

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER**

*FACULTE DE SANTE*

*DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES*

ANNEE : 2024

THESE 2024 TOU3 2132

# **THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement  
par

BOUSQUET EMMA

La gestion des risques infectieux en milieu aquatique  
et l'impact de l'activité pharmaceutique

09/12/2024

Directeur de thèse : Pilloux Ludovic

## **JURY**

Président : Pasquier, Christophe

1er assesseur : Pilloux, Ludovic

2ème assesseur : Meyer, Thibault

3ème assesseur : Chagneau, Camille

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
**du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé**  
**au 04/11/2024**

**Professeurs Emérites**

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire	M. PARINI A. Physiologie
M. BENOIST H.	Immunologie	
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire	
M. SALLES B.	Toxicologie	

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie – Virologie
M. PUISSET F. (*)	Pharmacie Clinique
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie Analytique
Mme BOUTET E.	Toxicologie – Sémiologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme COSTE A.	Parasitologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATT OUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme WHITE-KONING M.	Mathématiques

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitalo-Universitaires

Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
Mme ROUCH L(*)	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

M. ANTRAYGUES Kevin	Chimie Thérapeutique
Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BROUILLET F(*)	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie – Virologie
Mme COMPAGNE Nina	Chimie Pharmaceutique
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
M. FARGE Thomas	Physiologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A. (*)	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S (*)	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
Mme ROYO J.	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme VANSTEEELANDT M.	Pharmacognosie

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitalo-Universitaires

Mme CLARAZ P.	Pharmacie Clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme DINTILHAC A.	Droit Pharmaceutique
Mme GERAUD M.	Biochimie
M. GRACIA M.	Pharmacologie
Mme PETIT A-E.	Pharmacie Clinique
Mme PEREZ P.	Hématologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie Clinique

### Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme CROSSAY E.	Pharmacognosie
Mme GRISETI H.	Biochimie
Mme MONIER M.	Microbiologie
M. SAOUDI M.	Pharmacie Galénique

# Remerciements

Je tiens à remercier Mr Christophe Pasquier d'avoir accepté de présider cette soutenance de thèse. Je remercie également les membres du jury Mme Camille Chagneau, Mr Thibault Meyer et Mr Ludovic Pilloux d'avoir accepté de prendre de leur temps pour lire et écouter ce travail. Je remercie particulièrement Mr Thibault Meyer d'avoir accepté de faire le déplacement depuis Lyon pour suivre mon travail même après le master.

Je remercie Mr Ludovic Pilloux d'avoir accepté de m'encadrer pour cette thèse d'exercice de Pharmacie. Merci pour sa patience et sa confiance et pour m'accompagner pour la petite et la grande thèse sur ce sujet des risques microbiologiques dans l'eau, auquel j'attache beaucoup d'intérêt. Merci également au département BioSyM du LGC pour l'accueil dans l'équipe et pour leur retour sur ce travail, qui promettent des échanges riches et constructifs pour les trois années à suivre.

Je tiens également à remercier mes parents, mes sœurs et mes amis pour leur soutien durant toutes ces années de pharmacie. Merci également à Hichame pour avoir cru en une future docteure Bousquet et à Antoine pour l'accompagnement sur ce chemin encore long vers une deuxième doctorat.

# Sommaire

Introduction.....	10
I- Identification et gestion des risques infectieux bactériens en milieu aquatique .....	12
A- Les risques infectieux bactériens dans le milieu aquatique .....	12
1- Les pathogènes digestifs de l'eau .....	15
2- Les pathogènes respiratoires .....	16
a. Pathogènes ubiquitaires .....	16
b. Cas de Legionella pneumophila .....	17
c. Cas des mycobactéries atypiques .....	18
B- Les réglementation et les traitements mis en place visant à diminuer le risque infectieux bactérien .....	19
1- A l'échelle mondiale .....	19
2- A l'échelle Européenne .....	22
3- A l'échelle Nationale : Exemple de la France.....	23
4- A l'échelle locale : Exemple de Toulouse .....	26
II – Impact de l'industrie pharmaceutique sur les risques infectieux présents dans le milieu aquatique .....	31
A- Effets de la pollution de l'eau par des antibiotiques dans l'antibiorésistance .....	32
1. Les normes et concentrations observées .....	32
2. Les mécanismes de résistances aux antibiotiques dans l'eau .....	34
B- Effet de la pollution de l'eau par d'autres produits pharmaceutiques dans l'antibiorésistance .....	36
III- Les mécanismes de résistances aux antibiotiques face aux stratégies de désinfections.....	38
A- L'impact des traitements sur les dynamiques des communautés bactériennes ..	38
B- Activation des gènes de résistances et des mécanismes de résistances croisées	40

C- La formation de biofilm comme mécanisme de persistance.....	41
D- Les amibes comme niche, vecteur et stratégie de résistance pour les pathogènes opportunistes .....	43
E- La stratégie de dormance cellulaire .....	44
Conclusion .....	45
Références .....	47

# Figures

Figure 1 : Liste 2024 des pathogènes bactériens prioritaires

Figure 2 : Calcul du lien entre qualité de l'eau et risque infectieux

Figure 3 : Schéma du petit cycle de l'eau

Figure 4 : Schéma du traitement des eaux usées de la station de Ginestous à Toulouse

Figure 5 : Schéma de potabilisation des eaux de Toulouse

Figure 6 : Source de pollution humaine dans le cycle de l'eau

Figure 7 : Différence entre la co-résistance, la cross-résistance et la co-régulation

Figure 8 : Modification de l'abondance de bactéries opportunistes en fonction du traitement de désinfection utilisé

Figure 9 : Facteurs de virulence chez *A. baumannii* associés à la formation du biofilm

# Tableaux

Tableau 1 : Principales bactéries pathogènes présentes dans les eaux usées

Tableau 2 : Réglementation relative à la réutilisation de l'eau usée traitée pour l'agriculture en Europe

Tableau 3 : Caractéristiques des traitements chimiques utilisés

Tableau 4 : Caractéristiques des traitements de filtration utilisés

Tableau 5 : Liste des antibiotiques critiques selon l'Ansm

Tableau 6 : Temps de demi-vie d'antibiotiques dans les eaux de surface

# Abréviations

ANMV : Agence Nationale des Médicaments Vétérinaires

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

ANSES : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CSM : Concentration Sélective Minimale

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FAO : Food and Agriculture Organization

GLASS : Global Antimicrobial Resistance and use Surveillance System

OMS : Organisation mondiale de la santé

OMSA : Organisation Mondiale de la Santé Animale

ONEBRA : Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

ONU : Organisation des Nations Unies

PNUE : Programme des Nations Unies pour l'Environnement

RSDE : Rejets de Substances Dangereuses dans l'Eau

TrACSS : Tripartite AMR Country Self-assessment Survey

UFC : Unité Formant Colonie

VBNC : Viable But Non Culturable



# Introduction

Les risques microbiologiques ont toujours été une problématique de santé publique majeure, cependant l'augmentation de l'antibiorésistance et des cas de décès associés à ces résistances représentent une proportion croissante des causes de décès. D'ici 2050, si aucune stratégie de gestion de ces risques ne sont mises en place, le nombre de décès liés aux infections par des bactéries antibiorésistantes devrait dépasser le nombre de décès liés au cancer, en faisant la cause majeure de décès dans le monde (**O'Neil, 2015**). Afin de diminuer au maximum ce risque, la gestion et la diminution des risques microbiologiques doivent être complets et présents au niveau de tous les facteurs de risques. Dans un contexte récent d'approche One Health, les risques microbiologiques sont désormais étudiés au niveau de l'Homme, de l'animal et de l'environnement afin d'appréhender l'ensemble des facteurs favorisant ces infections. De par son interdisciplinarité et son large panel d'activités, le pharmacien a un rôle clé dans cette nouvelle approche de la santé et peut ainsi être présent à différents points clés d'action sur l'ensemble du cycle One Health.

Le milieu aquatique s'intègre également parfaitement dans cette problématique puisqu'il se trouve à l'interface entre l'Homme et l'animal, est soumis à de nombreux facteurs de pression agissant sur le risque microbiologique et, du fait du nombre important d'écosystèmes différents qu'il héberge, présente une large variété de population bactériennes. Ce milieu aquatique est soumis à l'impact de l'activité et de la pollution humaine que ce soit sur le plan industriel, de l'agriculture ou de la pollution liée à l'utilisation urbaine, agricole et hospitalière (**Manaia et al. 2018**). Le traitement de ces eaux représente donc un maillon essentiel pour la prévention de la dispersion de micro-organismes pathogènes et des possibles mécanismes d'antibiorésistances auxquels ils peuvent être associés. Cependant ces traitements ne sont pas parfaits et peuvent même également représenter une source d'émergence de bactéries et de gènes de résistances aux antibiotiques (**Manaia et al. 2018**). En effet, ces eaux traitées, toujours riches en matières organiques offrent un milieu favorable aux développements de communautés bactériennes parfois très complexes et dynamiques.

Dans le cadre de cette étude, nous nous intéresserons uniquement aux bactéries sans prendre en compte les risques microbiologiques liés aux infections virales et parasitaires puisque les bactéries présentent à la fois cette particularité d'adaptation en milieu aquatique et de développement de résistance et de forte représentativité aux niveaux des infections microbiologiques observées chez l'homme et l'animal (**Haas et al. 1993**). Cependant ces

risques sont à associer aux risques liés aux infections virales, parasitaires ou d'origine chimique afin de prendre en compte l'ensemble des problématiques de santé humaine liées à l'eau. De la même façon, les milieux aquatiques marins ayant des caractéristiques chimiques nettement différentes aux environnements aquatiques d'eau douce, et soumis à des pollutions différentes, sont un autre pan de la problématique One Health associé au milieu aquatique. Pour cette thèse d'exercice axée sur le traitement des eaux et la pollution pharmaceutique, les milieux aquatiques d'eau douce sont plus concernés que les milieux marins même si les deux peuvent avoir un effet sur la santé humaine. Enfin, les réglementations, mode de traitements et seuils de pollution étant différents en fonction des pays mais notre approche se focalisera sur la France.

Afin d'identifier l'impact des risques pharmaceutiques sur les risques infectieux bactériens en milieu aquatique, il est d'abord important d'identifier les différents potentiels pathogènes présents dans ce milieu et les actions actuellement en place afin de limiter leurs impacts sur la santé humaine. L'impact de la pollution pharmaceutique sera ensuite défini d'abord sur un plan centré sur les antibiotiques et ensuite sur les différents micropolluants pouvant également amplifier ce risque infectieux. Enfin, les différents mécanismes de résistances et d'émergence de résistances de ces pathogènes dans le milieu aquatique seront également abordés.

# I- Identification et gestion des risques infectieux bactériens en milieu aquatique

## A- Les risques infectieux bactériens dans le milieu aquatique

Les risques infectieux bactériens liés à l'eau sont à prendre en compte pour toutes les sources d'eau, qu'elles soient traitées ou non. En effet, même pour le cas de l'eau traitée potable et distribuée en ville, le risque même minime peut être pris en compte plus sévèrement par une partie de la population, tels que les patients immunodéprimés sévères. En France, il est d'ailleurs préconisé à ces patients de filtrer ou de ne pas boire l'eau du robinet afin de minimiser les risques d'infections liés à *Legionella pneumophila* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Zahar et al. 2017**).

A l'international en 2019, 1.4 millions de décès étaient associés à une infection liée à une contamination provenant d'eau potable, d'eau d'assainissement ou d'eau utilisée à des fins d'hygiènes (**Wolf et al. 2023**). Ces infections sont principalement à l'origine de diarrhée ou d'infections respiratoires. Dans le monde, 69% des cas de diarrhées et 14% des infections respiratoires sont d'ailleurs attribués à une origine hydrique (**Wolf et al. 2023**). En Europe, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 285 896 décès, dont 2000 en France sont liés à une infection provenant d'une source d'eau (**WHO, 2019a**).

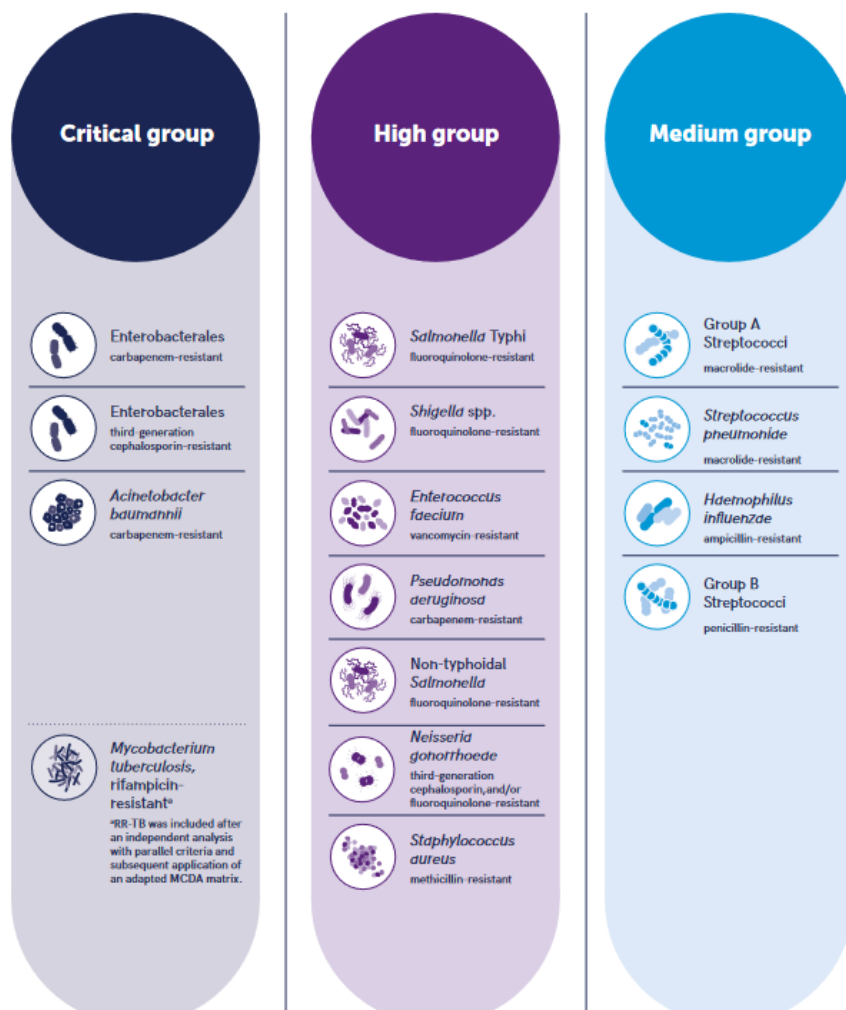
Les différentes bactéries de l'eau peuvent infecter l'hôte via 3 voies de contaminations : la voie cutanée, l'ingestion d'eau ou d'aliments en contact avec l'eau contaminée ou l'inhalation de gouttelettes contenant ces pathogènes. En fonction des caractéristiques du pathogène mais aussi du type d'infection qu'il va causer, la voie de contamination ne sera pas la même. La transmission peut se faire par contact ou ingestion lors de baignades, par transmission féco-orale, via la consommation de légumes contaminés (**Boutin et al. 2009**) (**Tableau 1**) ou via de très fines gouttelettes pouvant être transportées sur une grande distance (**Doron et al. 2008**).

