE tout au long de la filière « eaux usées » de l'agglomération de Besançon.

Méthodes : Onze points du réseau d'assainissement (3 effluents communautaires, 2 effluents hospitaliers, 4 prélèvements au niveau de la station d'épuration (STEP), rivière en amont et en aval de la STEP) ont fait l'objet de 10 prélèvements hebdomadaires sur 3 mois. Les *E. coli* totaux ont été quantifiés selon la norme AFNOR, tandis que les ECBLSE ont été recherchés et quantifiés par culture. Le typage moléculaire a été réalisé par deux approches complémentaires : électrophorèse en champ pulsé (PFGE) et Multi-Locus Sequence Typing (MLST). Les BLSE ont été identifiées par PCR.

Résultats : Les concentrations en *E. coli* totaux étaient moins élevées dans les effluents hospitaliers que dans les effluents communautaires. Des souches de ECBLSE ont été retrouvées dans 95,5% des prélèvements avec une proportion relative très variable en fonction des sites (0-61%) et du temps, et une nette prédominance dans les effluents hospitaliers par rapport aux communautaires. Le pourcentage d'épuration entre les eaux brutes et les sorties de la STEP était de 97,5% pour les *E. coli* totaux et de 94,4% pour les ECBLSE.

L'analyse génotypique réalisée sur 242 souches montrait une grande diversité clonale avec 144 clones (107 pulsotypes uniques, 37 pulsotypes multiples). L'analyse par MLST portant sur 165 souches a permis de d'identifier 92 Sequence Type (ST) dont 54 uniques et 4 récurrentes (ST361, ST38, ST10, et ST88).

L'identification des BLSE a montré une nette prédominance des CTX-M (73%) dont principalement CTX-M-1 (50%) et CTX-M-15 (30%).

Conclusion : Cette étude montre que 0.3% des souches de *E. coli* détectées à l'entrée de la STEP sont des ECBLSE. Les processus de traitement au niveau de la STEP ne permettent pas une réduction importante des ECBLSE. Chaque jour, 6. 10¹¹ ECBLSE sont rejetés dans le Doubs. Il est probable que la filière «eaux usées» participe à la chaîne épidémiologique de dissémination des ECBLSE.

Matériels et méthodes

- Projet EUCOLIB financé par l'ANSES
- 10 séries de 11 prélèvements hebdomadaires de Février à Avril 2011 → 242 ECBLSE conservées
- Quantification des *E. coli* totaux en microplaques MUG/EC® (Biokar)
- Recherche et quantification des ECBLSE sur milieu sélectif ChromID ESBL® (Biomérieux)
- Génotypage : PFGE et MLST
- Typage des BLSE : PCR puis séquençage



Objectifs de l'étude

Explorer le rôle potentiel de la filière « eaux usées » de l'agglomération de Besançon dans la dissémination des *Escherichia coli* productrices de β -lactamases à Spectre Étendu (ECBLSE) :

- Recherche et quantification des ECBLSE
- Étude de leur diversité clonale
- Identification des BLSE associées

