

Projet présenté en 2018

Contaminants chimiques de l'eau : de l'hydrosystème à la santé

Cédric BERNARDE

Enseignant - Chercheur en Biologie - Environnement et Santé

contact@microbiomecology.com

<https://microbiomecology.com>



Plan

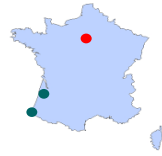
- Formation

- Recherches

- Thématique 1 : facteurs de virulence

- Thématique 2 : impact de xénobiotiques sur des microbiotes

- Projets



Formation

■ Ecologie (1998-2004)

□ BTA GFS → BTSA Aquaculture → Licence BO → Maîtrise BPE

■ Microbiologie (2004-2008)

□ M2R Microbiologie-Immunologie → Concours ED UB2 → Thèse

■ Bioinformatique (2014-2015)

□ Certificat de compétences en Bioinformatique (CNAM)

Activités de recherche

■ Thématique 1

□ Facteurs de virulence : 2005-2012

■ Thématique 2

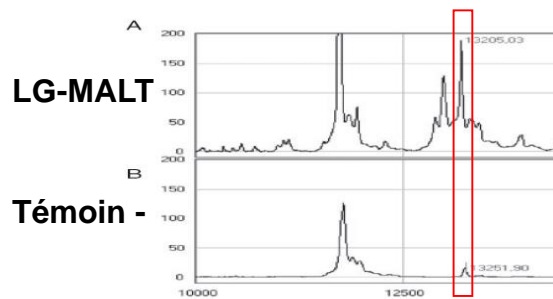
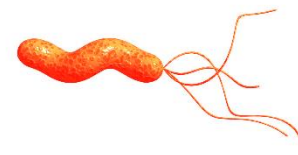
□ Impact de xénobiotiques sur des microbiotes :
2013-2017



Identification des protéines et des complexes spécifiques des souches de *H. pylori* associées au LG-MALT

■ Contexte :

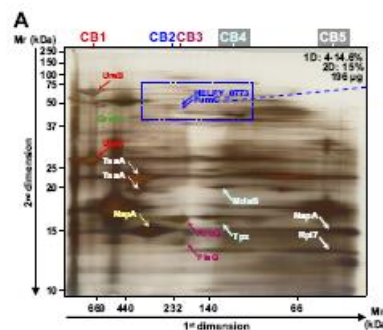
- Carcinogène de groupe 1 (IARC)
- Cancers gastriques : adénocarcinome et lymphome
- LG-MALT : contenu génétique particulier et commun



SELDI-TOF-MS

RpL7

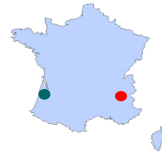
Bernarde *et al.*, 2009
Proteomics Clin Appl



BN-PAGE

RpL7-NapA

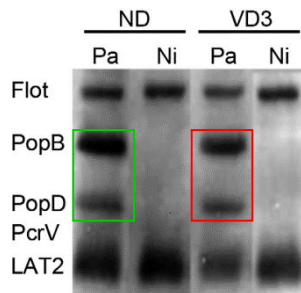
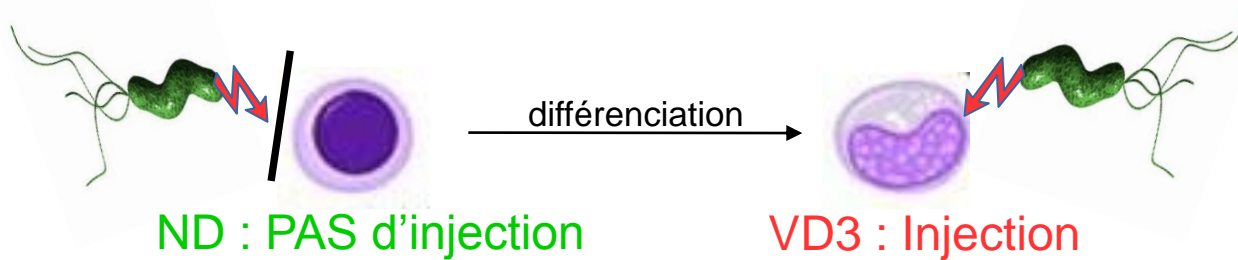
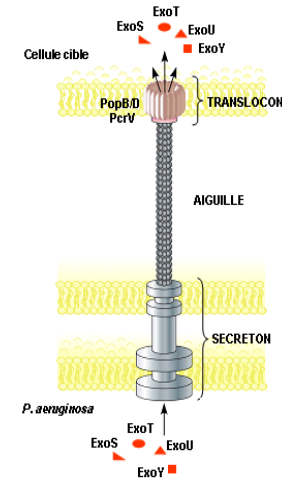
Bernarde *et al.*, 2010
Mol Cell Proteomics