<b>Agent pathogène</b>	<b>Symptômes, maladie</b>	<b>Mode(s) de contamination</b>
<i>Salmonella</i> (différents sérotypes <sup>4</sup> )	Salmonellose	Ingestion
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Gastro-entérite	Ingestion
<i>Leptospira spp.</i>	Leptospirose	Cutanée/Ingestion/Inhalation
<i>Legionella</i>	Légionellose	Inhalation
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastro-entérite	Ingestion
<i>Listeria monocytogènes</i>	Listériose	Ingestion
<i>Escherichia coli</i> (certains sérotypes dont O157:H7) <sup>5</sup>	Syndrome Hémolytique et Urémique <sup>6</sup> (SHU)	Ingestion
<i>Shigella</i> <sup>7</sup>	Dysenterie bacillaire	Ingestion
<i>Salmonella Typhi</i> <sup>7</sup>	Fièvre typhoïde	Ingestion
<i>Vibrio cholerae</i> <sup>7</sup>	Choléra	Ingestion
<i>Mycobacterium</i> <sup>7</sup>	Tuberculose	Inhalation

**Tableau 1 : Principales bactéries pathogènes présentes dans les eaux usées  
(Asano et al. 1998)**

La plupart des agents pathogènes retrouvés dans l'eau sont liés à une contamination de l'eau par des selles provenant d'humains ou d'animaux, malades ou porteurs sains. Ce sont généralement des infections gastro-intestinales à transmission féco-orale. Ces cas sont plus facilement identifiables et maîtrisés car la contamination vient d'un acteur externe sur lequel il est possible d'agir, le long du cycle de l'eau. Les infections liées à des pathogènes de l'eau capables de se répliquer dans l'eau ou les boues sont quant à elles beaucoup plus compliquées à identifier, comprendre et contrôler. Ces pathogènes peuvent en général également infecter l'hôte par contact ou inhalation et par conséquent engendrer un panel plus large de pathologies dont notamment des infections respiratoires, des infections ciblées de la peau ou plus généralisées.

Un autre facteur à prendre en compte est la capacité de ces pathogènes ou des autres micro-organismes présents dans ces eaux à développer, contenir et transmettre des résistances aux antibiotiques. Ces pathogènes sont un problème de santé publique majeur et font l'objet d'une liste de surveillance de l'OMS. Parmi cette liste mise à jour cette année, on retrouve à la fois des pathogènes pouvant être transmis par contamination féco-orale dans les eaux souillées, comme les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, mais aussi des pathogènes présents dans l'eau comme les *Mycobacteriaceae* atypiques présents dans le groupe de pathogènes de priorité critique ou encore *Salmonella Typhi* résistante aux fluoroquinolones ou *Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes (Figure 1).



**Figure 1 : Liste 2024 des pathogènes bactériens prioritaires (OMS, 2024)**

Dans le cadre des pathogènes résistants présents dans l'eau, il est important de prendre en compte leur écologie à la fois sur le plan biologique et chimique. Sur le plan biologique, dans des milieux plus riches comme les eaux usées, la dispersion des résistances aux antibiotiques via les transferts de gènes horizontaux peut être favorisée par une plus forte densité de population bactérienne ou par la formation de biofilms favorisant ces transferts. Sur le plan chimique, la présence de l'antibiotique à l'origine de résistance en concentration plus faible ou la présence d'autres facteurs chimiques engendrant des résistances croisées ou des mécanismes de co-résistances peuvent également exacerber le risque d'émergence de pathogènes résistants.

## 1- Les pathogènes digestifs de l'eau

De nombreux pathogènes digestifs sont retrouvés dans les eaux usées via la contamination fécale de ces eaux. Un des risques majeurs associé à ces pathogènes est le risque de contamination féco-orale liée à l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés par de l'eau contenant des pathogènes digestifs. Les infections liées à des microorganismes ayant comme réservoir l'homme, comme *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, *E. coli*, *Salmonella enterica* ou d'autres coliformes représentent un risque de contamination dans le cas d'une contamination fécale en amont ou d'un problème dans le traitement des eaux usées.

Malgré la faible probabilité de re-croissance chez ces pathogènes, leur suivi reste essentiel pour l'évaluation de la qualité de l'assainissement des eaux usées ou de la potabilisation de ces eaux puisqu'il reflète essentiellement l'action des différents procédés utilisés. Par ailleurs, la dose infectante parfois très faible de ces bactéries, quelques centaines de cellules pour *Campylobacter jejuni* voire dizaines pour *Shigella dysenteriae* nécessite l'instauration d'un seuil à respecter afin de s'assurer de la sécurité de ces eaux vis à vis des risques liés à ces pathogènes digestifs. Cependant, l'instauration d'un seuil basé sur l'écologie microbienne des principaux coliformes ne permet pas pour autant de s'assurer de l'innocuité de ces eaux concernant les pathogènes digestifs.

Dans le cas où le pathogène est autochtone du milieu aquatique, sa présence ne sera pas obligatoirement associée à une contamination fécale et inversement le suivi des indicateurs coliformes ne permettra pas d'identifier la présence ou non de ces pathogènes. Dans le cas de *Vibrio cholerae* et *Aeromonas spp.* (également de la famille des *Vibrionaceae*), la transmission est également féco-orale avec un risque de contamination par ingestion, les symptômes sont également digestifs avec des diarrhées plus ou moins sévères mais leur présence dans les eaux n'est pas toujours associée à un épisode infectieux dans la population.

De même, pour *Helicobacter pylori* les indicateurs de contamination fécale ne peuvent pas être utilisés cette fois-ci parce que la bactérie n'est pas sous forme isolée dans les eaux usées ou traitées. En effet, *H. pylori* est essentiellement retrouvé sous une forme de dormance viable mais non cultivable (VBNC pour 'Viable But Non Culturable') ou sous une forme de biofilm généralement en coopération avec des mycobactéries (**Moreno-Mesonero et al. 2016**)

Pour le cas des *Arcobacter*, bactéries gram - précédemment identifiées comme une souche thermotolérante (survie dans eau de rivière à 4°C supérieur à 200 jours) (**Van Driessche and Houf, 2008**) de *Campylobacter*, sa capacité d'évoluer et de se multiplier dans les eaux usées en tant que réservoir naturel, ne permet pas de suivre sa présence avec l'indicateur de présence des *E. coli* et autres coliformes. *Arcobacter*, en plus de sa forte capacité de croissance dans les systèmes d'assainissement, peut également survivre au traitement des eaux usées tels que les radiations UVB (**Webb et al. 2016**) et l'ultra-pasteurisation (**Ferreira et al. 2016**). Cette singularité de niche écologique associée à sa résistance au traitement des eaux usées en fait une signature des eaux usées utile pour le suivi du relargage de ces eaux dans la nature ou à des fins d'irrigation dans les champs (**Yang et al. 2015**). Cependant il s'agit également d'un pathogène responsable de diarrhées et bactériémies, physiopathologies pour lesquelles nos connaissances restent encore limitées. En raison de sa proximité avec *Campylobacter*, on considère qu'il partage la même symptomatologie et touche davantage les enfants de moins de 5 ans mais aucune étude ne s'est réellement penchée sur l'identification de ces facteurs de risques pour *Arcobacter*. Enfin, en cas de tableau clinique important et dangereux pour le patient, une infection à *Arcobacter* est traitée par antibiothérapie en utilisant des fluoroquinolones ou des tétracyclines. A ce niveau également, l'utilisation d'antibiotiques avec une demi-vie longue et dont la présence est avérée dans les eaux usées pose la question de leur potentiel rôle dans l'émergence d'antibiorésistance chez *Arcobacter*.

## 2- Les pathogènes respiratoires

### a. Pathogènes ubiquitaires

A l'inverse de la majorité des cas d'infection digestives provenant de contamination de l'eau par un individu porteur, la plupart des pathogènes responsables d'infections respiratoires, (mais aussi cutanées pour certains) sont toujours présents dans le milieu aquatique. *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Stenotrophomonas maltophilia* sont trois pathogènes opportunistes, ubiquitaires de l'environnement et responsables d'infections respiratoires. Ces pathogènes ubiquitaires sont très adaptables et présentent pour cette raison de nombreux mécanismes de résistances généralistes comme l'expression de pompes à efflux (**Hardalo et al. 1997**). Leur grande adaptabilité leur permet également d'être à l'origine d'infection cutanée ou de bactériémie, dont les traitements présentent un taux d'échec élevé à cause du nombre élevé de résistances auxquels ils sont associés. *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* font partie pour cette raison de la liste des pathogènes

respectivement de priorité élevée et critique avec un taux de mortalité associé de 50% (**Mendes et al. 2023**). L'importance croissante de ces pathogènes opportunistes et leur capacité de survie en milieu aquatique à amener à proposer *Pseudomonas aeruginosa* comme indicateur de recroissance dans les systèmes de distribution d'eau (**Ribas et al. 2000**)

Pour le cas de *Stenotrophomonas maltophilia*, de nombreux génogroupes permettant l'adaptation du pathogène à différents habitats ont été identifiés (**Brooke et al. 2021**). *S. maltophilia* ne fait pour l'instant pas partie de la liste des pathogènes prioritaire mais sa prévalence augmente chaque année aux Etats-Unis. Leur grande résistance aux antibiotiques est également associée à une résistance aux traitements de désinfection dont les traitements chlorés.

#### b. Cas de *Legionella pneumophila*

En plus de ces trois pathogènes d'origine hydrique dont la contamination se fait par contact direct avec l'eau, on retrouve également des pathogènes dont la voie d'infection peut aussi se faire via la propagation et l'inhalation de fines gouttelettes. Dans le cas des *Legionella*, la contamination se fait via l'inhalation d'aérosols, notamment générés par les systèmes de climatisation et les équipements de salles d'eau personnelles ou dans des lieux publics.

*Legionella* est une bactérie Gram - hydrotellurique présente à faible concentration dans le milieu aquatique. Une étude en France effectuée dans trois régions différentes a pu identifier la présence de *L. pneumophila* à des concentrations supérieures à 250 UFC/L dans 6,5% des échantillons d'eau provenant de domiciles prélevés (**Wallet et al. 2016**). Ces problématiques peuvent être d'autant plus importantes dans des lieux publics comme en Allemagne où des concentrations supérieures à 1000 UFC/mL ont été observés dans 20,77% des établissements testés (**Kruse et al. 2016**). En corrélation avec ces observations, le nombre de cas de légionellose est également recensé. En 2023, le nombre de cas en France s'élevait à 2201, ce qui correspond à une augmentation de 16% par rapport à l'année précédente et reflète un enjeu de santé publique puisque le nombre de cas augmente sans non plus que, et un taux de létalité constant à 9% (**Santé Publique France**). Par ailleurs, dans 72% des cas, on retrouve une concordance entre la souche clinique et la souche environnementale et dans 10 à 30% des cas cette souche provient d'une eau potabilisée.



La légionellose est une infection pulmonaire aiguë principalement due à *L. pneumophila* pouvant engendrer une insuffisance respiratoire irréversible. La capacité de la bactérie à survivre et se répliquer dans les macrophages alvéolaires lui permet d'échapper au système immunitaire (**Santé Publique France**).

Un autre paramètre justifiant le caractère prioritaire de santé publique est sa capacité à recoloniser les systèmes de distribution d'eau après désinfection (**Jjemba et al. 2015**). Cette croissance est notamment possible grâce à sa capacité, à l'instar des macrophages, à survivre et se répliquer dans les amibes mais également sous la forme de biofilms. Cette croissance dans les amibes lui permet une recolonisation rapide (4 à 5 jours) des systèmes de distribution (**Thomas et al. 2004**) et pourrait être d'autant plus rapide dans le cas d'eaux riches en matières organiques. Cette association avec les amibes, notamment *Acanthamoeba*, *Hartmannella* et *Neigeria* est tellement caractéristique que la prévalence de *Legionella* peut être associée à la prévalence d'amibes libres dans ces réseaux d'eaux (**Loret et al. 2008**).

### c. Cas des mycobactéries atypiques

Lors d'études analysant la prévalence de *L. pneumophila* dans les réseaux de distribution d'eau, les mycobactéries atypiques sont généralement aussi recherchées. Une étude effectuée sur le réseau d'eau à Paris, a révélé la présence de ces mycobactéries atypiques dans 72% des échantillons testés, dont 16% des souches identifiées comme pathogéniques (**Le Dantec et al. 2002**).

Les mycobactéries atypiques, en opposition avec *M. tuberculosis* responsable de la tuberculose et n'ayant que les êtres vivants comme réservoir, sont quant à elles retrouvées dans les réseaux d'eau dans lesquels ils peuvent croître et se répliquer. Les principaux pathogènes opportunistes de cette famille, *M. avium*, *M. abscessus* et *M. intracellulaire* peuvent être responsables de bactériémies chez les patients immunodéprimés, de lymphadénites cervicales chez les jeunes enfants mais surtout d'infections pulmonaires notamment chez les fumeurs (**Johansen et al. 2020**). La contamination peut se faire par contact mais est le plus souvent induite par l'inhalation d'aérosols liée à l'utilisation des douches ou l'irrigation des espaces verts (**Falkinham et al. 2015**).