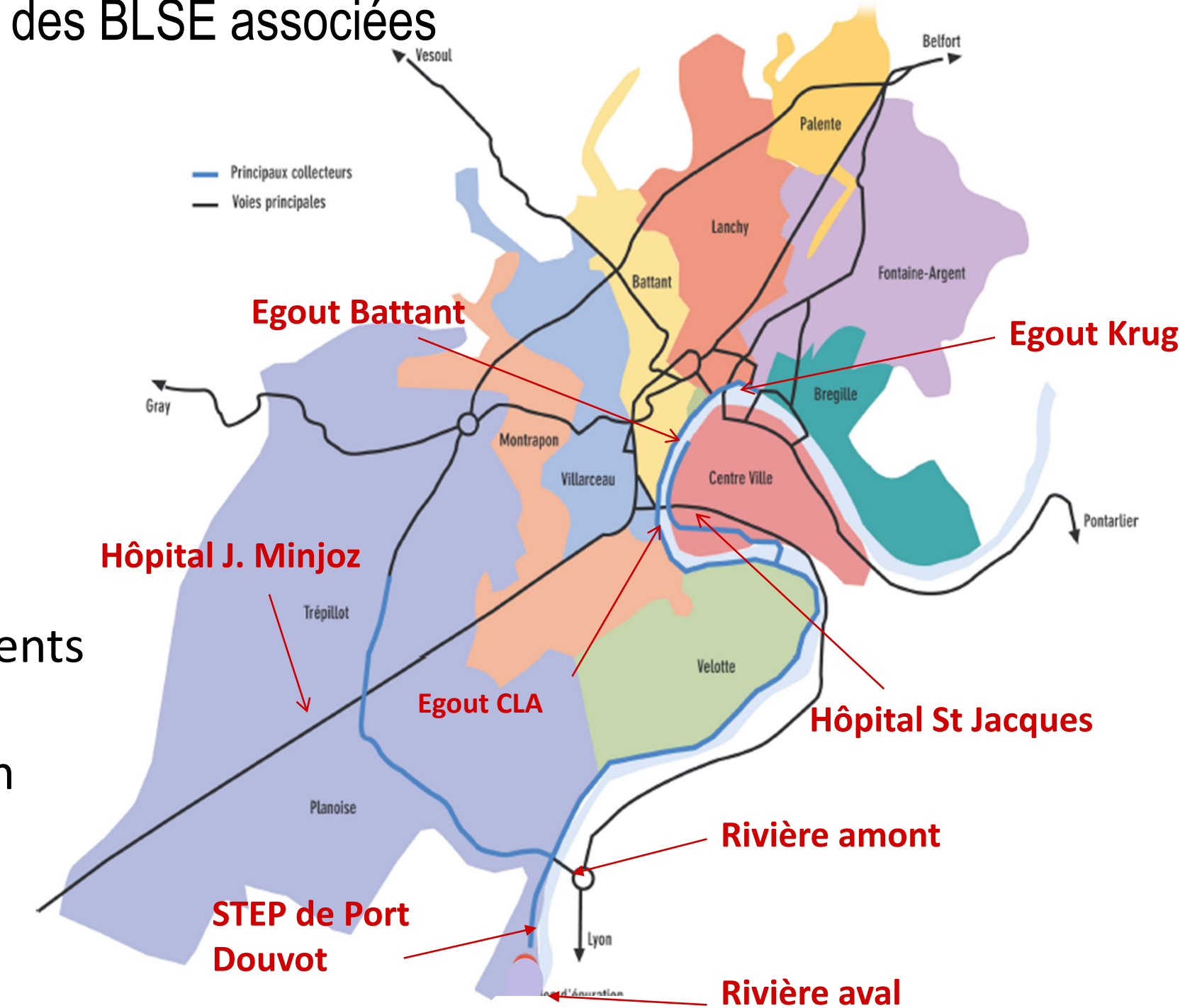


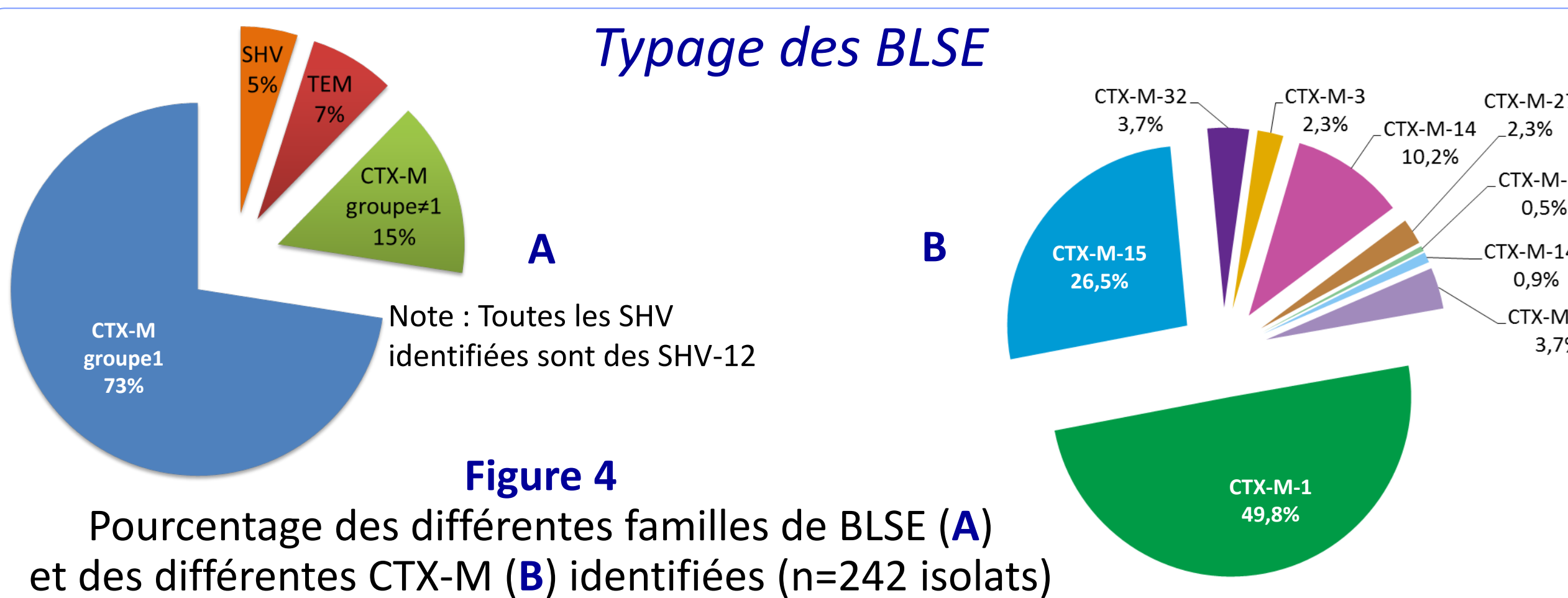
