



Pilar Junier¹, Christophe Paul¹, Thomas Junier^{1,2}

Le microbiote du sédiment: une approche novatrice pour tracer la consommation passée d'antibiotiques

La découverte des antibiotiques comme moyen de lutte contre les infections bactériennes fait partie des grands succès médicaux du XX^e siècle. La pénicilline a été d'une telle importance pour l'humanité qu'elle a conduit à l'octroi de deux Prix Nobel, d'abord à l'équipe responsable de sa production (1945, Prix Nobel de médecine), ensuite à la chimiste ayant élucidé sa structure (1964, Prix Nobel de chimie).

Grace aux antibiotiques ...

D'importantes avancées dans divers traitements médicaux ont été rendues possibles grâce aux antibiotiques (Martí et al. 2014). Malheureusement, ce succès est actuellement éclipsé par l'augmentation de la fréquence des micro-organismes résistants aux traitements. L'émergence et la multiplication d'organismes résistants à la plupart des agents thérapeutiques couramment utilisés fait planer une me-

la science. Nous pouvons encore aujourd'hui en tirer de nombreux enseignements: l'importance des découvertes inattendues et celle de la communication avec le grand public dans le domaine scientifique, le rôle des interactions biologiques dans l'émergence de phénomènes complexes, la valeur ajoutée du travail interdisciplinaire, la place centrale de l'écologie chimique dans l'intégration des différents niveaux biologiques, ou encore celle de la sélection naturelle dans l'évolution microbienne, entre autres. Pour toutes ces raisons, la recherche de solutions à la crise actuelle des antibiotiques pourrait bénéficier d'un regard critique et intégratif sur le passé. La résistance à un antibiotique peut apparaître spontanément, mais il est généralement accepté qu'une telle résistance engendre un coût évolutif important pour l'organisme. Par conséquent, une augmentation de la fréquence des résistances est associée à une forte pression de sélection, par exemple via l'augmentation de l'utilisation d'un antibiotique donné (Bengtsson-Palme et al. 2018). On s'attend par conséquent à une augmentation de la fréquence des gènes de résistance détectés tant dans les milieux hospitaliers que naturels, liée à l'histoire d'utilisation. De nombreux indices confirment une telle augmentation dans les milieux hospitaliers, mais ils sont plus rares dans le cas des milieux naturels. Etudier l'effet de l'utilisation des antibiotiques sur le réservoir environnemental de gènes de résistance au cours du temps pose un certain nombre de problèmes méthodologiques. L'étude des communautés bactériennes envi-

ronnementales inclut des méthodes métagénomiques, c'est-à-dire en analysant le matériel génétique (ADN) extrait d'échantillons environnementaux. Dans le cas d'échantillons anciens, un des problèmes principaux consiste à trouver des échantillons naturels datables suffisamment bien conservés, ayant subi un minimum de modifications/dégradation suite à leur formation. Ces conditions sont remplies par exemple par deux séries de sols récoltés au Pays-Bas et au Danemark sur plusieurs années. Ces sols ont permis de mettre en évidence une corrélation entre l'utilisation passée d'antibiotiques et l'augmentation de la fréquence des gènes de résistance, dans deux études indépendantes (Graham et al. 2016; Knapp et al. 2010).

La recherche aux archives naturelles

Récemment, nous avons utilisé des carottes de sédiments pour démontrer comment ces archives naturelles peuvent contribuer à l'étude passée des résistances aux antibiotiques. Les sédiments se forment par couches successives (dépôt de matière minérale et organique). Ils constituent des archives environnementales chronologiques dans lesquelles s'accumulent des marqueurs chimiques et biologiques qui peuvent par la suite être récupérés et analysés (Thevenon et al. 2012). L'utilisation de sédiments n'est pas sans faille car ces signaux biologiques ne se préservent pas de la même façon pour tous les organismes. Pour cette raison, des études actuelles ciblent l'ADN extrait à partir de structures de survie (spores) produites par certaines

