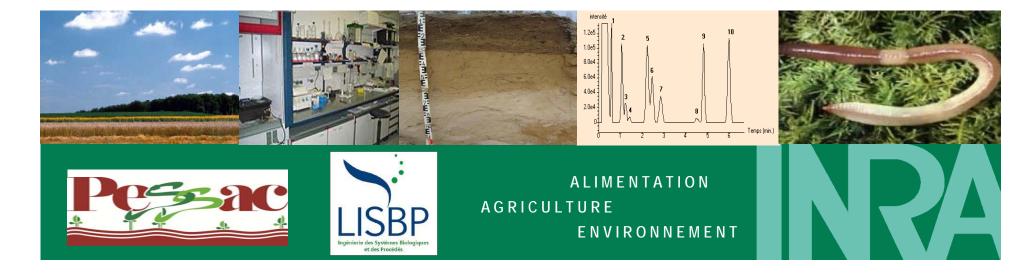
# Quel impact à long terme des antibiotiques apportés au sol lors de l'épandage de lisiers ? L'exemple de la ciprofloxacine

C. Mougin, A. Igel-Egalon, N. Cheviron, C. Marrauld, C. Repinçay, M. Hedde, G. Hernandez-Raquet\*

UR251 PESSAC, INRA, Versailles \*UMR5504 LISBP, CNRS/INRA/INSA, Toulouse

http://www-pessac.versailles.inra.fr, mougin@versailles.inra.fr



# Contexte

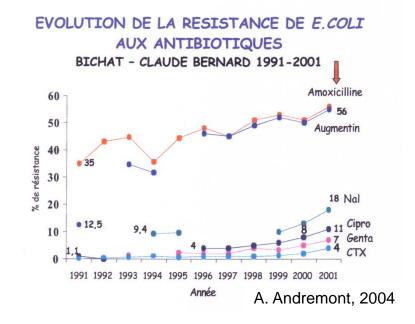
- Un questionnement sur l'utilisation raisonnée des antibiotiques
- Une progression constante de l'antibiorésistance

#### **Emission massive**

- résidus de matière active et de métabolites
- de bactéries/gènes de résistance

#### Bases génétiques

- flexibilité génétique infinie des bactéries Echanges de matériel génétique
- bactéries environnementales/commensales/ pathogènes









#### Les fluoroquinolones

- Antibiotiques à large spectre, inhibiteurs de la replication de l'ADN Très utilisés depuis 1980
- Usage en médecine humaine (urinaire, intestinale…)
   Bioterrorisme
- Usage en médecine vétérinaire : ciprofloxacine (+ enrofloxacine)
   ANSES-ANVM 2011 : 1067 T d'antibiotiques en 2009
   4,9 T de CIP, + 49% en 10 ans
   90% utilisés sur les animaux de rente
   0,39 mg/kg poids vif
- ► contamination des lisiers (µg/L), eaux usées, boues de STEP, sols







#### Objectifs et stratégie

#### Scénario : apport au sol de lisier de porc contaminé

- Aquérir des données sur le devenir de la ciprofloxacine dans les sols
  - cosmes, radiotraceur
- Evaluer l'impact éventuel de cet antibiotique sur les microorganismes et le fonctionnement du sol
  - cosmes, molécule froide

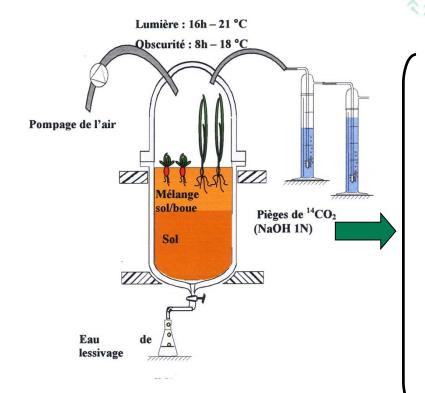








#### Devenir de la ciprofloxacine



2-14C-Ciprofloxacine (x1000)

1 kg sol : 22% S, 61% L, 17% A, pH 7,1, CO 1%, 70% CRE

Cosme 1 : lisier bio 30T ms/ha Cosme 2 : lisier + CIP 25 µg/kg Cosme 2 : lisier + CIP 250 µg/kg