Caractérisation du mécanisme d'injection de toxines par le SST3 de *P. aeruginosa*

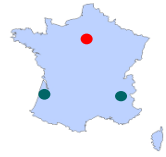
■ Contexte :

- Infections nosocomiales
- SST3 : facteur de virulence majeur
- Insertion du translocon dans la membrane



Actine
PI3-kinase
Src-kinases
FAK et Pyk2

**Vérove,
Bernarde *et al.*, 2012
PlosOne**



Identification des domaines protéiques nécessaires à la prise en charge d'une enzyme par le SST2 de *K. oxytoca*

■ Contexte :

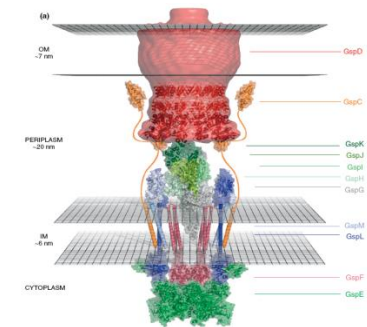
- SST2 : très conservé chez les bactéries
- SST2 permet la sécrétion de la pullulanase

■ Méthodes :

- Sélection d'acides aminés cibles (PyMol, ClusPro)
- Mutagenèse dirigée, tests de sécrétion

■ Résultats / Conclusions :

- Nouvelle région impliquée dans la sécrétion
- Cible potentielle pour inhiber la sécrétion
- East, Mechaly, Huysmans, Bernarde *et al.*, 2016; Structure**



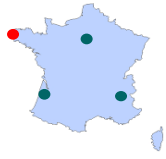
Activités de recherche

■ Thématique 1

□ Facteurs de virulence : 2005-2012

■ Thématique 2

□ Impact de xénobiotiques sur des microbiotes :
2013-2017



Impact d'une molécule pharmaceutique sur le microbiote respiratoire

■ Contexte :

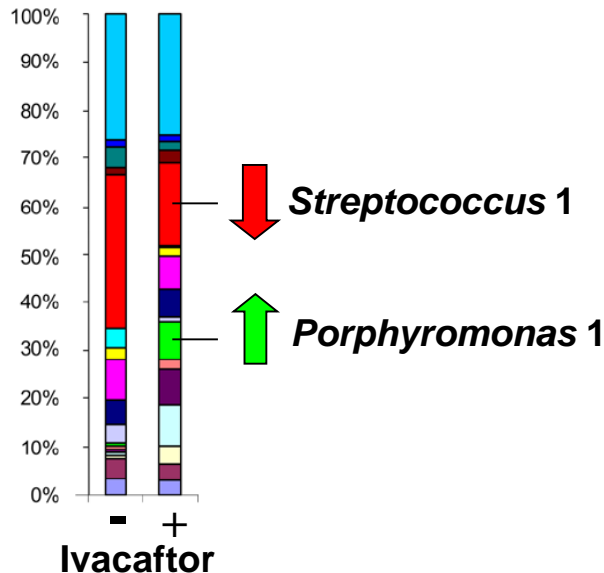
- Mucoviscidose (CFTR)
- Traitement CFTR_{G551D} : amélioration → microbiote ?