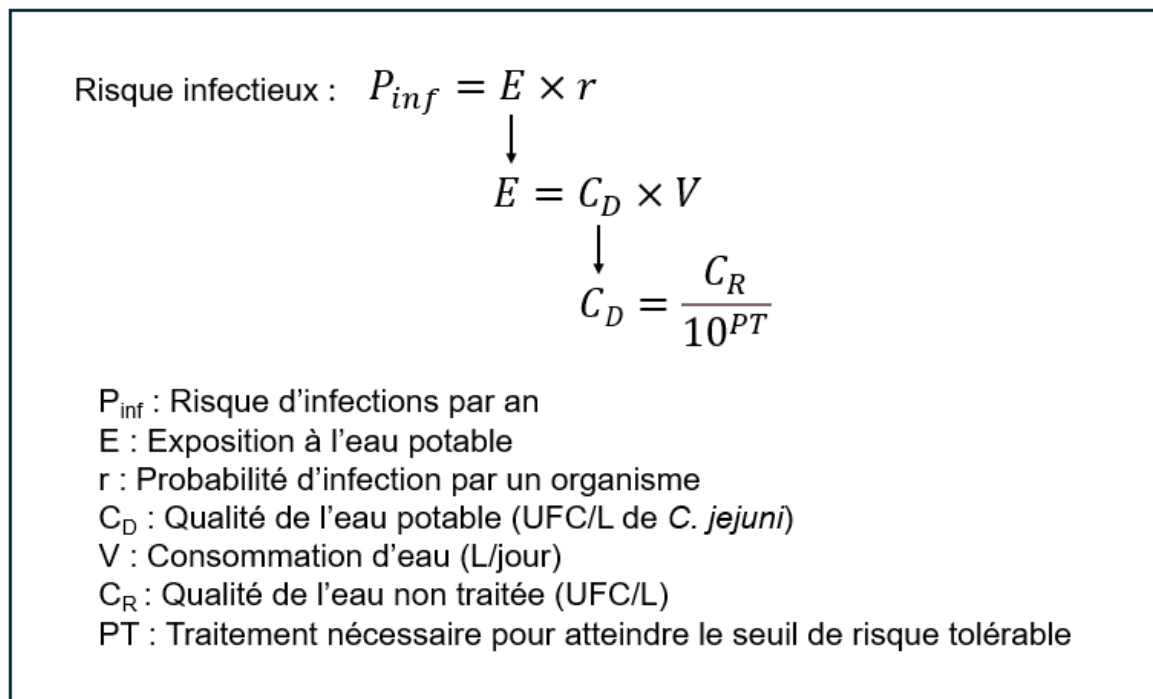
L'enjeu majeur avec la gestion des risques infectieux associés à ces pathogènes opportunistes dans les réseaux d'eau est associé à leur forte capacité de résistance et de croissance. En comparaison, *M. avium* est 500 fois plus résistant au traitement à la chlorure que *E. coli* (Taylor et al. 2001), ce qui met en valeur l'impossibilité d'utiliser les indicateurs de contamination fécale pour suivre l'efficacité des traitements d'eau sur ces mycobactéries atypiques. De plus, après traitement de l'eau, on observe une ré-augmentation de sa prévalence dans les systèmes de distribution d'eau dans lesquels on retrouve des concentrations de  $7 \times 10^6$  CFU/L (Falkinham et al. 2015). Cette croissance est favorisée dans des eaux riches en carbone organique (Falkinham et al. 2001) mais également liée à l'écologie de ces mycobactéries, le plus souvent retrouvées sous forme de biofilm. Dans le cadre de prélèvement de réseaux d'eau domestiques et publiques, *M. avium* était 3 fois plus abondant dans les biofilms que dans l'eau (Feazel et al. 2009). Ce mode de vie accentue davantage sa persistance et résistance aux traitements déjà importante en raison de sa faible perméabilité, lui conférant une résistance naturelle (Jarlier et al. 1994).

Le constat de la présence d'un large panel de pathogènes aux modes de vies très hétérogènes démontre la nécessité d'une gestion de ces eaux complexes afin de diminuer les risques microbiologiques associés.

## B- Les réglementations et les traitements mis en place visant à diminuer le risque infectieux bactérien

### 1- A l'échelle mondiale

En tant que ressource vitale, l'eau est distribuée de façon non homogène et soumise à différents facteurs de pression. L'eau en tant que ressource en eau potable ou pour l'agriculture, l'industrie ou toute autre utilisation fait l'objet d'étude sur le plan microbiologique. En 2022, l'OMS publie une nouvelle feuille de route pour l'évaluation de la qualité de l'eau potable : '**Guidelines for drinking water quality**', proposant une formule afin d'identifier pour chaque pathogène et chaque procédé de traitement des eaux, le seuil limite à ne pas dépasser pour éviter toute contamination et infection. (Figure 2). Cette formule prend en compte la pathogénicité de la bactérie, le nombre d'organismes par litre dans l'eau avant et après potabilisation, et les risques d'expositions existants. Cependant cette formule reste centrée sur le risque d'infection gastro-intestinale et engendre une sous-estimation des risques pour des pathogènes non conventionnels comme *Legionella* et *Mycobacterium*.



**Figure 2 :** Calcul du lien entre qualité de l'eau et risque infectieux (WHO, 2022)

En réponse à la demande d'eau douce, en constante augmentation et pour laquelle l'offre ne peut plus être suffisante, l'OMS se positionne également sur les possibilités des réutilisations d'eau usée traitée. Un rapport de 2017 '**Potable reuse : guidance for producing safe drinking water**' propose des critères de sûreté sur le plan microbiologique, essentiellement basés sur un critère de réduction du risque microbiologique après traitement plutôt que sur un seuil unique ou d'une formule comme proposé pour l'eau potable. Ainsi, seule la diminution de la concentration en pathogènes dans la source d'eau modifiée par le "facteur de l'année de vie corrigée d'incapacité", est utilisée pour encadrer le risque microbiologique de ces eaux usées traitées. Ce facteur d'année de vie corrigée d'incapacité prend en compte l'espérance de vie en bonne santé, et permet d'évaluer le coût d'un risque sur la santé humaine. Par ailleurs, concernant ces eaux plus riches en matières organiques et dont le cycle de l'eau est différent (temps de rétention, et traitement différents), les indicateurs de contamination fécale généralement utilisés pour identifier les risques microbiologiques liés à l'eau ne sont plus représentatifs (Zhang et al. 2021)

Dans une approche globale de la prise en charge des risques infectieux bactériens, il est essentiel de prendre en compte l'échec thérapeutique face à ces pathogènes liés à leur résistance aux antibiotiques. D'un point de vue environnemental, cela se traduit par la prise en compte des antibiotiques présents dans l'eau pouvant augmenter cette résistance aux antibiotiques. Ainsi, à l'échelle internationale, des groupes de coordinations entre pays sont créés par l'ONU, afin de développer le Programme des Nations Unies pour l'Environnement (PNUE). Lors du 6ème congrès du PNUE en 2019, les antibiotiques ont été catégorisés comme contaminants environnementaux les plus préoccupants.

En parallèle, l'OMS met en place depuis 2016 un plan d'action mondiale sur la résistance aux antimicrobiens. Ce plan d'action basé sur le concept 'One Health' met en rapport l'OMS avec la FAO (Food and Agriculture Organization) et l'OMSA (Organisation Mondiale de la Santé Animale) afin de définir les indications communes à suivre pour lutter de façon efficace et durable contre la résistance aux agents antimicrobiens. Cela a notamment permis la mise en place des enquêtes d'autoévaluation TrACSS (Tripartite AMR Country Self-assessment Survey) permettant de situer l'avancée de chaque pays concernant la problématique de l'antibiorésistance (**TrACSS, 2023**). La France est globalement bien située sur l'ensemble des indicateurs mais certains indicateurs dont le suivi de la consommation d'antimicrobiens en santé humaine ainsi que la surveillance de la résistance aux antimicrobiens dans les milieux aquatiques et la pisciculture sont des axes sur lesquels une amélioration est la plus nécessaire. De plus, la TrACSS ne prend pas en compte la santé végétale et la production alimentaire, qui peuvent également participer à l'augmentation des risques liés à la résistance aux antibiotiques.

Enfin, en plus de l'enquête TrACSS menée par ces instances internationales, l'OMS a également mis en place le GLASS (Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System) qui standardise la collecte, l'analyse et le partage de données nationales sur la résistance aux antimicrobiens (**GLASS Report, 2022**). Cette standardisation permet ainsi d'appliquer les directives internationales, notamment sur le plan européen mais surtout à l'échelle nationale.

## 2- A l'échelle Européenne

Le Parlement européen est un acteur décisif dans le contrôle des risques microbiologiques dans les milieux aquatiques puisque c'est à partir du règlement européen que les pays membres de l'union européenne doivent s'aligner et mettre en place leur propre législation. Des seuils indicateurs sont instaurés dans le cadre d'utilisation de l'eau potable classique ou vendue en bouteille (**Directive 93/83/CE**). Pour les risques microbiologiques associés à l'eau potable, il est instauré un seuil à 0 UFC/100 mL pour les *E. coli* et les entérocoques ; 0 UFC/100 mL pour les *Clostridium perfringens* (spores comprises) si les eaux proviennent d'eaux superficielles ; et 0 UFC/mL pour *Pseudomonas aeruginosa* pour l'eau destinée à un stockage en bouteille ou conteneur.

Des directives sont également mises en place pour l'usage d'eau non potable provenant d'eaux usées traitées. Dans ce cas, les seuils dépendent de la catégorie de champs irrigués et de la méthode d'irrigation de l'eau et par conséquent du type de risque microbiologique encouru (**Tableau 2**). Cependant, pour cette utilisation, seuls les *E. coli* sont recherchés, et *Legionella* spp. pour certains cas, délaissant d'autres pathogènes pouvant à la fois croître dans les eaux de REUT et dans les champs et ainsi atteindre des concentrations beaucoup plus importantes pouvant atteindre la dose infectante.

Minimum reclaimed water quality class	Crop category <sup>(1)</sup>	Irrigation method
A	All food crops consumed raw where the edible part is in direct contact with reclaimed water and root crops consumed raw	All irrigation methods
B	Food crops consumed raw where the edible part is produced above ground and is not in direct contact with reclaimed water, processed food crops and non-food crops including crops used to feed milk- or meat-producing animals	All irrigation methods
C	Food crops consumed raw where the edible part is produced above ground and is not in direct contact with reclaimed water, processed food crops and non-food crops including crops used to feed milk- or meat-producing animals	Drip irrigation <sup>(2)</sup> or other irrigation method that avoids direct contact with the edible part of the crop
D	Industrial, energy and seeded crops	All irrigation methods <sup>(3)</sup>

(a) Minimum requirements for water quality

Reclaimed water quality class	Indicative technology target	Quality requirements				
		<i>E. coli</i> (number/100 ml)	BOD <sub>5</sub> (mg/l)	TSS (mg/l)	Turbidity (NTU)	Other
A	Secondary treatment, filtration, and disinfection	≤ 10	≤ 10	≤ 10	≤ 5	<i>Legionella</i> spp.: < 1 000 cfu/l where there is a risk of aerosolisation Intestinal nematodes (helminth eggs): ≤ 1 egg/l for irrigation of pastures or forage
B	Secondary treatment, and disinfection	≤ 100	In accordance with Directive 91/271/EEC (Annex I, Table 1)	In accordance with Directive 91/271/EEC (Annex I, Table 1)	-	
C	Secondary treatment, and disinfection	≤ 1 000			-	
D	Secondary treatment, and disinfection	≤ 10 000			-	

**Tableau 2 : Réglementation relative à la réutilisation de l'eau usée traitée pour l'agriculture en Europe (EU Regulation 2020/741)**

### 3- A l'échelle Nationale : Exemple de la France

En France, la réglementation doit s'aligner avec les décrets européens tout en s'aidant de l'expertise d'instances de la santé et de l'environnement dont l'ANSES. Des rapports de l'ANSES proposent également des seuils de pollution microbiologique pour l'eau potable ('Eau potable' 98/83/CE) et pour l'eau de baignade (ANSES/LHN/REF-CSE) sur lesquels vont pouvoir se baser les instances réglementaires françaises. Concernant l'eau potable, l'ANSES recommande, à l'instar des décrets européens, des seuils à 0 UFC/ 100 mL pour *E. coli*, les entérocoques intestinaux, qui servent d'indicateurs d'efficacité du traitement et d'indicateur de contamination fécale. De la même façon, un seuil à 0 UFC/mL pour les micro-organismes anaérobies sulfite-réducteurs (dont *Clostridium perfringens*) et leurs spores sert

d'indicateur de contamination fécale. A ces indicateurs s'ajoute une surveillance des taux de *Salmonella* dans ces eaux ainsi que l'analyse de la variation du taux de microorganismes revivifiables à 22°C et 37°C qui reflète l'efficacité de la filière de potabilisation et du réseau de distribution. Contrairement aux indications européennes, il n'existe pas de seuil lié à *Pseudomonas aeruginosa* concernant l'eau en bouteille, on retrouve uniquement cet indicateur pour les eaux de baignade, auquel s'ajoute le suivi des *Staphylocoques* pathogènes et des cyanobactéries.

Enfin dans le cadre de la réutilisation des eaux usées traitées, un premier arrêté aborde l'utilisation de ces eaux pour l'irrigation de culture et d'espaces verts en reprenant l'indicateur de contamination fécale et d'efficacité du traitement *E. coli* et en prenant aussi en compte le taux d'abattement des entérocoques fécaux et des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices afin de s'assurer de l'efficacité suffisante du traitement en station avant réutilisation de ces eaux (**Arrêté du 25/06/14, JO n° 153**). Par ailleurs, ce sujet fait l'objet de remaniement récent sur le plan de la réglementation. Les normes de rejet de l'eau traitées n'imposant qu'un seuil au niveau de la concentration de carbone organique dans les eaux, il n'est pas transposable dans le cas d'utilisation directe de l'eau (**Arrêté du 26/03/2012, JO n°83**). Un décret, publié au journal officiel le 10 mars 2022 a été abrogé en août 2023 sans pour autant qu'il y ait de nouvelle proposition de décret. Un dossier de demande d'autorisation des eaux usées traitées est publié depuis juillet 2022 mais aucune suite n'a été donnée à ce jour (**Arrêté du 28/07/2022**).

Pour conclure sur le statut réglementaire au niveau national, il reste des zones grises sans réglementations, notamment pour les risques liés à la réutilisation de ces eaux, et les seuils mis en place restent limités. La prise en compte des risques liés à la contamination fécale et l'efficacité du traitement sur un type de bactéries, en omettant les pathogènes de l'eau non conventionnels, mais pouvant être à l'origine de pathologies graves n'est pas moteur pour la protection contre les risques microbiologiques. Cet état des lieux, également constaté par des organismes de santé pointant la présence de pathogènes comme *Legionella* non pris en compte dans la réglementation, va conduire à la publication d'enquêtes indépendantes. Dans le cas de *Legionella*, une étude exploratoire LegioDom s'est mise en place en 2024 afin de référencer les cas de légionellose liés à une contamination à domicile et ainsi appuyer sur l'impact des risques infectieux liés aux systèmes de distribution de l'eau potable (**Santé Publique France**).

Enfin, à l'instar des procédures mises en place à l'échelle internationale sur le plan de l'antibiorésistance, la France met en place, en plus des demandes des systèmes TrACSS et GLASS, des lois cherchant à contrôler leur usage et la pollution associée. Une étude en 2015 a souligné qu'en France, environ 12500 décès par an sont associés à l'antibiorésistance (**Colomb-Cotin et al. 2015**). Les premiers plans de lutte contre l'antibiorésistance sont mis en place en 2000 avec des campagnes d'information des population "les antibiotiques c'est pas automatique" avec pour but d'agir sur la consommation d'antibiotiques en ville puisque plus des 90% des antibiotiques utilisés en médecine humaine le sont pour la médecine de ville et non à l'hôpital. Cependant ces premières campagnes n'ont pas été suffisamment efficaces puisque la prévalence d'entérobactéries résistantes aux céphalosporine utilisées en médecine de ville a continué à fortement augmenter (**Saisine Anses n° 2016-SA-0252**).

