
**DEVENIR ET BIODISPONIBILITÉ DES ANTIBIOTIQUES ENTRANT DANS LES SOLS
AGRICILES LORS DU RECYCLAGE DES MATIÈRES FERTILISANTES
D'ORIGINE RÉSIDUAIRE¹**

Thèse de **Anaïs GOULAS**

Analysée par **Arlette LAVAL²**

Directeur de thèse : Dr Pierre BENOIT, INRA, AgroParisTech, ECOSYS Grignon

Co-encadrante de thèse : Dr Claire-Sophie HAUDIN, INRA, AgroParisTech, ECOSYS Grignon

Du fait de la très large utilisation des antibiotiques en médecine humaine et animale, ils contaminent les sols lors de l'épandage des matières fertilisantes d'origine résiduaire (MAFOR), qu'elles proviennent des déjections animales ou des stations d'épuration. On connaît encore fort mal les conséquences de la présence de ces agents dans l'environnement, à la fois en termes de sélection de bactéries résistantes et d'impact sur l'activité microbienne du sol. Ce travail permet de fournir quelques données sur un sujet très complexe, car le devenir des antibiotiques dépend de leur biodisponibilité, elle-même conditionnée par la matrice et les traitements qu'elle a subi.

Ce travail est divisé trois grandes parties, réparties sur 8 chapitres.

La première partie présente une revue bibliographique détaillée sur l'état des connaissances relatives au devenir des antibiotiques dans l'environnement, leur disponibilité et leur biodisponibilité, différenciant disponibilité environnementale et disponibilité toxicologique. Elle montre clairement que l'adsorption des antibiotiques sur le sol et les MAFOR dépend de leur structure chimique qui conditionne leur biodisponibilité. Cette partie présente aussi une description détaillée des techniques de mesure, chimiques et biologiques. Ce travail très conséquent met en évidence le manque de données relatives aux antibiotiques, en comparaison avec la littérature abondante concernant les pesticides.

Les 7 chapitres suivants sont des publications. Ils sont partagés en deux parties.

La première partie concerne l'estimation de la disponibilité environnementale.

Dans le deuxième chapitre, l'auteur développe une nouvelle méthode d'extraction permettant

¹ Thèse présentée à l'Université de Paris-Saclay, et préparée à l'Institut des Sciences et Industries du vivant et de l'environnement (AgroParisTech), soutenue le 16/12/2016.

² Membre correspondant de l'Académie d'agriculture de France.

d'évaluer la disponibilité environnementale de la ciprofloxacine dans des sols amendés par des matières organiques. Différentes solutions aqueuses ont été préparées pour quantifier la fraction disponible de la ciprofloxacine dans des sols contaminés avec des concentrations significatives d'antibiotiques. Les résultats mettent en évidence différents mécanismes selon les extractants utilisés ainsi que le rôle déterminant du pH et de la qualité de la matière organique exogène appliquée sur le sol.

Le troisième chapitre, concerne la biodisponibilité du sulfaméthoxazole et de son métabolite acétylé dans le sol amendé avec du compost et du lisier. L'étude combine approche expérimentale et modélisation. L'objectif est d'établir quelle fraction de ces composés est disponible en utilisant une extraction douce au cours d'une période d'incubation de 28 jours, et de mieux comprendre la dynamique d'évolution des résidus de sulfamides dans le sol ainsi amendé. Le modèle couple l'évolution de la matière organique et le comportement du polluant. La meilleure simulation est obtenue avec l'extraction au chlorure de calcium. La fraction disponible des deux composés est fortement réduite au terme des 28 jours, la réduction étant très importante au cours des premiers jours.

Dans le quatrième chapitre, les investigations ont porté sur les effets des matrices, le potentiel de la méthode analytique, la synthèse des produits de transformation dans les sols et l'influence du type de MAFOR sur la biodisponibilité et la biodégradation du sulfaméthoxazole dans le sol. L'extraction aqueuse a été testée avec le chlorure de calcium, l'EDTA et la cyclodextrine. Les tests ont mis en évidence la nécessité de travailler sur des échantillons de sol frais car la congélation impacte fortement la possibilité d'extraction du sulfaméthoxazole. Le lien de l'antibiotique aux sols amendés pourrait être responsable de sa lente biodégradation et de ce fait, de la faible quantité de métabolites qui est trouvée. Ce chapitre établit que la disponibilité du sulfaméthoxazole dépend de sa concentration initiale, de la solution d'extraction et du type d'amendement. Le travail démontre *in fine* qu'il est possible de combiner l'efficacité de l'extraction et la réduction de l'effet matrice par l'utilisation de la méthode de prétraitement des échantillons QuEChERS pour purifier les extraits obtenus à partir de la solution de cyclodextrine. Ce résultat est d'un grand intérêt pour des études ultérieures.