«Un inventaire incluant des marqueurs pour différentes classes d'antibiotiques permettrait de mieux évaluer le réservoir environnemental de gènes de résistance.»

nance sur l'avenir de l'humanité, d'autant plus que la mise sur le marché de nouveaux agents thérapeutiques s'est fortement ralentie ces dernières années. La résistance croissante des organismes soulève également la question de leur dissémination et leur destin environnemental; les transferts entre microbiome humain et environnements naturels et réciproquement, et les échanges de gènes entre organismes pathogènes et environnementaux.

Profiter du passé

L'histoire de la découverte de la pénicilline est un exemple fascinant pour

1 Laboratoire de microbiologie, Université de Neuchâtel

2 Vital-IT, Institut suisse de bioinformatique



bactéries, structures résistantes à la dégradation favorisant leur préservation (Wunderlin et al. 2014a; Wunderlin et al. 2016; Wunderlin et al. 2014b). La fréquence de gènes de résistance a été mesurée à partir de l'ADN extrait de ces spores. Avec cette méthode, l'analyse de sédiments du lac Léman, datant de 1920 à 2015, a mis en évidence une corrélation entre l'utilisation médicale de deux antibiotiques (la tétracycline et la sulfonamide) et la fréquence de gènes conférant la résistance à chacun de ces antibiotiques. De plus, un lien entre l'augmentation de la fréquence des gènes de résistance et des changements dans la structure des communautés microbiennes a pu être établi (Madueno et al. 2018). L'augmentation de la fréquence du marqueur *tet(W)*, un déterminant conférant la résistance à la tétracycline, a pu être reliée à une augmentation de l'abondance relative des firmicutes, un groupe de bactéries parmi les plus abondantes du microbiome humain (Browne et al. 2016). Un tel lien suggère un fort impact anthropique et soutient la thèse d'un lien entre consommation d'antibiotiques et augmentation du réservoir environnemental de gènes de résistance.

Gardez un œil sur la grande image

Une vision écologique du rôle des antibiotiques nous offre aujourd'hui une représentation plus complexe de ces molécules que comme simples agents d'anéantissement des popula-

tions microbiennes indésirables (Taylor et al. 2011). La grande diversité des espèces bactériennes et fongiques les produisant, ainsi que leur implication dans la communication intra- et interspécifique (Goh et al. 2002), suggèrent que ces molécules ont un rôle très important dans l'évolution des communautés microbiennes (Martinez 2008). De nombreuses questions restent encore ouvertes. Un lien a pu être établi entre l'utilisation d'antibiotique en médecine humaine, la fréquence de gènes de résistance, et la structure de la communauté bactérienne, dans un lac subissant une forte pression anthropique. Mais qu'en est-il des milieux naturels moins affectés par les activités humaines? A l'heure actuelle, nos recherches se sont limitées à deux gènes de résistance, mais un inventaire incluant des marqueurs pour différentes classes d'antibiotiques, ou fait à partir de la reconstruction de génomes environnementaux, permettrait de mieux évaluer le réservoir environnemental de gènes de résistance. Finalement, l'impact écologique de ces structures de survie, dont l'activité métabolique est réduite, ainsi que leur rôle dans la dissémination et la transmission des gènes de résistance, restent à déterminer. Ce point devrait être abordé par des expériences de ressuscitation (ou réactivation) et d'évolution en laboratoire.