Sur le plan vétérinaire, la Loi 'Avenir Agricole' d'octobre 2014 définit la notion d'antibiotique critique et fixe un objectif de réduction de 25% sur 3 ans. A cette loi suit l'arrêté de mars 2016 qui rend obligatoire la réalisation d'un antibiogramme avec toute prescription vétérinaire d'antibiotiques d'importance critique pour l'homme, dont les céphalosporines des dernières générations. Enfin l'ANSM et ANMV (Agence Nationale des Médicaments Vétérinaires) travaillent conjointement au suivi de la consommation d'antibiotiques via l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA). Le suivi au niveau humain se fait en fonction de la dose journalière d'antibiotique consommée pour 1000 habitant, alors qu'en médecine vétérinaire c'est l'indice d'exposition, dépendant de la quantité du principe actif, la dose journalière, la durée du traitement et la biomasse animale totale.

En revanche, sur le plan environnemental, il n'existe aucun plan dédié au suivi de l'antibiorésistance mis à part des études isolées uniquement ciblées sur les points de rejets d'eaux et seulement de suivis de *E. coli* résistants aux antibiotiques ou de suivi d'éléments génétiques dont les intégrons. Cette lacune peut cependant être en partie expliquée par la complexité de prise en compte à la fois des différents acteurs entrant en jeux dans l'émergence ou le maintien d'antibiorésistances dans le milieu aquatique.



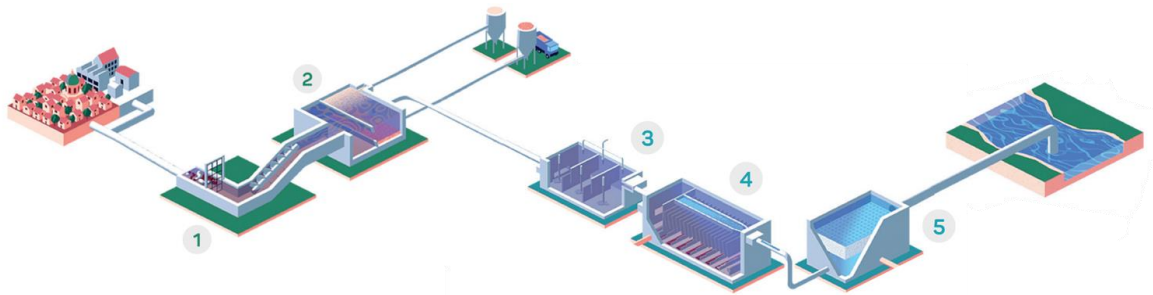
#### 4- A l'échelle locale : Exemple de Toulouse

Concrètement dans une agglomération, les risques microbiologiques associés aux eaux sont en grande partie liés au fonctionnement des stations de potabilisation et d'assainissement de l'eau. Ces deux types de stations sont intrinsèquement liées puisqu'elles sont dans les deux cas en contact avec l'Homme et l'environnement (**Figure 3**).



**Figure 3 : Schéma du petit cycle de l'eau (Eau France)**

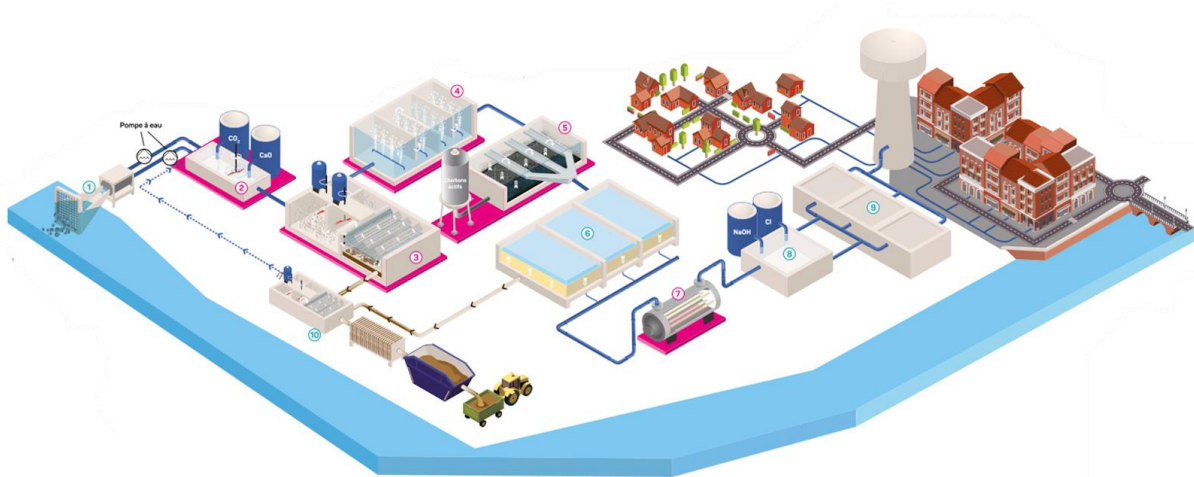
L'eau usée collectée provenant des différentes sources de pollutions humaines, est traitée avant relargage dans l'environnement afin que les seuils demandés par les instances françaises, ou internationales ne soient pas dépassés. Ce traitement des eaux usées est constitué de 3 phases distinctes. Une première phase de prétraitement consiste à filtrer les déchets de taille supérieur à 6mm par dégrillage puis récupérer les particules lourdes par dessablage et les graisses et huiles par dégraissage. S'ensuit une phase de traitement primaire durant laquelle les dernières particules en suspensions sont captées par floculation ou coagulation puis récupérées au fond après une étape de décantation lamellaire. Enfin une phase de traitement secondaire permet par traitement biologique dont la biofiltration, d'éliminer les matières organiques azotées ou carbonées grâce à la filtration à travers un matériau sur lequel se développent des bactéries. Les eaux sont ensuite rejetées dans le milieu naturel ou chlorées et filtrées pour une réutilisation de ces eaux usées (**Figure 4**).



**Figure 4** : Schéma de traitement des eaux usées de la station de Ginestous à Toulouse  
(Eau Métropole Toulouse)

Sur le plan microbiologique, lors des trois phases de traitements des eaux usées avec restitution des eaux, aucune étape n'a pour but premier la diminution de la population bactérienne présente. En sortie d'usine lors de prélèvements de vérification, une variété restreinte de bactéries sont recherchées. Ce constat fait écho à l'absence de recommandation et d'implication concernant la santé environnementale, qui devrait compléter les actions mises en place pour la santé humaine et animale. En plus de la nécessité de protéger la biodiversité, et diminuer l'empreinte anthropologique, la santé de l'environnement se répercute indéniablement sur celle de l'Homme. La pollution et la contamination de réseaux d'eaux naturels dans lesquels est prélevée l'eau pour potabilisation a pour cause l'augmentation des efforts nécessaires à la potabilisation et pour certains cas l'impossibilité d'utiliser ces eaux en tant qu'eau potable.

Lors de la potabilisation de l'eau, on retrouve des étapes de pré-traitements similaires avec un dégrillage, un tamisage et la floculation puis décantation des eaux captées dans l'environnement. Par la suite, trois étapes de désinfection des eaux se succèdent. Une première étape de filtration pouvant aller de la microfiltration à l'ultrafiltration en fonction des besoins et des moyens, puis une étape d'ozonation et enfin une étape de chloration avant stockage et distribution. Il est également possible de retrouver des étapes de reminéralisation si la filtration ne permet pas de conserver les minéraux naturellement présents dans les eaux. Une étape supplémentaire de désinfection UV est aussi possible, comme c'est le cas pour la potabilisation des eaux à Toulouse (**Figure 5**).



**Figure 5 : Schéma de potabilisation des eaux à Toulouse (Eau Métropole Toulouse)**

La complémentarité de différentes techniques de désinfections est nécessaire pour s'assurer d'une diminution significative du risque microbiologique des eaux (**Boneta et al. 2022**). Chaque type de désinfection aura un spectre d'action différent et l'utilisation de plusieurs techniques de désinfection peut avoir un effet synergique sur l'élimination de micro-organismes dans ces eaux (**Ding et al. 2019**). La chloration, l'ozonation et la désinfection par UV ont trois cibles et modes d'action différents, ce qui permet de les cumuler sur un même site de désinfection. L'action cumulée d'inhibition des fonctions enzymatiques (chloration), de toxicité des radicaux libres (ozonation) et de dégradation de l'ADN (UV) permet ainsi de diminuer les risques de résistances aux traitements. Cependant ces techniques ont un coût et ne peuvent pas toujours être associées. Ainsi chaque technique présente des avantages et inconvénients d'un point de vue efficacité, toxicité et coût de mise en place, qui justifient le choix de leur utilisation en fonction du contexte de la station de traitement des eaux (**Tableau 3**).

	Chloration	Ozonation	UV
	Cl <sub>2</sub> / ClO <sub>2</sub> / NaClO	O <sub>3</sub>	λ = 254 nm
Caractéristique	Traitement gazeux ou liquide inhibant les fonctions enzymatiques bactérienne	Traitement gazeux engendrant la production de radicaux libres toxiques pour les micro-organismes	Radiation électromagnétique inhibant le processus de réplication au niveau de l'ADN bactérien
Avantages	Présence d'un résiduel prolongeant l'effet désinfectant Pour ClO <sub>2</sub> : Pas de réaction avec la matière organique	Spectre d'action large	Pas de sous-produits. Plus grande sécurité d'utilisation. Efficacité importante sur les protozoaires (dont amibes)
Inconvénients	Recroissance bactérienne possible. Instable et production de produits résiduels toxiques et cancérigènes pour l'Homme. Faible efficacité sur les protozoaires (dont amibes)	Pas d'effet rémanent, risque de recroissance. Produit très instable. coût important. Faible efficacité sur les protozoaires (dont amibes)	Pas d'effet rémanent, risque de recroissance. Sensible aux variations de turbidité.
Effet rémanent (REUT)	Oui	Non	Non

**Tableau 3** : Caractéristiques des traitements chimiques utilisés (Asano et al. 2007)

De la même façon, le choix de la technique de filtration utilisée lors du traitement tertiaire va dépendre du type d'eau traitée, des moyens disponibles et des seuils à atteindre (**Tableau 4**).

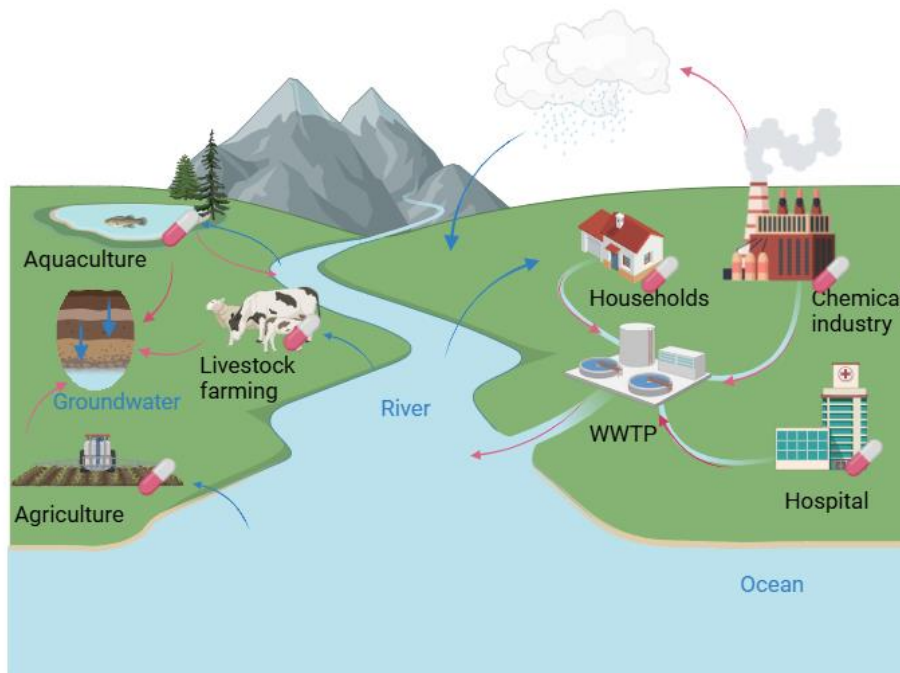
	Microfiltration	Ultrafiltration	Nanofiltration	Osmose Inverse
Diamètre des pores (µm)	0,04 - 10	0,003 - 0,2	0,001 - 0,003	< 0,0005
Pression nécessaire (kPa)	35 - 350	175 - 1000	1000 - 3100	1400 - 10000
Avantages	Réduction de l'utilisation de produits chimiques Pas besoin de pression très élevée		Ne laisse passer que H <sub>2</sub> O et les ions monovalents	Ne laisse passer que H <sub>2</sub> O
Inconvénients	Énergivore Nécessité de remplacer les membranes tous les 5 ans Perte d'efficacité avec l'usure des membranes Coûteux Peut laisser passer certains virus et bactéries		Très énergivore Pression nécessaire très importante Coût très élevés Nécessité de reminéralisation pour la potabilisation Perte d'efficacité avec l'usure des membranes	

**Tableau 4** : Caractéristiques des traitements de filtration utilisés (**Asano et al.2007**)

Pour conclure, chaque stratégie de désinfection présente des inconvénients qui ne permettent pas de définir un modèle unique pour la désinfection des eaux usées ou des eaux pour potabilisation.

## II – Impact de l’industrie pharmaceutique sur les risques infectieux présents dans le milieu aquatique

Le traitement des eaux usées, permet également d’éliminer un grand nombre de polluants présents dans l’eau mais qui, à l’instar de la désinfection biologique, ne sont pas tous totalement éliminés et sont également retrouvés dans tout le cycle de l’eau. Ainsi, les populations bactériennes du milieu aquatique à l’interface entre l’homme, l’animal et l’environnement sont soumises aux pressions de sélection de différents types de pollution dont les effets peuvent s’additionner (**Haenni et al. 2022**) (**Figure 6**). Le milieu aquatique est le sujet pour lequel l’approche One Health semble le plus faire écho de par ses nombreuses interactions avec un panel d’acteurs très hétéroclites. Pour ce travail il est décidé de se concentrer sur les pollutions en lien avec l’industrie pharmaceutique mais à cette pollution s’ajoute celle des autres industries chimiques, de l’agriculture ou de chaque foyers (**Hernando-Amado et al. 2019**). De plus, à l’échelle mondiale les facteurs de pollution varient et sont fonction de la situation culturelle, économique et politique de chaque pays ajoutant ainsi encore un autre niveau de complexité et d’hétérogénéité à la question des risques microbiologiques et de la pollution dans le milieu aquatique (**Zambrano, 2023**).



**Figure 6** : Source de pollution humaine dans le cycle de l’eau

## A- Effets de la pollution de l'eau par des antibiotiques dans l'antibiorésistance

### 1. Les normes et concentrations observées

A l'instar du suivi des bactéries dans les eaux usées traitées ou dans les eaux pour potabilisation, les taux d'antibiotiques dans ces eaux sont également suivis. Afin d'aider au suivi de l'antibiorésistance via les différents programmes internationaux et nationaux cités plus haut, le suivi de certains antibiotiques sont prioritaires.