Le chapitre 5 met à profit la méthode analytique développée précédemment pour évaluer la biodisponibilité des antibiotiques dans 3 types différents de sols pour établir le lien entre biodisponibilité et propriétés du sol. Les résultats montrent que la biodisponibilité du sulfaméthoxazole varie de 2 à 94% selon le niveau de dopage et la solution d'extraction utilisée. Aux pH des sols considérés, l'antibiotique est présent essentiellement sous forme anionique. Sa disponibilité ne dépend alors que de la capacité d'échanges cationiques, ainsi que de la teneur des sols en matière organique et en argile. La méthode d'extraction est là encore cruciale sur la mesure de la biodisponibilité.

La deuxième partie concerne l'estimation de la biodisponibilité toxicologique

Le chapitre 6 s'intéresse à des sols ayant été soumis à des expositions nombreuses et régulières avec 3 antibiotiques : ciprofloxacine, sulfaméthoxazole et érythromycine. Leur fraction disponible a été dosée à l'aide des solutions d'extraction s'étant avérées les plus performantes dans les études antérieures. Les sols sur lesquels des antibiotiques ont été épandus ont été incubés avec un dopage réalisé soit directement avec des solutions d'antibiotique, soit avec du fumier dopé. La comparaison des résultats avec un sol témoin, n'ayant pas reçu d'apport préalable en antibiotique. La biodisponibilité a ensuite été évaluée par deux types de solution d'extraction : Borax et EDTA. La sulfaméthoxazole et l'érythromycine sont fortement disponibles dans les sols. Ces molécules sont

plus rapidement dégradées lorsque les sols ont été exposés préalablement, ce qui suggère que les microorganismes de ces sols ont développé une capacité à dégrader spécifiquement ces composés. Du fait de sa faible disponibilité, la ciprofloxacine n'est dégradée dans aucun sol.

Dans le chapitre 7, dans un premier temps, l'auteur étudie l'impact de la ciprofloxacine et de la sulfaméthoxazole sur l'activité microbienne des sols par des tests d'incubation en microcosme réalisés au cours d'une période d'un mois. Les sols sont amendés soit avec du compost, soit avec du fumier, et dopés avec de faibles quantités d'antibiotiques. Les deux antibiotiques ont un comportement différent, et de ce fait un effet différent sur l'activité nitrifiante de la flore des sols : le sulfaméthoxazole plus disponible, inhibe l'activité nitrifiante, alors que la ciprofloxacine, peu disponible, est sans effet. Le degré d'inhibition du sulfaméthoxazole diminue avec le temps.

Dans un second temps, la relation dose-réponse entre les fractions extraites et leurs impacts sur l'activité microbienne a été étudiée. L'étude porte sur le sulfaméthoxazole car il est plus facilement extractible et a été réalisée avec les méthodes que l'auteur estimait les plus sensibles.

L'ensemble de ces travaux démontre clairement que la nature de la MAFOR et du sol impacte fortement la disponibilité des deux antibiotiques étudiés.

Une excellente discussion reprend l'ensemble des points étudiés et apporte un éclairage critique sur les points à approfondir, le modèle devant être testé avec d'autres MAFOR et d'autres antibiotiques.

Cette thèse constitue un travail considérable, bien conduit, rigoureux, dont les résultats sont minutieusement analysés et les conclusions, chaque fois que c'était possible, appuyées sur des analyses statistiques. L'auteur a fait appel à des domaines scientifiques multidisciplinaires : outils de la chimie, chimie analytique, modélisation, mise en œuvre de microcosmes et a montré qu'elle les maîtrisait. Le sujet est complexe, car il faut tenir compte non seulement des propriétés des antibiotiques et de leurs métabolites, mais aussi de la nature du sol, des substances fertilisantes utilisées, ainsi que de la durée d'exposition et de la relation dose-effet. Plusieurs publications valorisent d'ores et déjà le travail réalisé. De nombreuses questions restent en suspens mais ce travail apporte des pistes de travail claires d'une grande utilité pour la poursuite des investigations.