



Action R1.3.3

Caractérisation des micropolluants et de leurs effets dans les procédés d'oxydation

Contacts :

Laure Garrigue-Antar (laure.garrigue-antar@u-pec.fr)

My-Dung Jusselme (thi-my-dung.jusselme@u-pec.fr)

CONTEXTE

La qualité de l'eau est menacée, entre autres, par des milliers de produits chimiques anthropogéniques (dont pesticides, biocides, médicaments, produits chimiques industriels...). Bien qu'individuellement présents à de faibles concentrations, ils peuvent interagir les uns avec les autres en mélange, entraînant des effets imprévisibles (additifs, synergiques, antagonistes). De plus, les **produits de transformation** (PT) résultant de leur dégradation biotique et abiotique dans l'environnement, peuvent être parfois plus abondants et plus toxiques que leurs composés parents, et représenter des facteurs de risques pour certaines pathologies chroniques comme le cancer, les maladies neurodégénératives ou métaboliques. La plupart d'entre eux n'ayant pas encore été identifiés, les humains et les écosystèmes aquatiques sont exposés à un cocktail de produits chimiques très variable et inconnu. De plus, ils peuvent contribuer de façon significative au risque posé par leur molécule parente s'ils sont formés avec un rendement élevé, s'ils sont plus persistants ou plus mobiles, ou s'ils ont une toxicité accrue. Même si actuellement les traitements conventionnels ou avancés en STEP sont capables de réduire substantiellement certains de ces contaminants, la plupart des études ont clairement montré que l'élimination des polluants conduit à la formation de PT, qui demeure cependant peu caractérisée, à la fois au niveau chimique (conditions de formation), microbiologique et écotoxicologique. De meilleures connaissances sur ces aspects sont donc nécessaires pour limiter i) la charge des polluants et de leurs PT, mais aussi ii) la sélection et la propagation de bactéries résistantes aux agents anti-microbiens et l'apparition de gènes de résistance, un problème majeur de santé publique au 21ème siècle. Ces éléments permettront ainsi de diminuer les **risques toxicologiques pour la santé humaine et celle des écosystèmes**.

OBJECTIFS

L'objectif sera ici de mieux comprendre le transfert des micropolluants et microorganismes ainsi que leurs interactions dans la filière eau et dans les procédés d'oxydation, par une **caractérisation couplée entre analyses chimiques et microbiologiques**. Des analyses d'écotoxicité seront également menées pour identifier la toxicité de produits émergents identifiés dans les filières. Plus particulièrement, la démarche que nous suivrons s'articulera autour des approches suivantes :

- Analyser l'effet de traitements tertiaires innovants (acide performique) sur l'abattement de composés pharmaceutiques modèles (le furosémide et ses PT) en vue de compléter les travaux initiés dans OPUR5
- Caractériser les mécanismes chimiques en jeu dans la dégradation des micropolluants et identifier des sous-produits de dégradation.
- Caractériser la toxicité des polluants et de leurs produits de dégradation sur des modèles aquatiques et terrestres, et quantifier l'expression de gènes biomarqueurs de neurotoxicité, de perturbation endocrinienne et de stress oxydant.
- Evaluer l'efficacité du traitement par l'acide performique sur les bactéries résistantes et les gènes de résistance en complément des travaux initiés dans OPUR5.
- Caractériser la contribution des microorganismes issus des boues à la formation et à la dégradation des micropolluants (Diuron, molécule modèle et les autres micropolluants au caractère hydrophile) en réalisant des analyses biologiques (caractérisation de la diversité microbienne et quantification des gènes impliquées dans les processus de la dégradation et/ou formation par qPCR) et chimiques (analyses ciblées et non-ciblées).
- Identifier et quantifier les gènes et les bactéries résistantes aux antimicrobiens dans les eaux usées brutes aux rejets traités dans l'environnement et les boues par des analyses de séquençage à haut débit (NGS).