L'OMS a notamment publié une liste des antibiotiques d'importance critique prenant en compte le caractère remplaçable ou non de chaque antibiotique, la fréquence d'usage de la classe de l'antibiotique et le nombre d'infections et pathogènes pour lesquels l'antibiotique est indiqué. Cette priorisation permet ainsi d'identifier les antibiotiques pour lesquels le développement de résistance liées à leur présence dans les eaux usées représente un plus grand danger au niveau de la santé publique.

Au niveau national, l'ANSM reprend également cette notion d'antibiotiques critiques basée sur l'utilisation en dernier recours ou non de l'antibiotique et sur la pression de sélection qu'il engendre (**Ansm, arrêté du 18/03/2016**) (**Tableau 5**).

<b>ATB particulièrement générateurs de résistances bactériennes</b>	Association amoxicilline-acide clavulanique	
	Céphalosporines : plus grande préoccupation pour les spécialités administrées par voie orale que par voie injectable ; plus grande préoccupation pour les C3G et C4G, et pour la catégorie « autres céphalosporines » ; préoccupation pour la ceftriaxone	
	Fluoroquinolones	
	Témocilline*	
<b>ATB de dernier recours</b>	Vis-à-vis des cocci à Gram positif	Daptomycine
		Glycopeptides**
		Linézolide, tédizolide
	Vis-à-vis des bactéries à Gram négatif	Colistine injectable
		Pénèmes**
		Phénicolés
		Tigécycline
Vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif	Fosfomycine injectable	

\*Pression de sélection en lien avec la problématique d'une dose optimale non établie ; \*\*Particulièrement générateurs de résistances bactériennes

**Tableau 5 : Liste des antibiotiques critiques selon l'Ansm (Ansm, arrêté du 18/03/2016)**



Ces recommandations de suivis d'antibiotiques critiques sont principalement indiquées pour le choix de traitement en médecine de ville ou hospitalière, cependant au niveau du suivi de leur présence dans l'eau, ces antibiotiques ne sont pas tous suivis et dosés. L'Anses recommande le suivi environnemental de la ciprofloxacine, l'érythromycine, la clarithromycine, l'azithromycine, le sulfaméthoxazole et la sulfaméthazine. Cette liste diffère de celle des antibiotiques de priorité critique puisqu'elle prend également en compte la cinétique de métabolisation et de dégradation de ces antibiotiques dans l'environnement. Les bêta-lactames très présents dans la première liste ne sont pas cités ici à cause de leur demi-vie courte liée à leur dégradation rapide dans l'environnement (**Tableau 6**). De plus, ajoutés à la pollution au niveau des sites de productions, les antibiotiques utilisés pour le traitement ne sont pas tous métabolisés, ainsi 50 à 80% des antibiotiques excrétés dans les fèces ou les urines sont encore en forme active et non pas été métabolisés (**Bilal et al. 2020**). Cette stratégie ne prend cependant pas en compte l'hypothèse que les produits de dégradation de ces antibiotiques peuvent conserver leur action antibiotique et par conséquent toujours représenter une pression de sélection sur les populations bactériennes en milieu aquatique.

Compound	Surface water half-life	Source
Amoxicillin	< 1 day	<a href="#">Längin et al. (2009)</a>
Azithromycin	< 5 h	<a href="#">Tong et al. (2011)</a>
Tylosin	9.5–54 days	<a href="#">Sarmah et al. (2006)</a>
Erythromycin	< 17 days	<a href="#">Sarmah et al. (2006)</a>
Ciprofloxacin	< 46 h	<a href="#">Cardoza et al., 2005</a>
Levofloxacin	6.3 days	<a href="#">Lam et al. (2004)</a>
Ofloxacin	10.6 days	<a href="#">Andreozzi et al. (2003)</a>
Norfloxacin	77 days	<a href="#">Burhenne et al. (1999)</a>
Sulfamethoxazole	20.3 days	<a href="#">Lam et al. (2004)</a>
Sulfamethazine	< 4.2	<a href="#">Carstens et al. (2013)</a>
Trimethoprim	< 11.8 days	<a href="#">Giang et al. (2015)</a>

**Tableau 6** : Temps de demi-vie d'antibiotiques dans les eaux de surface  
(**Felis et al. 2020**)



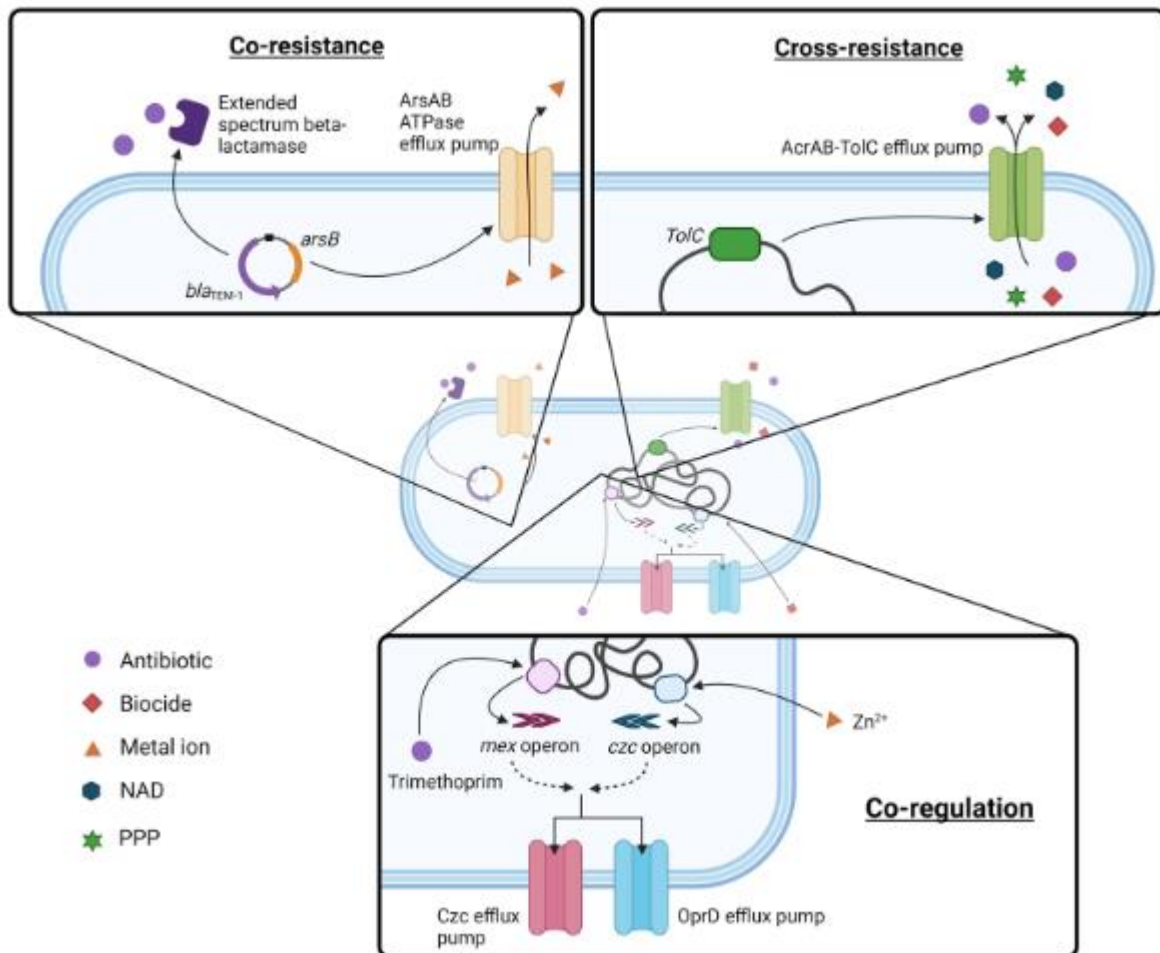
Au niveau des stations de traitement des eaux, où la pollution de l'eau est évaluée avant relargage dans l'environnement pour les eaux usées ou la distribution pour l'eau potable, la liste des micropolluants à considérer est basée sur la réglementation des 'Rejets des Substances Dangereuses dans l'Eau' (RSDE) de la direction de l'eau et de la biodiversité (DEB) (**Ministère Transition écologique, Note du 24/03/2022**). Dans cette réglementation, on ne retrouve que le sulfaméthoxazole comme antibiotique cité, et ce dans la liste des substances suivies de façon optionnelle.

Cependant, de nombreuses études ont eu lieu en France sur les eaux en sortie de station d'épuration et sur les eaux de surface. Le suivi des taux d'antibiotiques dans ces eaux a permis de constater la présence d'antibiotiques à des concentrations de l'ordre du nanogramme ou du milligramme par litre. L'étude des concentrations d'antibiotique dans les eaux usées traitées par **Haenni et al. 2022** a notamment souligné la présence de sulfaméthoxazole à des concentrations moyennes de 200 ng/L surpassant le seuil du RSDE fixé à 0,05 µg/L. Malgré la demi-vie courte des bêta-lactames, des concentrations allant jusqu'à 41 ng/L de céfotaxime sont également retrouvées dans ces eaux usées. Enfin dans le cas de la ciprofloxacine des concentrations allant jusqu'à 6 µg/L ont été relevées soient des concentrations surpassant la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* selon l'EUCAST.

## 2. Les mécanismes de résistances aux antibiotiques dans l'eau

La concentration surpassant la CMI inhibe la croissance de populations bactériennes sensibles et procure par conséquent un avantage sélectif pour les souches résistantes (**Gulberg et al. 2011**). Cependant même à des concentrations plus faibles dites Concentration Sélective Minimale (CSM), la présence de l'antibiotique dans l'eau peut également fournir un avantage sélectif à une souche résistante, comparée à une souche sensible isogénique. La résistance est spécifique de la souche, de l'antibiotique et de l'environnement, elle dépend donc de l'ensemble des facteurs physiques et chimiques influant sur la bactérie et l'antibiotique. Par conséquent, plusieurs composés chimiques présents dans l'environnement peuvent avoir un effet synergique sur la sélection de la résistance aux antibiotiques en diminuant par addition, la CSM. Ainsi, même pour des antibiotiques présents en faible concentrations dans les eaux comme c'est le cas pour les bêta-lactames, l'addition de leur pression de sélection associée à d'autres peuvent également être à l'origine de la sélection des bactéries résistantes aux antibiotiques (**Singer et al. 2016**).

La présence de CSM engendre la création de fenêtre de sélection pour la mutation via la sélection des bactéries résistantes déjà existantes mais aussi par l'augmentation du taux de mutations *de novo* (Drlica et al. 2017). Cette fenêtre de sélection favorise également les bactéries présentant des résistances croisées, des mécanismes de co-résistance et de co-régulation (Figure 7).



**Figure 7** : Différence entre la co-résistance, la cross-résistance et la co-régulation (Murray et al. 2024).

Comme indiqué sur la **Figure 7**, les mécanismes de résistances à des stress différents peuvent être associés sur un même plasmide et associés aux mêmes *loci*. En plus de permettre à la bactérie de diminuer les coûts de fitness liés à la conservation et l'expression d'un seul plasmide au lieu de deux, cela permet de diminuer les CSM des composés pour lesquels la résistance est exprimée (Gulberg et al. 2014). A l'échelle de la population bactérienne et notamment dans les biofilms, pour lesquels les transferts horizontaux de gènes sont facilités

et augmentés, la présence de plasmide de résistance dans un type de souche peut être bénéfique pour l'ensemble de la communauté (**Murray et al. 2021**). Enfin, d'autres mutations vont être moins coûteuses en énergie pour la bactérie que la réplication de plasmides (duplication chromosomique partielle ou augmentation du nombre de copies du gène de résistance) et sera plus susceptible de persister dans la population après traitement par désinfections ou antibiothérapie (**Sandegren et al. 2009**).

## B- Effet de la pollution de l'eau par d'autres produits pharmaceutiques dans l'antibiorésistance

La pollution de l'industrie pharmaceutique ne se résume pas aux antibiotiques. D'autres composés largement plus utilisés se retrouvent par conséquent en concentration beaucoup plus élevée dans les eaux usées et l'entièreté du cycle de l'eau. Certains de ces principes actifs font également partie des micropolluants à risque et dont la concentration est surveillée mais ce pour des raisons de toxicité directe. Leurs impacts sur les microorganismes étant beaucoup moins étudiés que ceux des antibiotiques, il n'existe pas autant d'informations concernant leur effet sur les risques infectieux et l'antibiorésistance (**Evgenidou et al. 2015**). Plusieurs médicaments font partie avec le sulfaméthoxazole de la liste des RSDE, dont la carbamazépine, le diclofénac, l'ibuprofène, le kétoprofène, l'oxazépam et le paracétamol. Pour ces différents micropolluants, des concentrations de l'ordre des 100 ng/L à 1 µg/L pour la carbamazépine sont retrouvées en sortie de station de traitement des eaux. Par ailleurs, tout comme les antibiotiques la question de l'impact des produits de dégradation se pose. Cette métabolisation dépend de nombreux facteurs comme la lipophilie ou la densité de la molécule, le pH de l'eau, la température ou encore la diversité microbienne dans l'environnement aquatique (**Monteiro et al. 2009**). En effet la principale voie de dégradation de ces produits est la biodégradation par les microorganismes présents dans le milieu aquatique (**Al-Khazrajy et al. 2018**). Ces principes actifs en plus de leur possible toxicité envers les bactéries peuvent dans certains cas représenter une source de carbone et également être un avantage pour certaines souches, comme c'est le cas pour *Pseudomonas aeruginosa* avec le paracétamol (**Wu et al. 2012**).

Parmi ces principes actifs cités dans la liste des RSDE, même si leur fonction principale n'est pas antibactérienne, certains présentent en plus une action antimicrobienne qui peut également influencer sur la CMI et ainsi impacter l'antibiorésistance dans le milieu aquatique.

L'activité antibactérienne de l'oxazepam sur *Pseudomonas aeruginosa* (**Berghot et al. 2003**) ou de l'ibuprofène sur *Staphylococcus aureus* par inhibition de la synthèse d'ADN (**Obad et al. 2015**) a par exemple déjà été étudié. Certains présentent également une activité anti-biofilm comme le Diclofénac (**Ferrer-Luque et al. 2021**) particulièrement importante dans le milieu aquatique. Enfin, il a été démontré que ces produits pharmaceutiques peuvent également favoriser la dissémination de gènes de résistances aux antibiotiques par conjugaison ou transformation (**Manaia et al. 2022**) dont la carbamazépine (**Wang et al. 2019**).

Ces études démontrant l'impact des médicaments non antimicrobiens sur la communauté bactérienne associées à l'augmentation croissante de leur concentration dans les eaux prouve la nécessité de plus en plus importante de comprendre les mécanismes et facteurs sur lesquels il est possible d'agir pour diminuer les risques infection dans le milieu aquatique.