Microbiote respiratoire

■ Méthodes :

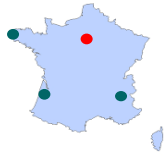
- Q-PCR → charge bactérienne
- Séquençage ADNr 16S → évolution structurale



↑ Capacité respiratoire



Biomarqueurs potentiels de la fonction pulmonaire
Bernarde *et al.*, 2015
PlosOne



Impact de molécules pharmaceutiques sur des biofilms de rivière

■ Contexte :

- IBGN, IBD : complexité d'utilisation
- Nouvel outil de diagnostic → séquençage de nouvelle génération



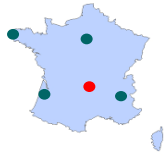
■ Méthodes :

- Prélèvements sur le terrain (amont/aval)
- Séquençage ADNr 16S et 18S
- Bioinformatique, statistiques



■ Résultats / Conclusions :

- Différences significatives entre l'amont et l'aval
- Bioindicateurs potentiels
- 1 article en préparation (Bernarde et al.,)**

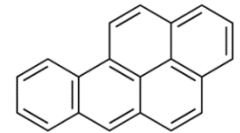


Impact du benzo[a]pyrène (BaP) sur le microbiote intestinal



■ Contexte :

- Dysbioses associées à de nombreuses pathologies
- BaP : hydrocarbure aromatique polycyclique (HAP) le plus étudié
- Carcinogène de groupe 1 (IARC), risque important d'exposition