MÉTHODOLOGIE

Lors de la phase 5 d'OPUR, le traitement de solutions de furosémide à l'acide performique suivi d'une analyse en spectrométrie de masse haute résolution, réalisés dans le cadre de la thèse de Christelle Nabintu Kajoka, a permis de générer de nombreuses données sur les TP du furosémide, et une analyse bibliographique exhaustive par Fidji Sandré a recensé jusqu'à 70 TP du furosémide, tous traitements confondus (Sandré et al., 2024). Il s'agira dans un premier temps de comparer les données expérimentales obtenues avec le PFA aux TP déjà décrits dans la littérature. Dans un second temps, l'effet du traitement au PFA sur le pyridinium du furosémide et la saluamine, sera étudié sur une eau dopée puis des échantillons réels par HPLC-UV. Une analyse écotoxicologique de chaque échantillon avant et après traitement sera menée dans les deux modèles d'organismes aquatiques représentatifs de deux niveaux trophiques précédemment décrits (action 1.2.3) : l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* et le microcrustacé *Daphnia magna*.

Chez l'algue, seront étudiés les paramètres de croissance, mobilité, diamètre des cellules, activité photosynthétique, et biosynthèse des pigments. Chez la daphnie, la toxicité générale, le stress comportemental, la neurotoxicité, le stress oxydant, et la perturbation endocrinienne seront caractérisés aux concentrations environnementales. Les mécanismes sous-jacents seront complétés par l'étude de l'expression de gènes biomarqueurs de ces perturbations par RTqPCR. En parallèle, une étude similaire sera conduite sur la drosophile (*Drosophila melanogaster*) comme espèce modèle terrestre représentative du groupe des butineurs-pollinisateurs.

La dynamique de la dégradation et de la formation des micropolluants (à partir du modèle du diuron et potentiellement d'autres types de micropolluants hydrophiles tels que le thiabendazole, l'atrazine, la clothianidine et la 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one) sera étudiée par des méthodes de culture microbienne *in vitro*, contrôlées et dopées par les micropolluants. La diversité microbienne impliquée dans la transformation des micropolluants, qu'il s'agisse de leur dégradation ou de leur formation potentielle, sera analysée par des méthodes de séquençage à haut débit (métabarcoding), et la quantification des gènes impliqués dans chaque processus sera effectuée par la qPCR et la ddPCR.

L'étude des gènes de résistance et des bactéries résistantes aux antibiotiques comportera 2 parties :

1. L'efficacité du PFA contre les résistances aux antimicrobiens sera examinée. Des rejets ont été exposés au PFA à différentes concentrations et durées, puis les séquences ADN ont été analysées (cf OPUR5). Cette action impliquera des analyses bio-informatiques et l'étude des corrélations entre les données biologiques et chimiques.
2. L'ADNe de prélèvements d'eaux d'entrée et sortie de STEP sera séquencé pour identifier les résistances aux antimicrobiens par analyse bioinformatique, et ces données biologiques seront corrélées avec les données chimiques pour étudier la dynamique des résistances et des micropolluants.

Action	Année 1				Année 2				Année 3			
	trimestr e 1	trimestr e 2	trimestr e 3	trimestr e 4	trimestr e 1	trimestr e 2	trimestr e 3	trimestr e 4	trimestr e 1	trimestr e 2	trimestr e 3	trimestr e 4
Micropolluants et ses produits de transformation												
Micropolluants et microorganismes	Mise en place de culture				Analyse de la diversité				Quantifier les gènes impliqués			
Micropolluants et Résistance antimicrobiens (Partie 1)	Analyse des micropolluants et la résistances aux antimicrobiens				Mise en place des expériences in vitro				Analyse des micropolluants et la résistances aux antimicrobiens			
Micropolluants et Résistance antimicrobiens (Partie 2)	Prélèvement des eaux de STEP				Analyse des micropolluants et la résistances aux antimicrobiens				Prélèvement des eaux de STEP			
									Corrélations les datasets chimiques et biologiques			
									Analyse des micropolluants et la résistances aux antimicrobiens			
									Corrélations les datasets chimiques et biologiques			

RÉSULTATS ATTENDUS ET RETOMBÉES

Les résultats obtenus déboucheront sur une meilleure compréhension du comportement des polluants et de leurs PT lors de certains traitements innovants en STEP, mais aussi de celui des microorganismes qui participent à ces dégradations. Ils devraient permettre de limiter la charge des polluants et de leurs PT, ainsi que la dissémination de bactéries résistantes aux agents anti-microbiens et l'apparition et la transmission de gènes de résistance, un problème majeur de santé publique au 21eme siècle. Ces éléments contribueront ainsi à une meilleure prise en compte des risques toxicologiques pour la santé humaine et celle des écosystèmes.