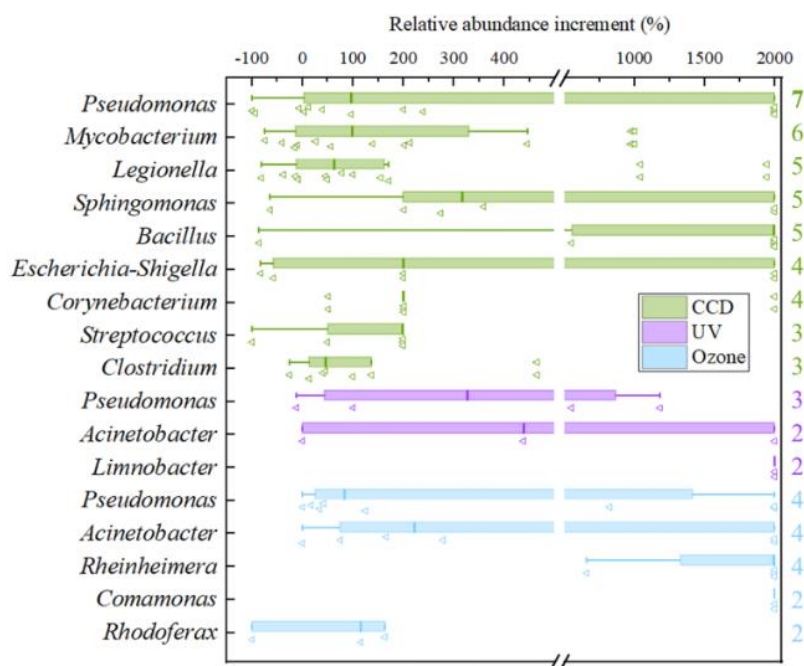
### III- Les mécanismes de résistances aux antibiotiques face aux stratégies de désinfections

Face à la pollution chimique du milieu aquatique, les bactéries présentant des mécanismes de résistances aux antibiotiques sont favorisées, tout comme l'émergence des gènes codant pour ces mécanismes. Les traitements de désinfections, utilisés comme solution contre ce risque microbiologiques font appel à ces mêmes mécanismes et leur utilisation en plus d'être moins efficace vont renforcer l'effet néfaste de la pollution pharmaceutique.

De plus, l'association de plusieurs stratégies de désinfections ne permet pas toujours de contrecarrer l'inefficacité des traitements. A titre d'exemple, l'effet synergique de l'ozonation et du chlore cité précédemment est inefficace sur *Mycobacterium* dont l'élimination est essentielle pour diminuer les risques microbiologiques (Li et al. 2017). Ces résistances peuvent être au niveau de la communauté bactérienne et ainsi liées à leur écologie, ou alors au niveau de la cellule et directement fonction de ces mécanismes de résistance ou de persistance.

#### A- L'impact des traitements sur les dynamiques des communautés bactériennes

Les traitements de désinfections quels qu'ils soient vont engendrer une modification de la communauté bactérienne, ainsi après chaque traitement, la composition de la communauté va évoluer, en fonction des caractéristiques de croissance et de résistance au traitement de chaque bactérie. Ainsi, la ré-augmentation de l'abondance de pathogènes opportunistes dans l'eau ne sera pas la même en fonction des traitements subis, et par conséquent les populations résultantes seront différentes (**Figure 8**).



**Figure 8** : Modification de l'abondance de bactéries opportunistes en fonction du traitement de désinfection utilisé (Wang et al. 2021).

A chaque étape du traitement des eaux, les pressions de sélection n'étant pas les mêmes, les bactéries majoritairement retrouvées vont également différer. L'étude de **Li et al. 2017** des différences d'abondances dans les communautés le long d'un processus de traitement des eaux a par exemple souligné que la population majoritaire des *Actinobacteria* avant traitement n'était pas la population majoritaire après chaque traitement. Les eaux traitées après ozonation contenaient majoritairement des *Gammaproteobacteria* (dont *enterobacter*, *Pseudomonas*, *Legionella*, *Vibrio*) dans l'eau et des *Acidobacteria* dans les biofilms. De plus, en suivant spécifiquement l'abondance de *Mycobacterium* et *Legionella*, on constate également une augmentation de l'abondance après ozonation, avec une augmentation encore plus marquée au niveau des biofilms.

Par ailleurs, la composition des populations bactériennes sortantes est également soumise à l'impact des populations bactériennes pouvant contaminer les unités de traitement des eaux. Il est possible que les unités de filtration soient colonisées et qu'une communauté microbienne au niveau du filtre se forme. Cette communauté, lors du passage des eaux en traitement va également pouvoir coloniser ces eaux traitées et ainsi modifier la structure de la communauté des eaux traitées (**Pinto et al. 2012**).

Ainsi, chaque modification d'abondance dans les populations est la résultante de la résistance au traitement utilisé. Pour un même processus d'ozonation, *Enterococci* peut être diminué de

99% alors que *Pseudomonas aeruginosa* ne sera quasiment pas impacté. Dans certains cas une caractéristique des populations non impactées se dessine, comme par exemple dans le cas de ce suivi, la survie de populations avec des ADN riche en GC (**Alexander et al. 2016**).

## B- Activation des gènes de résistances et des mécanismes de résistances croisées

Dans la même étude démontrant l'augmentation de l'abondance des bactéries riches en GC, il est également souligné qu'on observe une augmentation de l'abondance de gènes de résistance post-ozonation (**Alexander et al. 2016**). De façon similaire, après analyse métagénomique effectuée sur les eaux d'une station d'épuration, il semble que la chloration des eaux usées puisse être associée à l'enrichissement des gènes *ampC* et *tetA* codant pour des protéines conférant des résistances aux antibiotiques (**Shi et al. 2013**).

Ces observations soulèvent la question du rôle actif ou non de ces gènes de résistance dans l'augmentation de l'abondance des bactéries résistantes aux antibiotiques. *In vitro*, la comparaison de la résistance à l'ozonation de deux souches différenciées uniquement par l'expression de gènes de résistances aux antibiotiques a démontré une meilleure résistance dans le cas de la souche exprimant ces gènes de résistances (**Lüdedeke et al. 2014**). Elles soulignent également la possible implication de mécanisme de co-résistance sous-jacents. La formation de ROS après chloration ou ozonation peut être responsable de l'activation de réponses au stress dans la cellule, similaire à celles activées en réponse à un traitement antibiotique (**Han et al. 2017**). Cette réponse SOS activée par la présence des ROS augmente l'acquisition de résistance via l'augmentation de mutagénèses et de transfert de gène de résistance (**Maslowska et al. 2019**). A l'échelle cellulaire, cette augmentation du transfert de gène horizontal (HGT) s'explique par une augmentation de la perméabilité membranaire liée à l'action directe des désinfectants mais aussi en réponse au ROS via la sur-expression de gènes codant pour des protéines de la membrane externe et de gènes codant pour la réparation et l'intégration de l'ADN (**Zhang et al. 2021**). Ces modifications au niveau cellulaire associées à l'augmentation d'ADN contenant de gènes de résistance présents au niveau extracellulaire (provenant de bactéries tuées et lysées grâce aux désinfectants) sont une des explications de l'augmentation de gènes de résistances intracellulaire et de bactéries résistantes aux antibiotiques après ces traitements de désinfection (**Liu et al. 2018**).

De plus en fonction de l'utilisation de ces eaux et notamment si elles sont par la suite stockées avant utilisation, le facteur temps d'exposition peut également entrer en jeu. En effet, pour le cas de la conjugaison du plasmide RP4 pouvant être porteur de gène de résistance, l'augmentation du taux de conjugaison n'est observée qu'après 36 heures d'exposition au désinfectant chloré ou à ses produits de dégradation (Coa et al. 2024). Ce facteur est à prendre en compte dans le cas de traitement des eaux usées à des fins de réutilisation et dont une étape de stockage est fréquente. Ce cas de figure est d'autant plus important à prendre en compte pour l'étude de la résistance puisque dans ce milieu aquatique riche en source de carbone organique, le chlore et l'ozone peuvent également interagir avec ces sources de carbone, les dégrader et les rendre assimilables pour plus de bactéries, augmentant ainsi leur capacité de survie et de recroissance (Huang et al. 2020).

L'activation de la réponse SOS peut également engendrer l'expression de mécanismes de résistance généralistes dont les pompes à efflux, mécanisme de résistance au stress le plus rapide et le plus efficace (Du et al. 2018). L'expression de pompe MexEF-OprN a par exemple été observée chez *Pseudomonas aeruginosa* suite à un traitement chloré des eaux (Hou et al. 2019). De la même façon, des pompes à efflux de type MFS (Major Facilitator Superfamily) présentes chez *Acinetobacter baumannii* ont été associées à une co-résistance à des antibiotiques et des désinfectants (Rajamohan et al. 2010). Ces mécanismes de cross-résistance peuvent aussi être expliqués dans certains cas par le chevauchement de séquence codant pour des enzymes de détoxification et de séquence codant pour des pompes à efflux. Dans le cas de l'expression du régulateur de gènes antioxydant *oxyR*, le chevauchement de séquence engendre également l'expression de *soxRS*, activateur de l'expression de *acrAB* codant pour la pompe à efflux AcrAB responsable de résistances aux antibiotiques chez les *Enterobacteriaceae* (Chapman et al. 2003).

L'expression de gène codant pour ces pompes à efflux est d'autant plus intéressante qu'elle peut également engendrer la formation de biofilm (Kvist et al 2008). La délétion de AcrAB décrit précédemment engendre une diminution de la formation de biofilm chez *Acinetobacter nosocomialis* (Subhadra et al. 2018), *Salmonella enterica* (Baugh et al. 2012) et *E. coli* (Matsumura et al. 2011).

## C- La formation de biofilm comme mécanisme de persistance

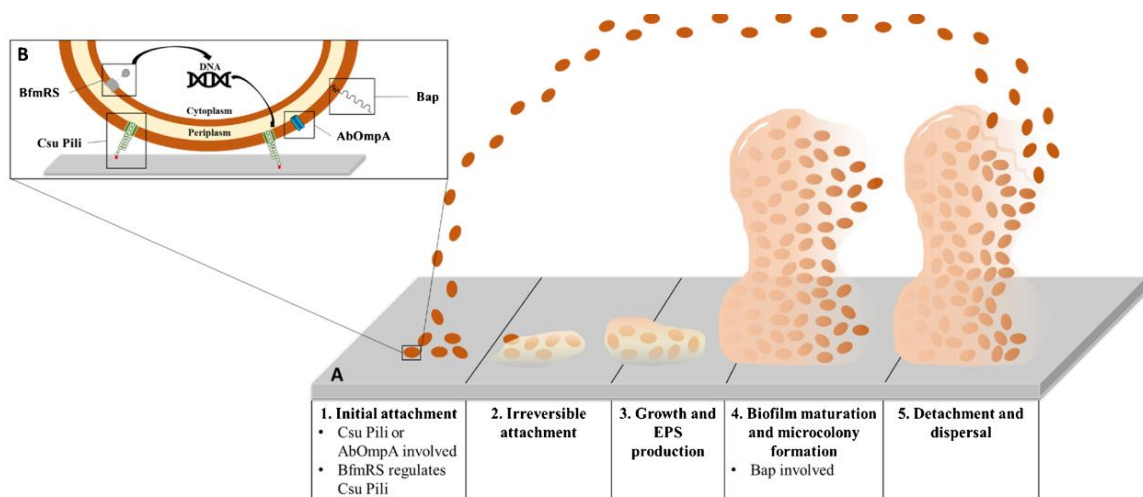
Comme vu précédemment, les communautés bactériennes retrouvées dans les eaux et les biofilms diffèrent. Cela souligne, au niveau des eaux traitées, un rôle important du biofilm pour



une partie de la population bactérienne présente, d'autant plus que la majorité des micro-organismes présents dans ces eaux usées sont sous forme de biofilm (Li et al. 2017). Il est en effet déjà connu que la formation de biofilm protège les bactéries de substances microbiennes, de traitement de désinfections et des radiations UV (Yin et al. 2019). En effet, le biofilm peut augmenter la résistance d'un pathogène à un antibiotique de 100 à 1000 fois comparé au pathogène sous forme planctonique (Qi et al. 2016).

La formation de biofilm peut donc être une réponse au stress engendré par le traitement des eaux. En présence de composés toxiques, on observe une plus forte production de substance polymérique extracellulaire suggérant une sécrétion de ces substances polymériques en réponse au stress (Aquino et al. 2004). Ainsi, les désinfectants, même à des doses sublétales (Chapman et al. 2003) vont sélectionner les bactéries sécrétant ces substances et à l'origine de la formation de biofilm (Sheng et al. 2010). Cette sécrétion de substance polymérique extracellulaire permet une protection des bactéries en complexant les polluants organiques (Sheng et al. 2010) et en dégradant les oxydants avant qu'ils atteignent les cellules cibles (Chen et al. 1996). Elle permet également d'améliorer l'adhésion du biofilm et de fournir aux bactéries présentes dans les couches les plus profondes et où les substances organiques sont plus rares, une source de carbone (Zhang et al. 2001).

En plus d'être impliquée dans la résistance aux traitements de l'eau, la formation de biofilm dans les eaux usées ou les eaux de distribution peut également augmenter l'abondance de bactéries et de gènes d'antibiorésistance dans ces eaux. Des mécanismes de co-régulation sont observés entre les gènes formant le biofilm et les gènes de résistance aux antibiotiques. Chez *A. baumannii* par exemple, la formation de biofilm est associée à l'expression de gènes régulateur du quorum sensing *Abal/AbaR*, l'expression de *AbOmpA* et *Csu* responsables de l'adhésion du biofilm ou encore l'expression du système de régulation à deux composantes *BfmRS* régulant l'expression de gènes de virulence et de gènes codant pour des  $\beta$ -lactamases (Mendes et al 2023). Enfin, le biofilm offre un environnement favorable au transfert de gènes de résistances et puisqu'il promeut la stabilité des plasmides, élargit le spectre d'hôte pour lesquels le plasmide est transférable, ce qui se traduit par un taux plus élevé de transfert de gènes dans le biofilm (Madsen et al. 2012).



**Figure 9 : Facteurs de virulence chez *A. baumannii* associés à la formation du biofilm (Mendes et al. 2023)**

Enfin, les populations bactériennes sous formes de biofilms, en plus de pouvoir limiter l'impact des différentes stratégies de désinfections, vont également pouvoir interagir dans ces eaux avec les autres micro-organismes et notamment les amibes qui peuvent, pour les bactéries résistantes à leur prédation, représenter une autre stratégie de résistance au traitement de l'eau (Gomes et al. 2016).