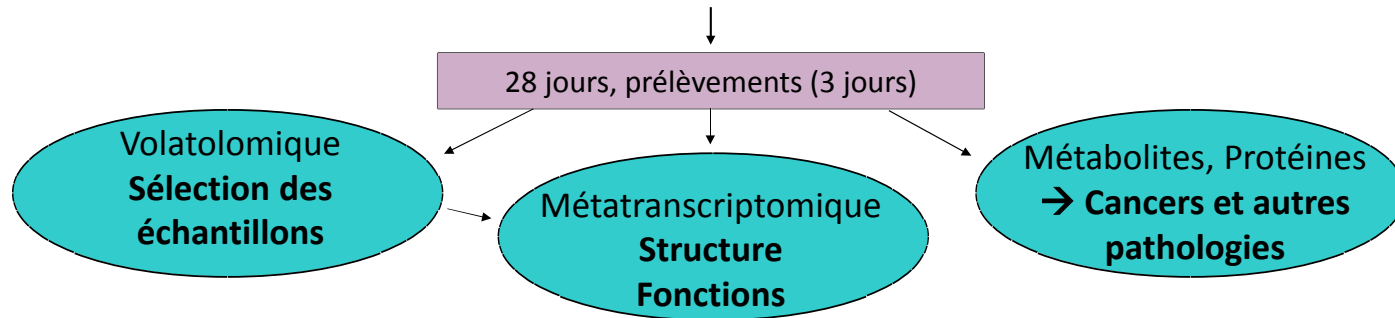
F1 : témoin



F2 : + méthanol



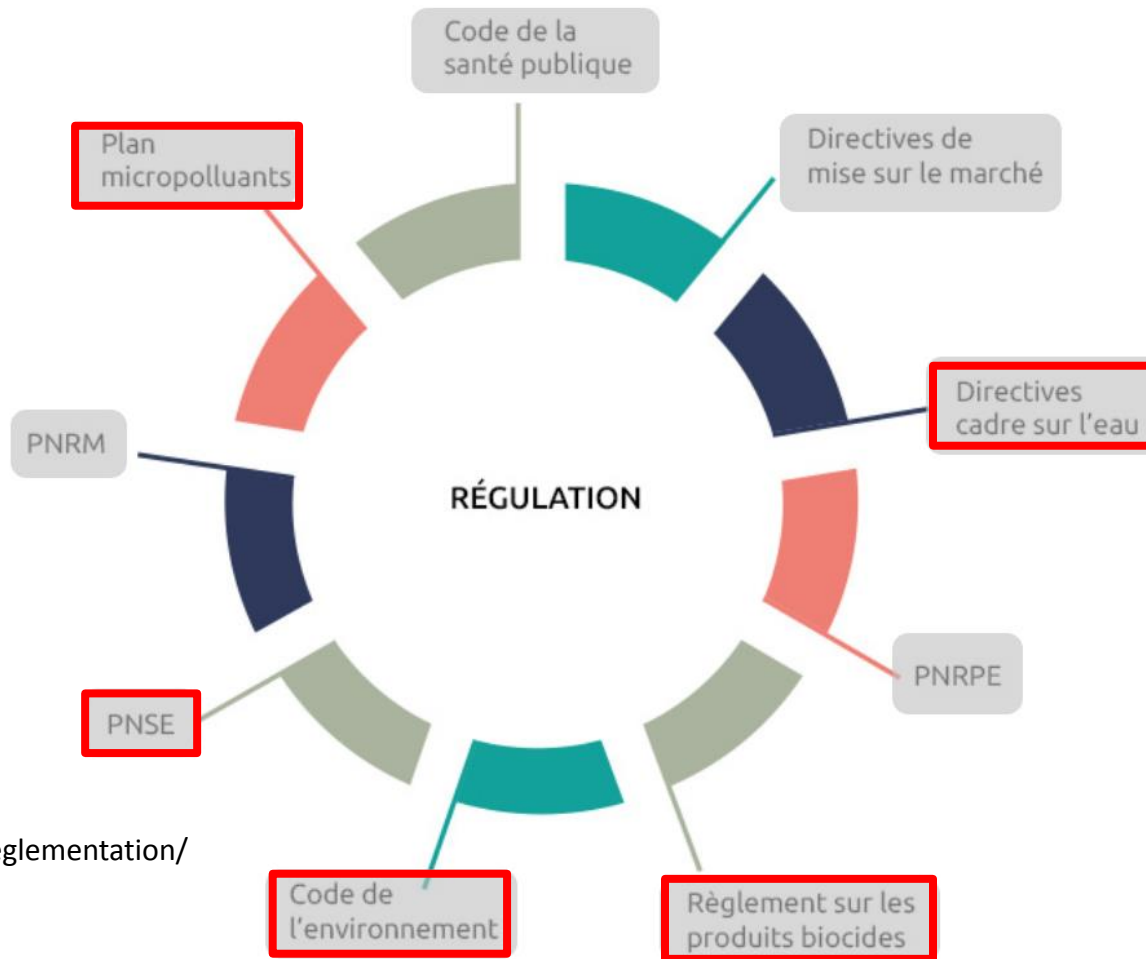
F1 : + méthanol + **BaP**



➔ 1 article en préparation (Bernarde *et al.*,)

Projets de recherche