Correspondance
Pilar.Junier@unine.ch

Sédimentmicrobiota: neuartiger Ansatz zur Rückverfolgung der Antibiotikaeinnahme in der Vergangenheit

Die Entdeckung von Antibiotika und deren Verwendung im Kampf gegen Infektionskrankheiten stellt einen der bedeutendsten Erfolge in der Geschichte der medizinischen Mikrobiologie dar. Bedauerlicherweise hat der teilweise missbräuchliche und gedankenlose Einsatz, insbesondere in der Lebensmittelindustrie und zu präventiven Zwecken, unausweichlich zur Herausbildung resistenter Mikroorganismen geführt. Seit Beginn der Verwendung von Antibiotika hat die Verbindung zwischen Medizin und Natur zu einer «evolutionären Erfahrung» geführt, mit der niemand gerechnet hatte. Eine Untersuchung der Ergebnisse aus dieser Erfahrung der Vergangenheit könnte zur Entwicklung und Umsetzung einer globalen Strategie beitragen, mit der künftig der Einsatz von Antibiotika besser in den Griff zu bekommen ist.

Bibliographie

Bengtsson-Palme J, Kristiansson E, Larsson DGJ (2018) Environmental factors influencing the development and spread of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol Rev* 42(1) doi:10.1093/femsre/flux053
Browne HP, Forster SC, Anonye BO, Kumar N, Neville BA, Stares MD, Goulding D, Lawley TD (2016) Culturing of 'unculturable' human microbiota reveals novel taxa and extensive sporulation. *Nature* 533(7604):543-6 doi:10.1038/nature17645
Goh EB, Yim G, Tsui W, McClure J, Surette MG, Davies J (2002) Transcriptional modulation of bacterial gene expression by subinhibitory concentrations of antibiotics. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(26):17025-30 doi:10.1073/pnas.252607699
Graham DW, Knapp CW, Christensen BT, McCluskey S, Dolfing J (2016) Appearance of -lactam Resistance Genes in Agricultural Soils and Clinical Isolates over the 20th Century. *Scientific Reports* 6:21550 doi:10.1038/srep21550
Knapp CW, Dolfing J, Ehlert PAI, Graham DW (2010) Evidence of Increasing Antibiotic β -Resistance Gene Abundances in Archived Soils since 1940. *Environmental Science & Technology* 44(2):580-587 doi:10.1021/es901221x
Madueno L, Paul C, Junier T, Bayrychenko Z, Filipidou S, Beck K, Greub G, Burgmann H, Junier P (2018) A historical legacy of antibiotic utilization on bacterial seed banks in sediments. *PeerJ* 6:e4197 doi:10.7717/peerj.4197
Marti E, Variatza E, Balcazar JL (2014) The role of aquatic ecosystems as reservoirs of antibiotic resistance. *Trends Microbiol* 22(1):36-41 doi:10.1016/j.tim.2013.11.001

Martinez JL (2008) Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science* 321(5887):365-7 doi:10.1126/science.1159483
Taylor NG, Verner-Jeffreys DW, Baker-Austin C (2011) Aquatic systems: maintaining, mixing and mobilising antimicrobial resistance? *Trends Ecol Evol* 26(6):278-84 doi:10.1016/j.tree.2011.03.004
Thevenon F, Adatte T, Wildi W, Pote J (2012) Antibiotic resistant bacteria/genes dissemination in lacustrine sediments highly increased following cultural eutrophication of Lake Geneva (Switzerland). *Chemosphere* 86(5):468-76 doi:10.1016/j.chemosphere.2011.09.048
Wunderlin T, Corella J, Junier T, Bueche M, Loizeau J-L, Girardclos Sp, Junier P (2014a) Endospore-forming bacteria as new proxies to assess impact of eutrophication in Lake Geneva (Switzerland-France). *Aquat Sci* 76(1):103-116 doi:10.1007/s00027-013-0329-0
Wunderlin T, Junier T, Paul C, Jeanneret N, Junier P (2016) Physical Isolation of Endospores from Environmental Samples by Targeted Lysis of Vegetative Cells. *J Vis Exp*(107) doi:10.3791/53411
Wunderlin T, Junier T, Roussel-Delif L, Jeanneret N, Junier P (2014b) Endospore-enriched sequencing approach reveals unprecedented diversity of Firmicutes in sediments. *Environ Microbiol Rep* 6(6):631-9