## D- Les amibes comme niche, vecteur et stratégie de résistance pour les pathogènes opportunistes

Les amibes sont des organismes eucaryotes pouvant survivre sous forme de kyste à des modifications de température, de pH et à des traitements de désinfections ou autres biocides (Thomas et al. 2008). Ces amibes sont prédatrices des bactéries, cependant dans certains cas, on retrouve des bactéries résistantes à leur prédation et pour lesquelles elles servent alors de niche de réplication bactérienne (Greub et al. 2004). Ce mode de vie intra-amibien peut être essentiel pour la multiplication comme c'est le cas pour *Legionella* ou pour la survie hors de l'hôte comme pour *Campylobacter jejuni*, tous deux pathogènes de l'Homme (Vaerewick et al. 2014).

A l'échelle d'un plan de traitement des eaux, ces amibes sont retrouvées à toutes les étapes de traitement, avec une plus forte prévalence dans les zones où le développement de biofilm est plus important (notamment les zones de filtration). Dans 16% des cas des bactéries intra-

amibiennes étaient également observées dans ces amibes (**Thomas et al. 2008**). Dans le cas de *Legionella* on observe par exemple le long de la chaîne de traitement des eaux, une diminution de son abondance dans l'eau mais associée à une augmentation de la proportion d'amibes hébergeant *Legionella* (**Gomes et al. 2020**).

Ces bactéries sont ensuite transmissibles à l'Homme à travers les aérosols formés. Les amibes servent ainsi de véhicules à ces pathogènes de l'Homme en augmentant le taux de transmission et en protégeant même *in vivo* les pathogènes de l'immunité spécifique du système immunitaire. Cette stratégie de cheval de Troie, utilisée par *L. pneumophila* et *M. avium* s'ajoute au fait que ces bactéries, pouvant survivre dans les amibes, ont également la capacité de survivre dans d'autres cellules comme les macrophages humains (**Greub et al. 2004**).

## E- La stratégie de dormance cellulaire

L'efficacité des différents procédés de désinfections est évaluée en fonction de la diminution du nombre d'UFC pour 100L d'eau. Cette évaluation, en plus de ne pas cibler l'ensemble des micro-organismes pouvant représenter un risque pour la santé humaine, animale et environnemental présente également un biais technique puisqu'elle ne permet pas de prendre en compte les bactéries viables mais non cultivables ou VBNC (Viable But Non Culturable Cells). Parmi ces VBNC, certaines bactéries pathogènes comme *Mycobacterium avium* peuvent déclencher cet état de dormance en réponse passive au stress lié à la désinfection chlorée. Cette croissance bactérienne plus lente permet ainsi à *M. avium* d'être dix fois plus résistant au traitement chloré (**Taylor et al. 2000**). Cette réponse passive à un traitement antibiotique ou de désinfection n'empêche pas le principe actif d'atteindre sa cible mais rend son action inefficace en raison des voies métaboliques en dormance en aval de la cible.

Dans les stations de traitement d'eau, après traitement chloré, une augmentation du nombre de bactéries en stade de dormance est observée. Cette réaction est également associée à une augmentation de la résistance aux antibiotiques et une up-régulation de gènes de résistance aux stress et aux antibiotiques chez ces cellules dormantes (**Lin et al. 2017**). Ces cellules dormantes activent et conservent l'expression de gènes de résistances et l'expression générale des pompes à efflux, tout en inhibant le reste des voies métaboliques. Grâce à l'expression de ces pompes à efflux, comme *toxC*, ces cellules en dormance dites persisters accumulent moins d'antibiotiques que des cellules inhibant l'entièreté de ces voies métaboliques ce qui diminue davantage l'efficacité des traitements de désinfection ou des traitements antibiotiques (**Pu et al. 2016**).

# Conclusion

La problématique des risques infectieux bactériens en milieu aquatique est un sujet mêlant un des plus grands défis de santé publique pour les années à venir, et la problématique de la ressource en eau. La demande en eau potable allant dépasser de 40% l'offre d'ici 2030 (**Commission Européenne, 2024**), cette ressource doit être la plus sûre possible et par conséquent protégée au mieux de toutes pollutions humaines. Les réglementations et mesures mises en place ont ainsi pour but d'éliminer au maximum les polluants présents dans le milieu aquatique et de diminuer les risques pour l'Homme dont les risques microbiologiques. Cependant, le manque de connaissances concernant i) les risques microbiologiques présents, ii) l'ensemble des facteurs impactant ce risque, iii) l'optimisation des traitements de ces eaux, ne permet pas à ce jour de proposer une stratégie optimale pour la gestion de ces risques microbiologiques.

Par ailleurs, le milieu aquatique est intrinsèquement lié à la santé de l'Homme mais aussi à son activité, dont l'activité pharmaceutique. Cette pollution pharmaceutique est une pression de sélection supplémentaire sur les communautés bactériennes du milieu aquatique et joue par conséquent un rôle dans l'émergence de ces risques (**Besse et al. 2008**). La pollution liée à la présence de composés antimicrobiens engendre une pression de sélection suffisante pour modifier la communauté bactérienne mais insuffisante pour avoir un effet aussi efficace que lors d'une antibiothérapie, ce qui crée un cadre idéal pour le développement de bactéries résistantes et l'émergence de gènes de résistance (**Murray et al. 2019**). A cette pollution s'ajoute celle due aux médicaments non antimicrobiens polluant également le milieu aquatique. Le rôle de ces polluants sur le risque microbiologique est plus insidieux puisque leur mode d'action sur les micro-organismes rend la prédiction de leur toxicité et de leurs effets difficiles à appréhender (**Cooper et al. 2008**).

Pour diminuer ce risque microbiologique, les traitements de désinfection utilisent des voies similaires à celles des traitements thérapeutiques et par conséquent, les mécanismes de résistances se croisent également. Ces stratégies peuvent être à l'échelle de la communauté, associées à d'autres micro-organismes du milieu aquatique dont les amibes, ou liées aux mécanismes de résistance intrinsèque de chaque bactérie. Ces mécanismes propres à chaque souche peuvent modifier le mode de vie de la cellule mais aussi être bénéfiques à d'autres bactéries de la communauté via une stratégie de protection commune comme la formation de biofilm ou via le partage des mécanismes de résistance à travers le transfert de gène.

Pour conclure, la gestion des risques bactériens en milieu aquatique et l'impact que peut avoir la pollution pharmaceutique sur ces risques est un sujet en pleine expansion. Des avancées doivent se faire sur le plan de la recherche fondamentale, sur le développement de nouveaux procédés dans l'industrie, sur la gestion de la prescription de médicaments antimicrobiens, ainsi qu'au niveau réglementaire. Le rôle du pharmacien, présent dans ces quatre domaines est donc central dans cette thématique et permet grâce à son large panel d'action, le développement de solutions.

# Références

Al-Khazrajy OSA, Bergström E, Boxall ABA. Factors affecting the dissipation of pharmaceuticals in freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2018;37(3):829-38.

Alexander J, Knopp G, Dötsch A, Wieland A, Schwartz T. Ozone treatment of conditioned wastewater selects antibiotic resistance genes, opportunistic bacteria, and induce strong population shifts. *Science of The Total Environment*. 15 juill 2016;559:103-12.

Aquino SF, Stuckey DC. Soluble microbial products formation in anaerobic chemostats in the presence of toxic compounds. *Water Research*. 1 janv 2004;38(2):255-66.

Arrêté du 26 mars 2012 relatif aux facultés de dispense d'adhésion à des systèmes de prévoyance collectifs et obligatoires mis en place dans les entreprises.

Arrêté du 25 juin 2014 modifiant l'arrêté du 2 août 2010 relatif à l'utilisation d'eaux issues du traitement d'épuration des eaux résiduaires urbaines pour l'irrigation de cultures ou d'espaces verts.

Arrêté du 28 juillet 2022 relatif au dossier de demande d'autorisation d'utilisation des eaux usées traitées.

Asano T. *Wastewater Reclamation and Reuse: Water Quality Management Library*. CRC Press; 1998. 1570 p.

Baugh S, Ekanayaka AS, Piddock LJV, Webber MA. Loss of or inhibition of all multidrug resistance efflux pumps of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium results in impaired ability to form a biofilm. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1 oct 2012;67(10):2409-17.

Berghot MA, Moawad EB. Convergent synthesis and antibacterial activity of pyrazole and pyrazoline derivatives of diazepam. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. oct 2003;20(2):173-9.

Besse JP, Garric J. Human pharmaceuticals in surface waters: Implementation of a prioritization methodology and application to the French situation. *Toxicology Letters*. 30 janv 2008;176(2):104-23.

Bilal M, Mehmood S, Rasheed T, Iqbal HMN. Antibiotics traces in the aquatic environment: persistence and adverse environmental impact. *Curr Opin Environ Sci Health*. févr 2020;13:68-74.

Bonetta S, Pignata C, Gasparro E, Richiardi L, Bonetta S, Carraro E. Impact of wastewater treatment plants on microbiological contamination for evaluating the risks of wastewater reuse. *Environ Sci Eur*. déc 2022;34(1):20.

Boutin C, Héduit A, Helmer JM. Technologies d'épuration en vue d'une réutilisation des eaux usées traitées (REUT).

Brooke JS. Advances in the Microbiology of *Stenotrophomonas maltophilia*. Clin Microbiol Rev. juill 2021;34(3):e00030-19.

Cao J, Xue B, Yang S, Yang X, Zhang X, Qiu Z, et al. Chlorite and bromate alter the conjugative transfer of antibiotic resistance genes: Co-regulation of oxidative stress and energy supply. Journal of Hazardous Materials. juin 2024;471:134257.

Chapman JS. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance. International Biodeterioration & Biodegradation. 1 juin 2003;51(4):271-6.

Chen X, Stewart PS. Chlorine Penetration into Artificial Biofilm Is Limited by a Reaction-Diffusion Interaction. Environ Sci Technol. 1 mai 1996;30(6):2078-83.

Colomb-Cotinat DM. Morbidité et mortalité des infections à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques en France en 2012 : Etude Burden-BMR. 2012

Cooper ER, Siewicki TC, Phillips K. Preliminary risk assessment database and risk ranking of pharmaceuticals in the environment. Science of The Total Environment. 15 juill 2008;398(1):26-33.

Ding W, Jin W, Cao S, Zhou X, Wang C, Jiang Q, et al. Ozone disinfection of chlorine-resistant bacteria in drinking water. Water Research. 1 sept 2019;160:339-49.

Directive 98/83/CE du Conseil du 3 novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine [Internet]. OJ L nov 3, 1998.

Doron S, Gorbach SL. Bacterial Infections: Overview. International Encyclopedia of Public Health. 26 août 2008;273.

Drlica K, Zhao X. Mutant selection window hypothesis updated. Clin Infect Dis. 1 mars 2007;44(5):681-8.

Du D, Wang-Kan X, Neuberger A, van Veen HW, Pos KM, Piddock LJV, et al. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. Nat Rev Microbiol. sept 2018;16(9):523-39.

Evgenidou EN, Konstantinou IK, Lambropoulou DA. Occurrence and removal of transformation products of PPCPs and illicit drugs in wastewaters: A review. Science of The Total Environment. 1 févr 2015;505:905-26.

Falkinham JO, Norton CD, LeChevallier MW. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, and other mycobacteria in drinking water distribution systems. Appl Environ Microbiol. mars 2001;67(3):1225-31.

Falkinham JO, Hilborn ED, Arduino MJ, Pruden A, Edwards MA. Epidemiology and Ecology of Opportunistic Premise Plumbing Pathogens: *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium avium*, and *Pseudomonas aeruginosa*. Environ Health Perspect. août 2015;123(8):749-58.

Falkinham JO, Pruden A, Edwards M. Opportunistic Premise Plumbing Pathogens: Increasingly Important Pathogens in Drinking Water. Pathogens. juin 2015;4(2):373-86.

Feazel LM, Baumgartner LK, Peterson KL, Frank DN, Harris JK, Pace NR. Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. Proceedings of the National Academy of Sciences. 22 sept 2009;106(38):16393-9.

Felis E, Kalka J, Sochacki A, Kowalska K, Bajkacz S, Harnisz M, et al. Antimicrobial pharmaceuticals in the aquatic environment - occurrence and environmental implications. European Journal of Pharmacology. janv 2020;866:172813.

Ferreira S, Queiroz JA, Oleastro M, Domingues FC. Insights in the pathogenesis and resistance of *Arcobacter*: A review. Crit Rev Microbiol. mai 2016;42(3):364-83.

Ferrer-Luque CM, Baca P, Solana C, Rodríguez-Archilla A, Arias-Moliz MT, Ruiz-Linares M. Antibiofilm Activity of Diclofenac and Antibiotic Solutions in Endodontic Therapy. Journal of Endodontics. 1 juill 2021;47(7):1138-43.

Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2022  
<https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702>

Gomes TS, Vaccaro L, Magnet A, Izquierdo F, Ollero D, Martínez-Fernández C, et al. Presence and interaction of free-living amoebae and amoeba-resisting bacteria in water from drinking water treatment plants. Science of The Total Environment. 1 juin 2020;719:137080.

Greub G, Raoult D. Microorganisms Resistant to Free-Living Amoebae. Clinical Microbiology Reviews. avr 2004;17(2):413-33.

Gullberg E, Cao S, Berg OG, Ilback C, Sandegren L, Hughes D, et al. Selection of Resistant Bacteria at Very Low Antibiotic Concentrations. PLoS Pathog. juill 2011;7(7):e1002158.

Gullberg E, Albrecht LM, Karlsson C, Sandegren L, Andersson DI. Selection of a Multidrug Resistance Plasmid by Sublethal Levels of Antibiotics and Heavy Metals. mBio. 7 oct 2014;5(5):10.1128/mbio.01918-14.

Haas CN, Rose JB, Gerba C, Regli S. Risk Assessment of Virus in Drinking Water. Risk Analysis. 1993;13(5):545-52.

Haenni M, Dagot C, Chesneau O, Bibbal D, Labanowski J, Vialette M, et al. Environmental contamination in a high-income country (France) by antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes: Status and possible causes. Environment International. 15 janv 2022;159:107047.



Han X, Wang Z, Chen M, Zhang X, Tang CY, Wu Z. Acute Responses of Microorganisms from Membrane Bioreactors in the Presence of NaOCl: Protective Mechanisms of Extracellular Polymeric Substances. *Environ Sci Technol*. 21 mars 2017;51(6):3233-41.

Hardalo C, Edberg SC. *Pseudomonas aeruginosa*: Assessment of Risk from Drinking Water. *Critical Reviews in Microbiology*. 1 janv 1997;23(1):47-75.

Hernando-Amado S, Coque TM, Baquero F, Martínez JL. Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nat Microbiol*. 22 août 2019;4(9):1432-42.

Hou A ming, Yang D, Miao J, Shi D yang, Yin J, Yang Z wei, et al. Chlorine injury enhances antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* through over expression of drug efflux pumps. *Water Research*. 1 juin 2019;156:366-71.