■ Règlements existants



<http://resimede.info/la-reglementation/>

Projets de recherche

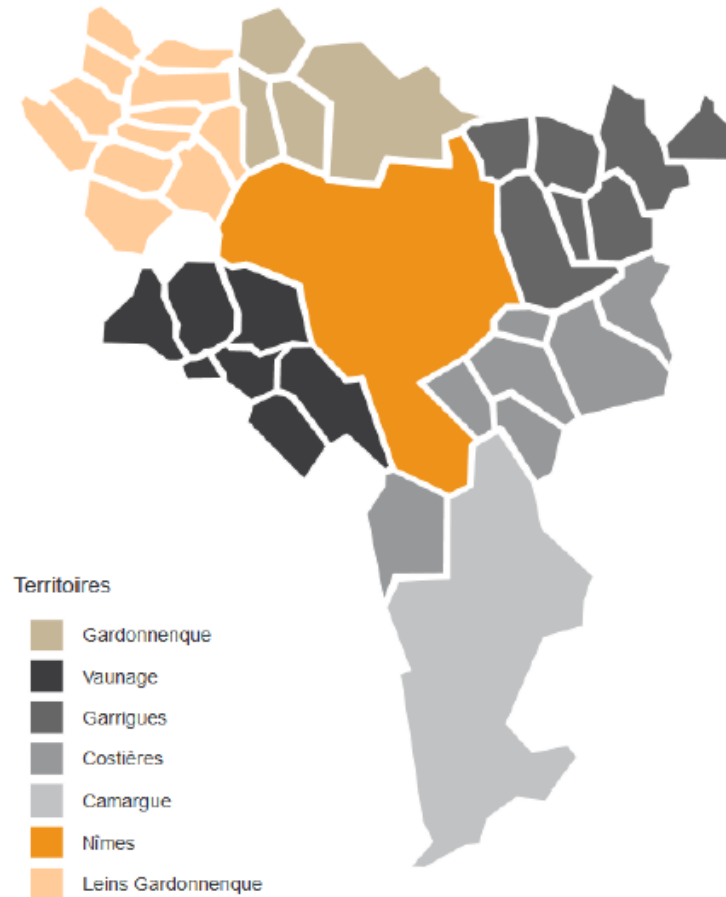
- Présence de pesticides, HAP, molécules pharmaceutiques dans l'eau de consommation

