

Claire VILLARD¹ (claire.villard@chu-montpellier.fr), Mylène TOUBIANA², Fabien AUJOLAT², Isabelle ZORNIOTTI², Pierre-Antoine PEYRON³, et Estelle JUMAS-BILAK⁴.

¹ HSM, Univ. Montpellier, Département de médecine légale, CHU Montpellier, France.

³ Département de médecine légale, CHU Montpellier, Univ. Montpellier, France.

² HSM, Univ. Montpellier, CNRS, IRD, Montpellier, France.

⁴ HSM, Univ. Montpellier, CNRS, IRD, Service de Prévention des Infections, CHU de Montpellier, France.

Introduction

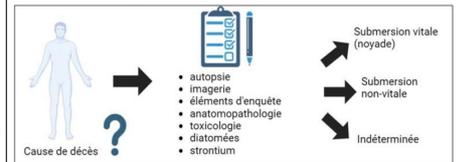
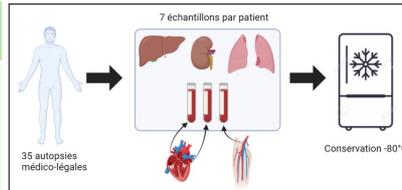
En médecine légale, la conclusion de décès par noyade demeure un diagnostic difficile, en raison de signes autopsiques inconstants et aspécifiques (1). La détection de bactéries aquatiques dans le sang et les organes (embolisation de bactéries depuis les capillaires pulmonaires après inhalation active d'eau) pourrait appuyer le diagnostic de noyade. (2, 3) La composition du microbiome du cadavre (nécrobiome) est encore méconnue, de même que le nécrobiome du cadavre noyé. (4)

Objectifs

- Etudier les communautés microbiennes des cadavres de personnes noyées.
- Identifier des bactéries marqueurs de noyade en eau douce et salée.
- Mettre au point une méthode utilisable en pratique courante de médecine légale.

Matériel et Méthodes

- 30 cadavres de patients noyés, pour lesquels une enquête a été requise par la justice, et une autopsie réalisée à l'Institut Médico-Légal de Montpellier.
- 176 échantillons de sang et d'organes, prélevés lors des autopsies
- Extraction ADN puis analyse par :
 - 1) metabarcoding sur la portion rrs V3-V4 par séquençage Illumina mi-seq, clustérisation par swarm (5), affiliation phylo-taxonomique (Silva)
 - 2) PCR spécifique ciblant le gène *zipA* (*Aeromonas spp.*) et *pyrH* (*Vibrio spp.*)



1) Structure de communauté des nécrobiomes de 2 patients noyés en eaux douce et salée

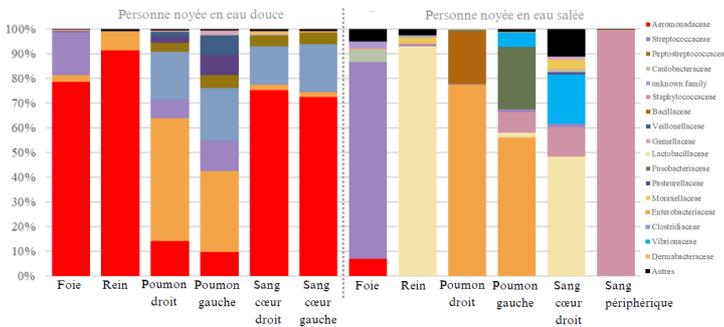


Figure 1 : Abondance relative des communautés bactériennes (par famille) dans les échantillons autopsiques de patients noyés