Cosme 4 : CIP 250 µg/kg + 1kg de sol non contaminé

- Minéralisation pendant 84 j
- Répartition à To, 28, 56 et 84 j
- Transfert sol/blé à 56 j (Plateforme analytique environnementale EGER)



20 mm de pluie à 70 j



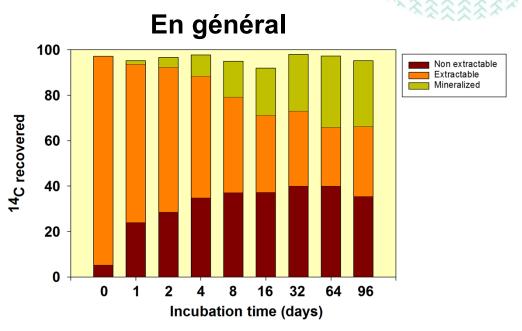
Caractérisation chimique

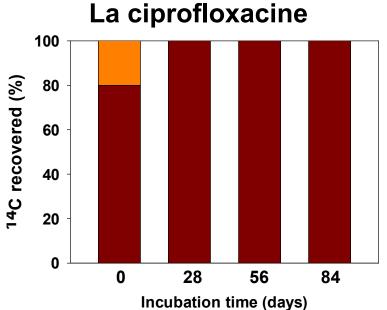




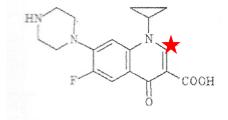


## Devenir de la ciprofloxacine





► Absence de minéralisation Stabilisation rapide et intense



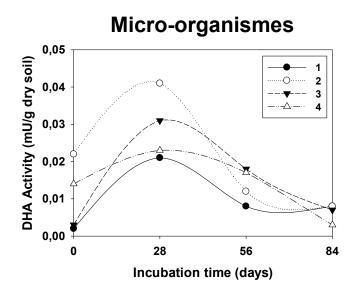






# Hyp 1: (éco)-toxicité

• Inhibition de l'activité biologique ?



Blé

- 100 % de germination
- Biomasse : > Tm sauf condition 3 (-20%)

Aporectodea longa et calliginosa



- Pas de mortalité
- Activité maintenue

► Pas d'effets toxiques identifiés

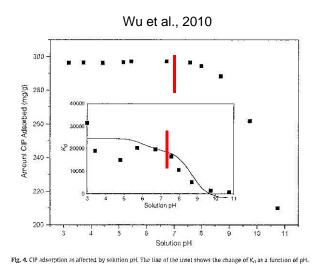






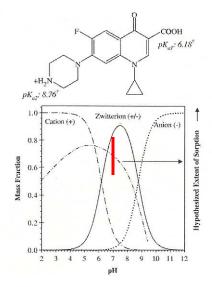
# Hyp 2 : biodisponibilité

Quel comportement dans les sols ?



Montmorillonite

Vasudevan et al., 2009



- Notre sol :60% de smectite (montmorillonite) à forte CEC (100-150 cmol+/kg)
- ► Mêmes interactions > forte rétention







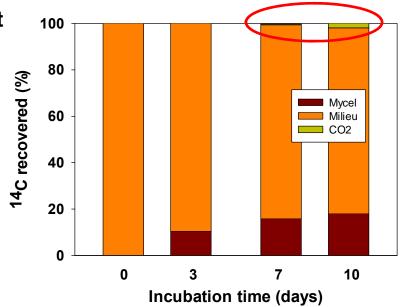
# Hyp 3: « récalcitrance »

• Une structure chimique non dégradable ?