- Pesticides : atrazine et diuron (Enault et al., 2015)
 - Interdit en 2003
 - Carcinogènes suspectés
 - Perturbateurs endocriniens probables

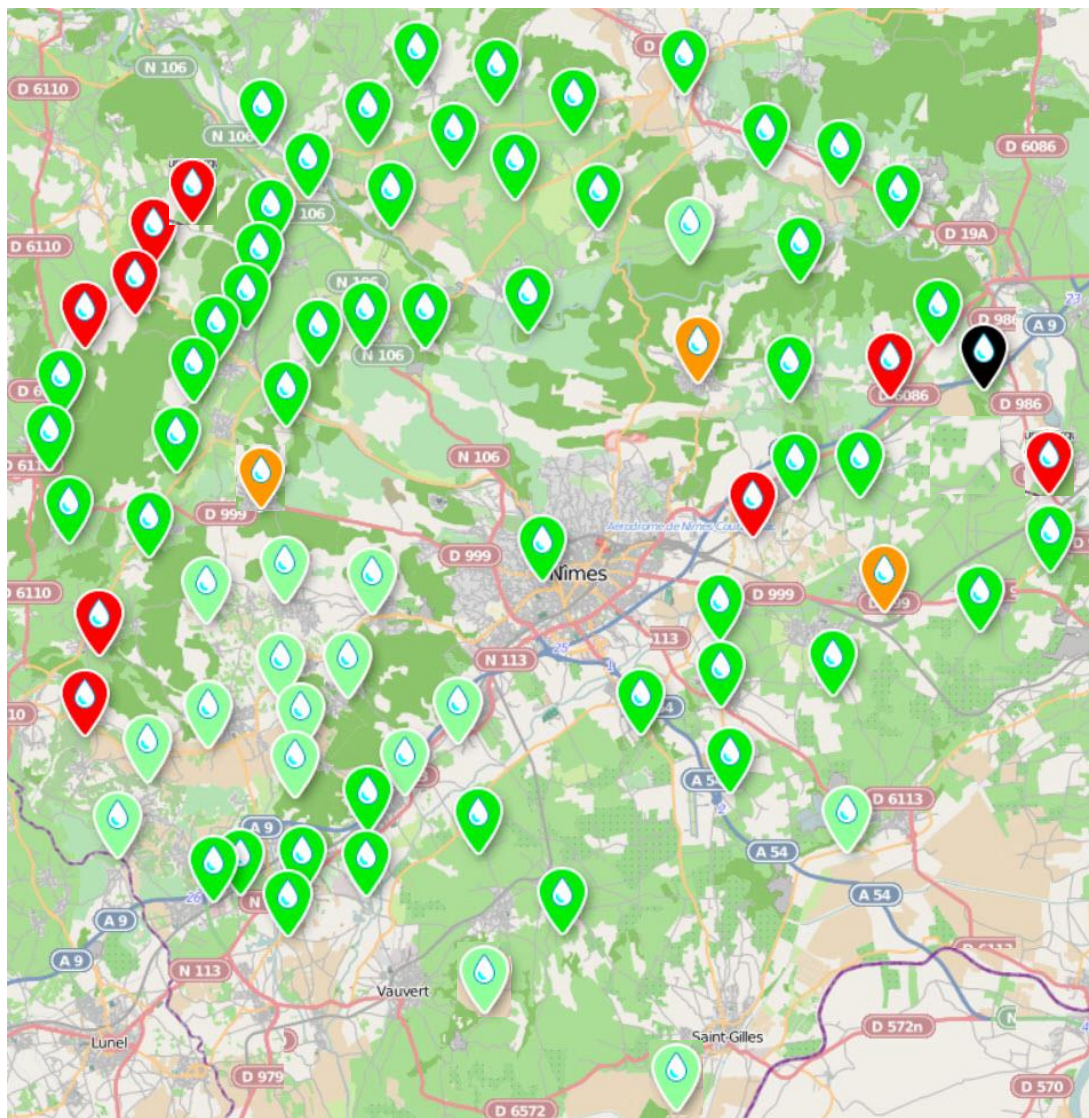
- **Projet 1** : développer des outils pour quantifier l'exposition à des micropolluants