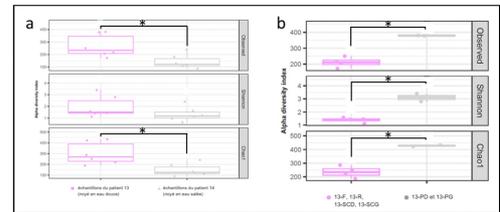


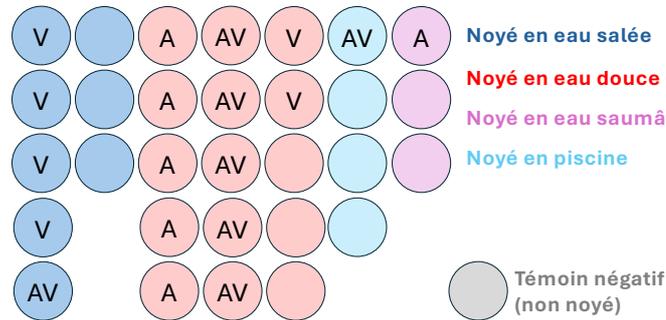
Figure 2 : Comparaison des diversités alpha (observed, Shannon, Chao1) a) de l'ensemble des échantillons des patients 13 et 14; b) des échantillons de poumon (PD, PG) par rapport aux autres échantillons. * *p*-value < 0,05

Le microbiome du cadavre (nécrobiome) de personnes noyées est composé de bactéries issues du microbiome humain et de bactéries aquatiques (*Aeromonadaceae* et *Vibrionaceae*). La diversité du nécrobiome diffère quantitativement et qualitativement entre les patients et donc selon le type d'eau de noyade. Les poumons du patient noyé en eau douce présentent des nécrobiomes très différents de ceux des autres organes.

2) Détection spécifique d'*Aeromonas spp.* et *Vibrio spp.* dans 30 cadavres noyés

- gènes *zipA* et *pyrH* conservés entre les espèces de chaque genre
- vérification de la spécificité des amorces in silico (BLAST)

- = absence de détection
- A = détection d'*Aeromonas*
- V = détection de *Vibrio*
- AV = détection d'*Aeromonas* + *Vibrio*



Pas de spécificité d'un genre bactérien pour un type de milieu, bien qu'*Aeromonas* soit plus souvent associé à l'eau douce. *Vibrio* était détecté principalement dans les poumons, tandis qu'*Aeromonas* était plus largement disséminé dans tous les échantillons d'un même patient. La détection d'*Aeromonas* et de *Vibrio* par PCR supportait le diagnostic de noyade chez 13/30 personnes noyées.

Discussion et perspectives

Les nécrobiomes des cadavres noyés en eau douce et en salée présentent des différences, qui pourraient être liées à la nature de l'eau aspirée lors de la noyade. Il est loin d'être exclu que d'autres facteurs influencent ces différences, comme le délai post-mortem. D'autres analyses metabarcoding du nécrobiome de patients noyés sont nécessaires pour conforter ces résultats, et pourraient être couplées à l'analyse de l'eau de noyade. L'étude du nécrobiome de patients immergés mais décédés d'une autre cause que la noyade semble également indispensable. Une bonne connaissance des bactéries aquatiques et de leur dynamique dans les nécrobiomes permettrait de cibler des taxons pour des approches par PCR spécifique plus accessibles dans un contexte judiciaire.

(1) Stephenson L et al. The persistent problem of drowning - A difficult diagnosis with inconclusive tests. *J Forensic Leg Med.* 2019
 (2) Uchiyama T et al. A new molecular approach to help conclude drowning as a cause of death: Simultaneous detection of eight bacterioplankton species using real-time PCR assays with TaqMan probes. *Forensic Sci Int.* 2012
 (3) Wang LL et al. A novel approach for the forensic diagnosis of drowning by microbiological analysis with next-generation sequencing and unweighted UniFrac-based PCoA. *Int J Legal Med.* 2020
 (4) Cláudia-Ferreira A et al. The Future Is Now: Unraveling the Expanding Potential of Human (Necro)Microbiome in Forensic Investigations. *Microorganisms.* 2023;11(10):2509.
 (5) Mahé F et al. Swarm v3: towards tera-scale amplicon clustering. *Bioinformatics.* 2021