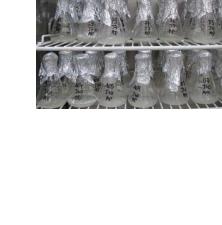
cultures liquides de *Trametes versicolor* 

milieu peu complexant 0,1 mg/L de CIP

obscurité, 25°C



**▶** Dégradation possible, une étude à lancer!









1,9 % à 10 jours



#### Les transferts

Vers la plante : blé, après 28 jours de croissance (semis à 56 j)

```
- condition 2 : traces de <sup>14</sup>C : 3,2 ng CIP/g blé (PS)
```

- condition 3: 0,015 % du <sup>14</sup>C initial: 37,4 ng CIP/g blé (PS)
- condition 4 : 0,022 % du <sup>14</sup>C initial : 56,1 ng CIP/g blé (PS)
- Vers les eaux, après 70 jours
  - condition 2 : pas de traces de <sup>14</sup>C
  - condition 3 : 0,014 % du <sup>14</sup>C initial : 0,46 μg CIP/L
  - condition 4 : 0,005 % du <sup>14</sup>C initial : 0,16 μg CIP/L
- Vers l'horizon de sol inférieur : ≈ 20 % du <sup>14</sup>C initial
  - **▶** Un transfert réel

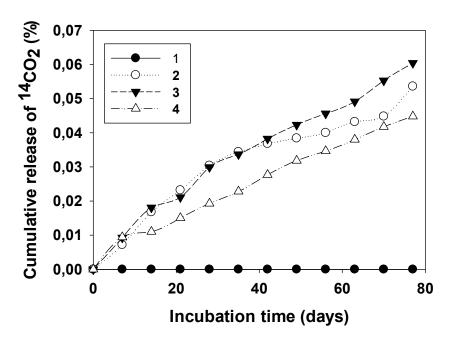






#### Et les vers de terre ?

• Apport de 2 A. longa et de 2 A. calliginosa à l'issue des 84 j



T1/2 ≈ 17 ans!

**▶** Quelle action ?



## Impact de la ciprofloxacine





Ciprofloxacine : « doses réalistes »

1 kg sol : 22% S, 61% L, 17% A, pH 7,1, CO 1%

**70% CRE** 

Condition 1 : lisier bio 30T ms/ha Condition 2 : lisier + CIP 25 ng/kg Condition 3 : lisier + CIP 250 ng/kg

- Mesures à T0, 7, 14 et 28 j d'incubation Activités : LAC, ADH, ACP, GLU

Litter-bag (28 jours)

Biomasses : ADN spécifique par qPCR



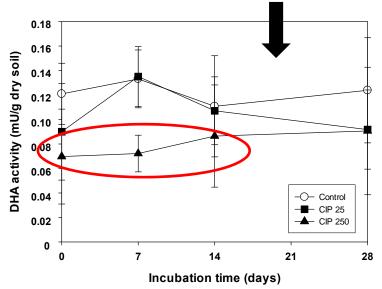


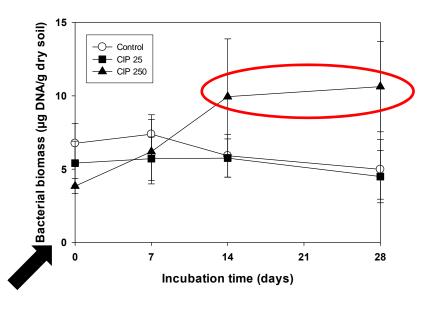




## Impact de la ciprofloxacine

- Litter-bag : pas d'effet de la CIP sur la dégradation de MO (18-24 %)
- Activités enzymatiques : ADH





- Biomasse : biomasse bactérienne
  - ► Une approche à réaliser en considérent la structure des communautés ?







#### Conclusions

- La ciprofloxacine apportée au sol est fortement stabilisée
- Une faible proportion est transférable
- Les indicateurs microbiens utilisés ne permettent pas de mettre en évidence d'impact fort de l'antibiotique sur la micro-flore
- Quel risque écotoxique et sanitaire sur le long terme ? (nouvelles générations de fluoroquinolones)
- Les vers de terre permettent une remobilisation et une dégradation de la ciprofloxacine
- ► Vers des approches intégrées ?









# **Perspectives**

- Etude de la transformation de la CIP par le champignon filamenteux
   T. versicolor
- Etude de la transformation de la CIP par les vers de terre
- Etude de la répartition de la CIP dans le sol en présence des vers de terre
- Etudes impacts en intégrant la structures des communautés et des groupes fonctionnels spécifiques
- Vers un projet ANR et/ou MP GISA?









#### Remerciements: programme DIPERPHA

#### **Financeurs**







Pa

### Merci pour votre attention