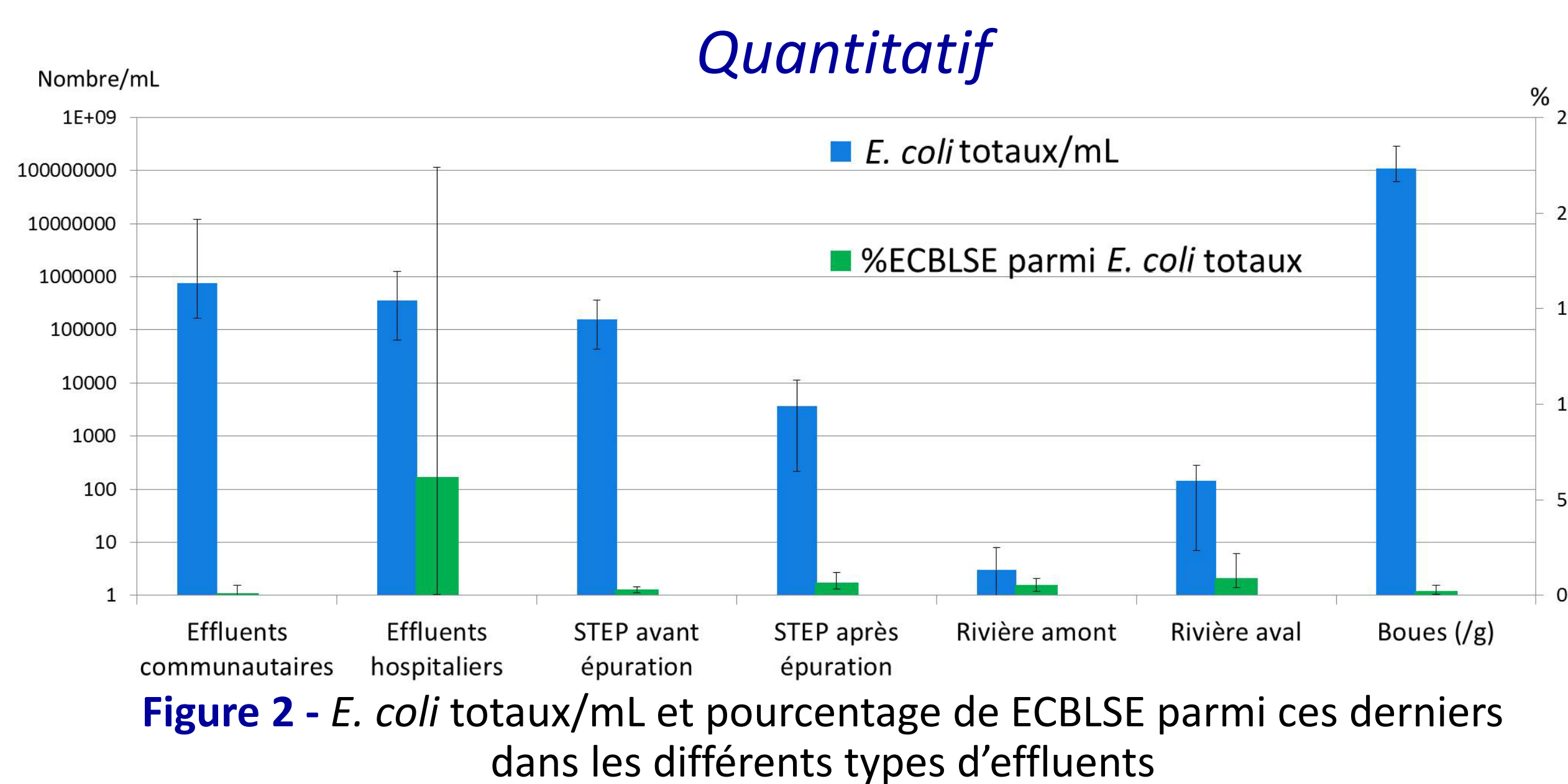
Figure 1
Sites de prélèvements au sein de l'agglomération de Besançon