Huang G, Ng TW, Chen H, Chow AT, Liu S, Wong PK. Formation of assimilable organic carbon (AOC) during drinking water disinfection: A microbiological prospect of disinfection byproducts. *Environment International*. 1 févr 2020;135:105389.

Jarlier V, Nikaido H. Mycobacterial cell wall: Structure and role in natural resistance to antibiotics. *FEMS Microbiology Letters*. 1 oct 1994;123(1-2):11-8.

Jjemba PK, Johnson W, Bukhari Z, LeChevallier MW. Occurrence and Control of *Legionella* in Recycled Water Systems. *Pathogens*. sept 2015;4(3):470-502.

Johansen MD, Herrmann JL, Kremer L. Non-tuberculous mycobacteria and the rise of *Mycobacterium abscessus*. *Nat Rev Microbiol*. juill 2020;18(7):392-407.

Kvist M, Hancock V, Klemm P. Inactivation of Efflux Pumps Abolishes Bacterial Biofilm Formation. *Applied and Environmental Microbiology*. déc 2008

Kruse EB, Wehner A, Wisplinghoff H. Prevalence and distribution of *Legionella* spp in potable water systems in Germany, risk factors associated with contamination, and effectiveness of thermal disinfection. *American Journal of Infection Control*. 1 avr 2016;44(4):470-4.

Le Dantec C, Duguet JP, Montiel A, Dumoutier N, Dubrou S, Vincent V. Occurrence of mycobacteria in water treatment lines and in water distribution systems. *Appl Environ Microbiol*. nov 2002;68(11):5318-25.

Loret JF, Jousset M, Robert S, Saucedo G, Ribas F, Thomas V, et al. Amoebae-resisting bacteria in drinking water: risk assessment and management. *Water Science and Technology*. 1 août 2008;58(3):571-7.

Li Q, Yu S, Li L, Liu G, Gu Z, Liu M, et al. Microbial Communities Shaped by Treatment Processes in a Drinking Water Treatment Plant and Their Contribution and Threat to Drinking Water Safety. *Front Microbiol*. 12 déc 2017

Lin H, Ye C, Chen S, Zhang S, Yu X. Viable but non-culturable *E. coli* induced by low level chlorination have higher persistence to antibiotics than their culturable counterparts. *Environmental Pollution*. 1 nov 2017;230:242-9.

Liu SS, Qu HM, Yang D, Hu H, Liu WL, Qiu ZG, et al. Chlorine disinfection increases both intracellular and extracellular antibiotic resistance genes in a full-scale wastewater treatment plant. *Water Research*. juin 2018;136:131-6.

Lüddecke F, Heß S, Gallert C, Winter J, Güde H, Löffler H. Removal of total and antibiotic resistant bacteria in advanced wastewater treatment by ozonation in combination with different filtering techniques. *Water Research*. 1 févr 2015;69:243-51.

Madsen JS, Burmølle M, Hansen LH, Sørensen SJ. The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 1 juill 2012;65(2):183-95.

Manaia CM. Assessing the Risk of Antibiotic Resistance Transmission from the Environment to Humans: Non-Direct Proportionality between Abundance and Risk. *Trends Microbiol*. mars 2017;25(3):173-81.

Manaia C, Aga D, Cytryn E, Gaze W, Graham D, Guo J, et al. The Complex Interplay Between Antibiotic Resistance and Pharmaceutical and Personal Care Products in the Environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 1 déc 2022;

Masłowska KH, Makiela-Dzbenka K, Fijałkowska IJ. The SOS system: A complex and tightly regulated response to DNA damage. *Environ Mol Mutagen*. mai 2019;60(4):368-84.

Matsumura K, Furukawa S, Ogihara H, Morinaga Y. Roles of Multidrug Efflux Pumps on the Biofilm Formation of *Escherichia coli* K-12. *Biocontrol Science*. 2011;16(2):69-72.

Mendes SG, Combo SI, Allain T, Domingues S, Buret AG, Da Silva GJ. Co-regulation of biofilm formation and antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: from mechanisms to therapeutic strategies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1 déc 2023;42(12):1405-23.

Monteiro SC, Boxall ABA. Factors Affecting the Degradation of Pharmaceuticals in Agricultural Soils. *Environ Toxicol Chem*. déc 2009;28(12):2546-54.

Moreno-Mesonero L, Moreno Y, Luis Alonso J, Antonia Ferrus M. DVC-FISH and PMA-qPCR techniques to assess the survival of *Helicobacter pylori* inside *Acanthamoeba castellanii*. *Res Microbiol*. janv 2016;167(1):29-34.

Murray AK, Zhang L, Snape J, Gaze WH. Comparing the selective and co-selective effects of different antimicrobials in bacterial communities. *Int J Antimicrob Agents*. juin 2019;53(6):767-73.

Murray AK, Stanton I, Gaze WH, Snape J. Dawning of a new ERA: Environmental Risk Assessment of antibiotics and their potential to select for antimicrobial resistance. *Water Research*. 15 juill 2021;200:117233.

Murray LM, Hayes A, Snape J, Kasprzyk-Hordern B, Gaze WH, Murray AK. Co-selection for antibiotic resistance by environmental contaminants. *npj Antimicrob Resist*. 1 avr 2024;2(1):1-13.

Obad J, Šušković J, Kos B. Antimicrobial activity of ibuprofen: New perspectives on an “Old” non-antibiotic drug. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. avr 2015;71:93-8.

O’Neill, J. (2016) ‘Tackling Drug Resistant Infections Globally : Final Report and Recommendations’, Review on Antimicrobial Resistance.

Pinto AJ, Xi C, Raskin L. Bacterial Community Structure in the Drinking Water Microbiome Is Governed by Filtration Processes. *Environ Sci Technol*. 21 août 2012;46(16):8851-9.

Pu Y, Zhao Z, Li Y, Zou J, Ma Q, Zhao Y, et al. Enhanced Efflux Activity Facilitates Drug Tolerance in Dormant Bacterial Cells. *Molecular Cell*. 21 avr 2016;62(2):284-94.

Qi L, Li H, Zhang C, Liang B, Li J, Wang L, et al. Relationship between Antibiotic Resistance, Biofilm Formation, and Biofilm-Specific Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol*. 12 avr 2016

Rajamohan G, Srinivasan VB, Gebreyes WA. Molecular and functional characterization of a novel efflux pump, *AmvA*, mediating antimicrobial and disinfectant resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 1 sept 2010;65(9):1919-25.

Ribas F, Perramon J, Terradillos A, Frias J, Lucena F. The *Pseudomonas* group as an indicator of potential regrowth in water distribution systems. *Journal of Applied Microbiology*. 1 avr 2000;88(4):704-10.

Sandegren L, Andersson DI. Bacterial gene amplification: implications for the evolution of antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*. août 2009;7(8):578-88.

Singer AC, Shaw H, Rhodes V, Hart A. Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2016 [cité 19 oct 2023];7.

Sheng GP, Yu HQ, Li XY. Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances*. 1 nov 2010;28(6):882-94.

Shi P, Jia S, Zhang XX, Zhang T, Cheng S, Li A. Metagenomic insights into chlorination effects on microbial antibiotic resistance in drinking water. *Water Research*. janv 2013;47(1):111-20.

Subhadra B, Kim J, Kim DH, Woo K, Oh MH, Choi CH. Local Repressor AcrR Regulates AcrAB Efflux Pump Required for Biofilm Formation and Virulence in *Acinetobacter nosocomialis*. *Front Cell Infect Microbiol*. 7 août 2018

Taylor RH, Falkinham JO, Norton CD, LeChevallier MW. Chlorine, Chloramine, Chlorine Dioxide, and Ozone Susceptibility of *Mycobacterium avium*. *Applied and Environmental Microbiology*. avr 2000;66(4):1702-5.

Thomas V, Bouchez T, Nicolas V, Robert S, Loret JF, Lévi Y. Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in *Legionella* persistence. *Journal of Applied Microbiology*. 1 nov 2004;97(5):950-63.

Thomas V, Loret JF, Jousset M, Greub G. Biodiversity of amoebae and amoebae-resisting bacteria in a drinking water treatment plant. *Environmental Microbiology*. oct 2008;10(10):2728-45.

Vaerewijck MJM, Baré J, Lambrecht E, Sabbe K, Houf K. Interactions of Foodborne Pathogens with Free-living Protozoa: Potential Consequences for Food Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2014;13(5):924-44.

Van Driessche E, Houf K. Survival capacity in water of *Arcobacter* species under different temperature conditions. *J Appl Microbiol*. août 2008;105(2):443-51.

Wallet F, Emery C, Briand E, Cabanes PA. Prevalence of *Legionella* in domestic hot water systems in homes in France. *Environ Risque Sante*. févr 2016;15(1):29-38.

Wang Y, Lu J, Mao L, Li J, Yuan Z, Bond PL, et al. Antiepileptic drug carbamazepine promotes horizontal transfer of plasmid-borne multi-antibiotic resistance genes within and across bacterial genera. *ISME J*. févr 2019;13(2):509-22.

Wang HB, Wu YH, Luo LW, Yu T, Xu A, Xue S, et al. Risks, characteristics, and control strategies of disinfection-residual-bacteria (DRB) from the perspective of microbial community structure. *Water Research*. 1 oct 2021;204:117606.

Webb AL, Taboada EN, Selinger LB, Boras VF, Inglis GD. Efficacy of wastewater treatment on *Arcobacter butzleri* density and strain diversity. *Water Research*. nov 2016;105:291-6.

World Health Organization. Potable reuse: guidance for producing safe drinking-water [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2017 : <https://iris.who.int/handle/10665/258715>

WHO 2019 - Burden of disease attributable to unsafe drinking-water, sanitation and hygiene: 2019 update : <https://www.who.int/publications/i/item/9789240075610>

World Health Organization, éditeur. Guidelines for drinking-water quality. Fourth edition incorporating the first and second addenda. Geneva: World Health Organization; 2022.

WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance : <https://www.who.int/publications/i/item/9789240093461>

Wolf J, Johnston RB, Ambelu A, Arnold BF, Bain R, Brauer M, et al. Burden of disease attributable to unsafe drinking water, sanitation, and hygiene in domestic settings: a global analysis for selected adverse health outcomes. *The Lancet*. 17 juin 2023;401(10393):2060-71.

Wu S, Zhang L, Chen J. Paracetamol in the environment and its degradation by microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1 nov 2012;96(4):875-84.

Yang B, Kong X, Cui B, Jin D, Deng Y, Zhuang X, et al. Impact of Rural Domestic Wastewater Irrigation on the Physicochemical and Microbiological Properties of Pakchoi and Soil. *Water*. mai 2015;7(5):1825-39.

Yin W, Wang Y, Liu L, He J. Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. *International Journal of Molecular Sciences*. janv 2019;20(14):3423.

Zahar JR, Jolivet S, Adam H, Dananché C, Lizon J, Alfandari S, et al. Quelles mesures pour maîtriser le risque infectieux chez les patients immunodéprimés ? Recommandations formalisées d’experts. *Journal de Mycologie Médicale*. déc 2017;27(4):449-56.

Zambrano MM (2023) ‘Interplay Between Antimicrobial Resistance and Global Environment Change’, *Annual Review of Genetics* 57, pp. 275-296.

Zhang X, Bishop PL. Spatial Distribution of Extracellular Polymeric Substances in Biofilms. *Journal of Environmental Engineering*. 1 sept 2001;127(9):850-6.

Zhang S, Wang Y, Lu J, Yu Z, Song H, Bond PL, et al. Chlorine disinfection facilitates natural transformation through ROS-mediated oxidative stress. *The ISME Journal*. 1 oct 2021;15(10):2969-85.

## **RESUME**

Les risques infectieux bactériens pour l'Homme peuvent provenir de différents environnements, dont le milieu aquatique. Ce milieu est soumis à de nombreux facteurs de pollution pouvant augmenter ces risques en favorisant la croissance de bactéries résistantes aux antibiotiques et l'émergence de gènes de résistance aux antibiotiques. Pour limiter ces risques des réglementations sont mises en place à différentes échelles jusqu'à l'échelle locale avec le traitement des eaux pour potabilisation ou avant rejet dans l'environnement. Cependant, les directives définies et les différentes stratégies de désinfections ne sont pas optimales. D'un côté le risque infectieux n'est pas assez bien caractérisé et est sous-estimé par les réglementations, de l'autre les traitements de désinfections font face à des mécanismes de résistances, également favorisés par la pollution des eaux. La présence de polluants pharmaceutiques ayant ou non fonction première des capacités antimicrobiennes, impacte l'émergence de résistances bactériennes et augmente ainsi ces risques infectieux. Les mécanismes de résistances de ces bactéries peuvent passer par une modification de la communauté, la modification du mode de vie de la cellule ou le partage de résistances au sein de la communauté bactérienne. Ce sont des mécanismes de résistances généralistes qui confèrent un avantage à ces bactéries dans le cas du traitement des eaux, dans le milieu aquatique en présence de l'accumulation de divers polluants ou dans le cas d'une antibiothérapie chez le patient. L'augmentation de ces résistances pouvant subvenir à différents niveaux et dans différents milieux, le rôle du pharmacien de par sa présence dans une pluralité de domaines est essentiel afin de limiter au mieux le plus ample développement de ces risques.

---

### **The control of infectious risks in the aquatic environment and the impact of pharmaceutical activity**

Bacterial infectious risk come from a variety of environment, including the aquatic environment. This environment is subject to various pollution factors that can increase these risks by enhancing the growth of antibiotic-resistant bacteria and the emergence of antibiotic resistance genes. To reduce these risks, legislations have been implemented at various levels, including at the local scale for potabilisation and wastewater treatment. However, these guidelines and actual disinfections processes are not optimised. On the one hand, the infectious risks are not sufficiently well characterised as it underestimates a part of the risks; on the other, disinfection treatments are confronted to resistance mechanisms, which are also promoted by water pollution. The prevalence of pharmaceutical pollutants which have or not antimicrobial properties as main function, enhance the emergence of bacterial resistance, thereby increasing infectious risks. Bacterial resistance mechanisms involve changes in the bacterial community, changes in the bacterial lifestyle and transfer of resistance gene within the bacterial population. These general resistance mechanisms provide advantages in the case of water treatment, in the presence of pollutant accumulation within the water environment or in the case of antibiotic therapy in patients. Since the increase in resistance can occur at different stages within the environment, the role of pharmacists, through his role in various fields, is essential in order to limit the development of these risks as effectively as possible.

---

## **DISCIPLINE administrative : Pharmacie - Microbiologie**

---

## **MOTS-CLES : Milieu aquatique - Infections bactériennes - Résistances - Traitement de l'eau - Pollution pharmaceutique**

---

## **INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :**

Laboratoire de Génie Chimique - UMR 5503 | Département BioSyM  
Faculté de Pharmacie - 35 Chemin des Maraîchers - 31062 Toulouse Cedex 9, France

**Directeur de thèse : Pilloux Ludovic**