Projets de recherche

- **Projet 1** : développer des outils pour quantifier l'exposition à des micropolluants
- Zone d'étude :
Nîmes-métropole



Projets de recherche



Bonne : 22 communes



Satisfaisante : 8 communes

5 - pesticides et bromates

2 - bromates

1 - pesticides



Médiocre : 2 communes - pesticides



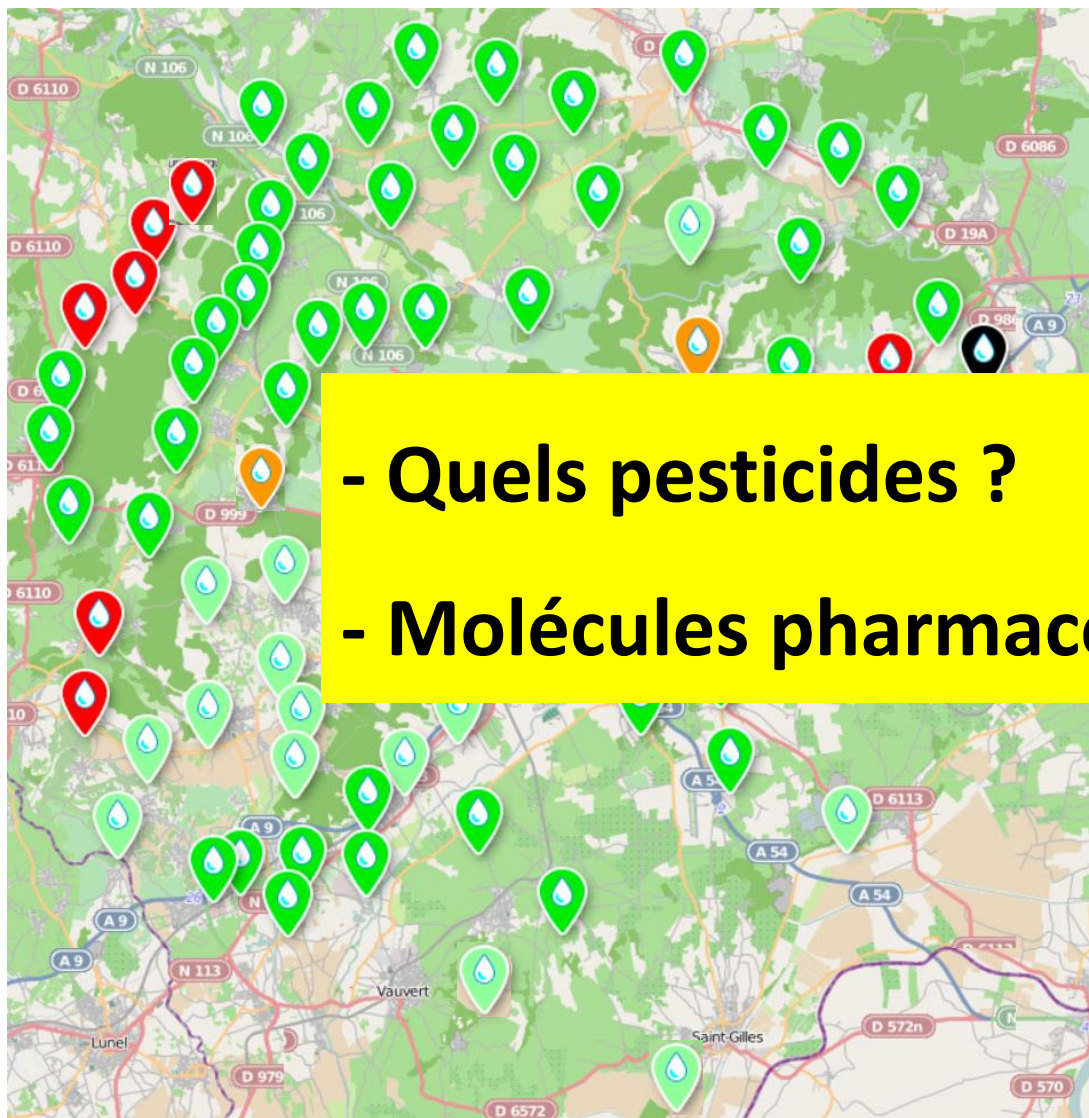
Mauvaise : 6 communes - pesticides



Très mauvaise : 1 commune -
pesticides et plomb

<https://orobnat.sante.gouv.fr/orobnat/rechercherResultatQualite.do>

Projets de recherche



- Quels pesticides ?
- Molécules pharmaceutiques ?