Résultats

Tableau 1

Correspondance entre les ST et leurs complexes clonaux (STC)

Complexe clonal	ST correspondant
STC 10	ST10, ST44, ST167, ST617, ST685, ST744, ST746, ST1417, ST2821, ST3079
STC 23	ST23, ST88, ST410, ST3158, ST2851
STC 38	ST38, ST315
STC 46	ST46, ST3014
STC 69	ST69
STC 86	ST453
STC 95	ST95
STC 155	ST58, ST155, ST616
STC 168	ST93
STC 205	ST443
STC 206	ST45, ST540
STC 216	ST216, ST3149
STC 224	ST224, ST3078
STC 226	ST361, ST3286
STC 349	ST349
STC 350	ST57, ST1640, ST3280
STC 354	ST354
STC 394	ST2828
STC 398	ST398
STC 399	ST399, ST635
STC 405	ST405, ST3157
STC 422	ST1148, ST3279
STC 446	ST2820
STC 467	ST480
STC 469	ST162
STC 607	ST607, ST1072
STC 973	ST973, ST3161
STC 1125	ST1125, ST3083



BLSE-MLST

- STC 224 tous producteurs de CTX-M-32 (n= 5 souches)
- STC 216 tous producteurs de TEM (n=5 souches)
- STC 405 tous producteurs de CTX-M-15 (n=8 souches)
- ST 88 majoritairement producteurs de CTX-M-1 (n=10 souches/12)
- ST 44 tous producteurs de CTX-M-3 (n=4 souches)

Figure 5
Répartition des BLSE identifiées parmi les complexes clonaux prédominants (n>10 souches)

