

Comment mesurer la toxicité des micropolluants ?

Système dual d'évaluation de la toxicité aigüe et chronique dans l'environnement

Axelle CADIÈRE et Kevin BERROU,
Université de Nîmes, EA 7352, CHROME

Étude de faisabilité (12 mois) – Financement : 50 K€ - Contact : axelle.cadiere@unimes.fr

Mots-clés : toxicité, micropolluants, pesticides, produits pharmaceutiques, microorganisme, *in vitro*, bio-capteur, luminescence, levure

Seuls ou en mélange, les micropolluants (ex. pesticides, produits pharmaceutiques) peuvent présenter un risque pour les écosystèmes et pour l'homme. Cette évaluation des risques est difficile car elle dépend de nombreux facteurs (propriétés physico-chimiques des molécules, effet cocktail, biodégradation etc.). Pour évaluer les risques de nombreux modèles ont été utilisés parmi lesquels les modèles animaux, les modélisations informatiques ou encore l'utilisation de micro-organismes ou d'organismes aquatiques.

Quelques exemples de dispositifs existants :

- Le Microtox®, ce test commercial permet d'évaluer une toxicité aigüe d'un échantillon en cinq à quinze minutes. Il est basé sur l'utilisation de bactéries bioluminescentes (*V. fischerii*) qui émettent de la luminescence. La mesure de la toxicité s'effectue par la mesure de l'extinction de la luminescence. Ce dispositif normalisé et très utilisé¹⁶⁵ présente l'intérêt d'être rapide à réaliser mais ne permet d'évaluer le risque d'une exposition à long terme. De plus, les bactéries possèdent des systèmes cellulaires qui ne répondent pas aux facteurs environnementaux comme les eucaryotes.

- La daphnie peut être utilisée pour déterminer la toxicité aigüe d'échantillons¹⁶⁶. La mesure est basée sur la mortalité des daphnies et plus précisément le paramètre mesuré est l'inhibition de la nage des Daphnies après une exposition de 24 à 48 heures. Ce test présente une sensibilité comparable au microtox cependant, l'utilisation des daphnies est plus contraignante, le test est plus long et plus coûteux.

Bien que ces dispositifs normalisés soient très utilisés, il est nécessaire de continuer à développer des outils qui permettraient d'une part de mieux évaluer le potentiel toxique de composés seuls ou en mélange et d'autre part qui permettrait d'évaluer le risque et la toxicité d'une exposition chronique.

Les levures modifiées

Une alternative consiste à utiliser des levures modifiées comme microorganismes. De nombreuses études ont déjà utilisé ce modèle pour permettre la surveillance spécifique des produits chimiques présentant un potentiel œstrogénique ou détecter l'effet génotoxique de certaines substances.

Récemment, une levure non conventionnelle *Arxulla adenivorans* a même été utilisée pour la détection de composés chimiques et pharmaceutiques tels que l'oméprazole, le lansoprazole¹⁶⁷, la naphthoflavone¹⁶⁸ et le méthylcholanthène¹⁶⁹.

Tous ces éléments nous ont conduits à tester la faisabilité d'utiliser une levure modifiée pour évaluer le potentiel toxique (aigüe ou chronique). La modification de la levure a consisté à placer le gène codant pour la luciférase (enzyme impliquée dans la réaction

¹⁶⁶ Norme internationale ISO 6341.

¹⁶⁷ Oméprazole et lansoprazole sont deux médicaments inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) indiqués contre le reflux gastrique.

¹⁶⁸ Agent de dosage analytique.

¹⁶⁹ Hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP).

¹⁶⁵ AFNOR T 90-320 et ISO 11348.

de bioluminescence) sous le contrôle d'un promoteur sensible à la présence de stress ou de certains médicaments.

L'idée était que l'augmentation du stress environnemental induirait une augmentation de la production de la luciférase. Pour révéler le niveau d'expression de la luciférase et donc la réponse aux différents contaminants, les substrats de cette enzyme doivent être ajoutés au milieu de culture avant de réaliser une mesure de la luminescence émise.

Le projet de recherche : DuoTOX

Ce projet présentait deux originalités :

La première originalité du projet résidait dans l'utilisation d'une réponse qui n'est pas spécifique d'un type de contaminants particuliers contrairement aux autres constructions réalisées chez la levure dans la littérature.

La deuxième originalité résidait dans l'utilisation d'un mode de culture en continu pour évaluer la toxicité chronique. Ce mode de culture permet de maintenir les levures en phase exponentielle de croissance sur de nombreuses générations (entre 100 et 200 générations) et donc de réaliser des expositions longues.

Résultats

Une quarantaine de micropolluants appartenant à différentes familles (antibiotiques, β -bloquants, antidouleur, perturbateurs endocriniens, pesticides...) ont été sélectionnés. Parmi ces composés, vingt-six ont présenté une réponse positive pour des gammes de concentration allant du picogramme au microgramme par litre. À ce stade, aucune spécificité quant à la nature chimique du micropolluant n'a pu être établie.

L'évaluation de la réponse chronique lors de l'exposition aux mélanges a été réalisée, en cultivant les cellules en fermenteurs continus.

Trois types de mélanges contenant vingt-deux des molécules ayant présenté une réponse individuellement ont été réalisées. La concentration d'utilisation de chacune des molécules constitutives du mélange a été définie à partir des valeurs environnementales décrites dans la littérature et représentative de différents types d'environnement (eau de sortie de station d'épuration, eau de surface etc.). Quelques soient les conditions, une augmentation de luminescence a été observée après exposition. De plus, après cinq jours d'exposition continue à l'un des mélanges, la luminescence émise par les levures a diminué, ce qui pourrait témoigner d'une adaptation à la présence de ces composés.

En conclusion, Ces premiers résultats issus de cette étude de faisabilité (un an) ont permis de mettre en évidence que le système répondait à un certain nombre de micropolluants. A ce jour, il est impossible d'évaluer quels sont les mécanismes mis en jeu dans les réponses et des études de transcriptomique sur les composés induisant une réponse ou pas devraient permettre d'amener des éléments de réponse.

Il y a un réel intérêt à poursuivre les études initiées, pour améliorer la sensibilité du dispositif et pour comprendre ces mécanismes de réponse.