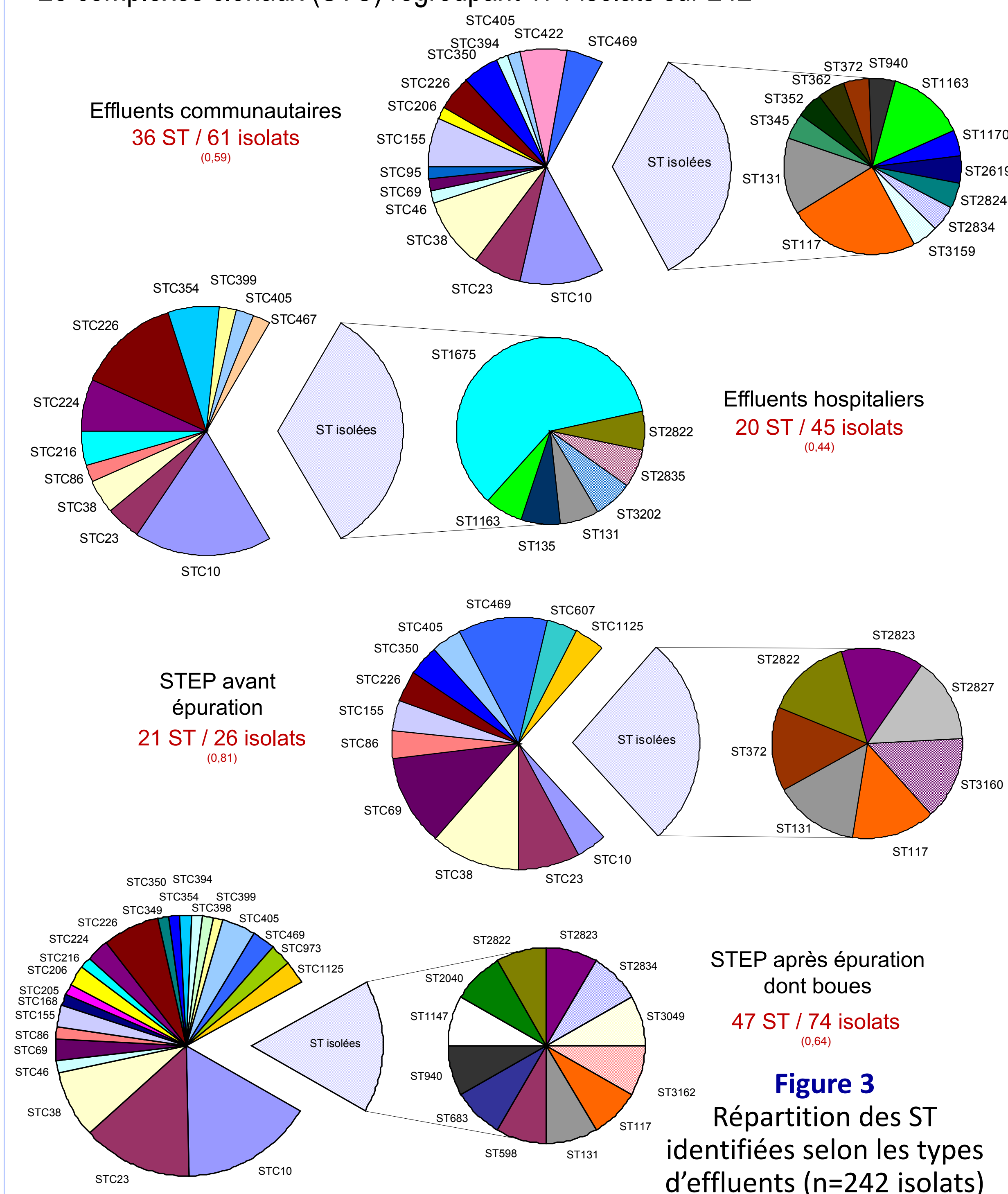
Génotypage : PFGE

- 144 pulsotypes majeurs dont 107 uniques
- 20 isolats non typables

⇒ Grande diversité génétique

Génotypage : MLST

- 92 Sequence Type dont 54 uniques
- 28 complexes clonaux (STC) regroupant 174 isolats sur 242



Discussion

- La majorité des ST identifiées ont été retrouvées au niveau de tous les sites de prélèvements
→ Seulement 6 ST communes entre les effluents communautaires et hospitaliers (ST 10, ST 38, ST 131, ST 361, ST 405, ST 1163)
- Les principales ST épidémiques décrites chez l'homme et l'animal ont été identifiées dans cette étude
→ ST 131 : 7 souches, production de CTX-M (1, 14, 15, 27)
→ Principaux STC identifiés (97 souches / 242) : STC 10, STC 23, STC 38, STC 226 } classiquement associées à un portage et des infections chez l'homme, mais décrites aussi chez l'animal
- Les BLSE identifiées appartiennent majoritairement à la famille des CTX-M, mais CTX-M-1 prédomine devant CTX-M-15
→ Décrit chez l'animal et en portage rectal aux Pays-Bas
- Les taux d'épuration par la STEP sont de 97,5 % pour les *E. coli* totaux et de 94,4 % pour les ECBLSE
→ Augmentation relative en ECBLSE due à des souches plus adaptées aux conditions de la STEP ?
- Chaque jour, 6. 10¹¹ ECBLSE sont rejetés dans le Doubs en aval de la STEP, et chaque gramme de boue épandue en rejette 2,6. 10⁵ dans l'environnement
→ Alimentation de la chaîne de transmission des ECBLSE