Bonne : 22 communes



Satisfaisante : 8 communes

5 - pesticides et bromates

2 - bromates

1 - pesticides

1 commune - pesticides

1 commune - pesticides

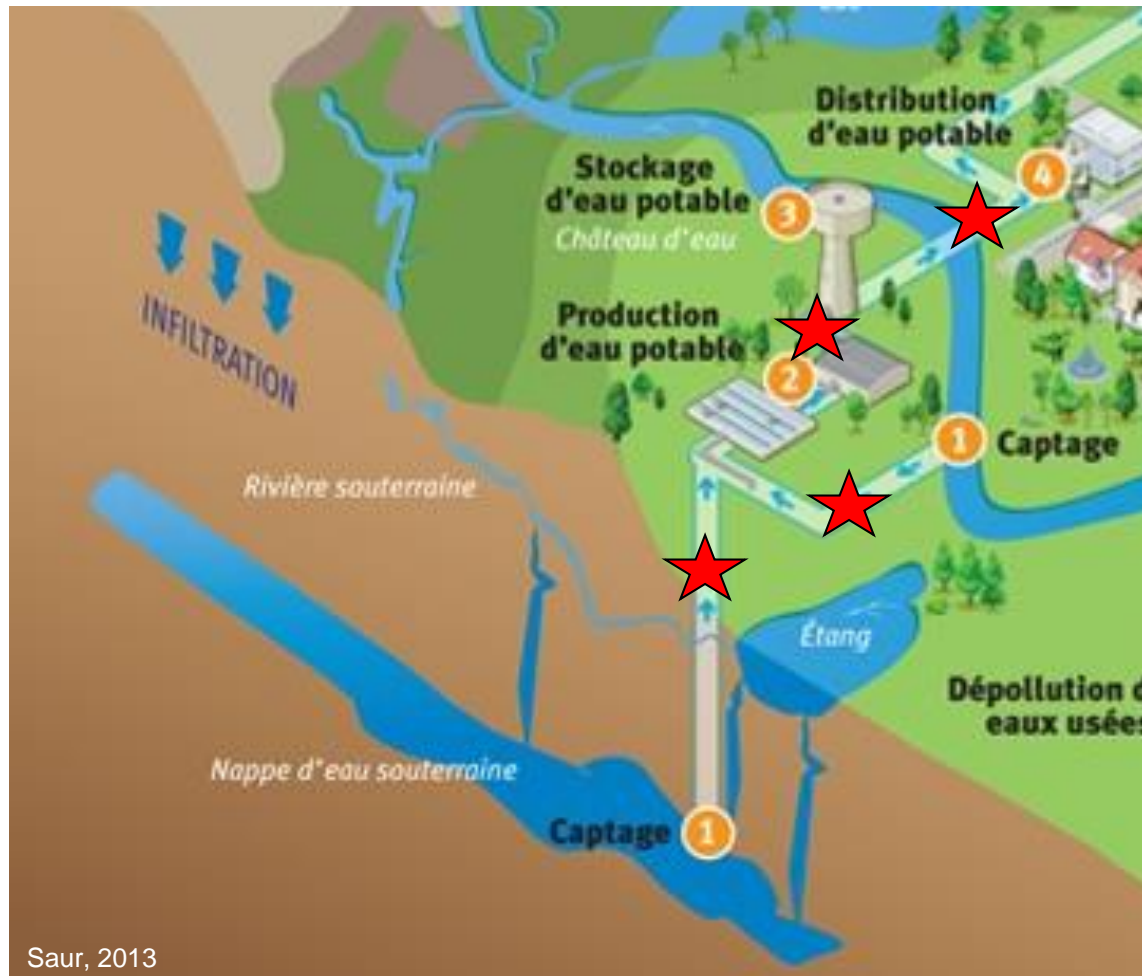


très mauvaise : 1 commune -
pesticides et plomb

<https://orobnat.sante.gouv.fr/orobnat/rechercherResultatQualite.do>

Projets de recherche

- **Projet 1** : développer des outils pour quantifier l'exposition à des micropolluants (★ : collecteur)



Projets de recherche

- **Projet 1** : développer des outils pour quantifier l'exposition à des micropolluants

- Collecteurs



POCIS



Hydrophiles



LDPE



Hydrophobes



Eau

- Extraction, identification et dosage des molécules adsorbées
- Analyses physico-chimiques de l'eau

→ Identifier et quantifier les micropolluants présents dans l'eau de consommation

Projets de recherche

■ Projet 2 : effets sur la santé

■ Choix du ou des micropolluants :

- mélange extrait lors du projet 1 : le plus proche de la réalité mais difficile de déterminer la/les molécules responsables, variation des charges en micropolluants au cours du temps

- un micropolluant particulier : loin de la réalité, effets synergiques non considérés

- mélange de micropolluants les plus abondants : effet d'une exposition chronique à de très faibles doses non considéré

Projets de recherche

■ Projet 2 : effets sur la santé



■ Exposer le poisson zèbre aux micropolluants extraits (projet 1)

[Food Chem Toxicol.](#) 2016 Dec;98(Pt A):25-33. doi: 10.1016/j.fct.2016.03.027. Epub 2016 Apr 1.

Embryonic atrazine exposure alters zebrafish and human miRNAs associated with angiogenesis, cancer, and neurodevelopment.

[Wirbisky SE](#)¹, [Weber GJ](#)², [Schlotman KE](#)³, [Sepúlveda MS](#)⁴, [Freeman JL](#)⁵.

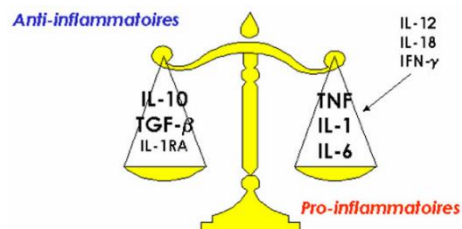
- Collaboration identifiée
- Dosage des micropolluants accumulés par l'organisme
- Réponses physiologiques : développement, mortalité
- Réponses moléculaires de l'organisme et de son microbiote
 - **Métatranscriptomique et métabolomique**
 - **Identification des voies cellulaires (métaboliques, signalisation) perturbées**
 - **Biomarqueurs, liens avec des pathologies**

Projets de recherche

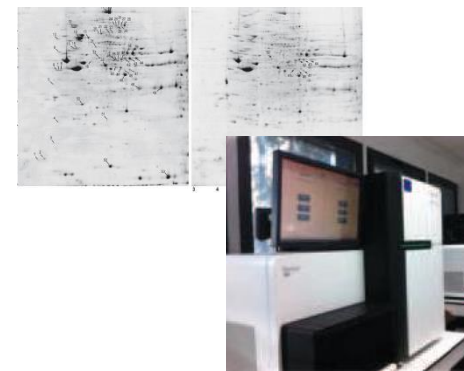
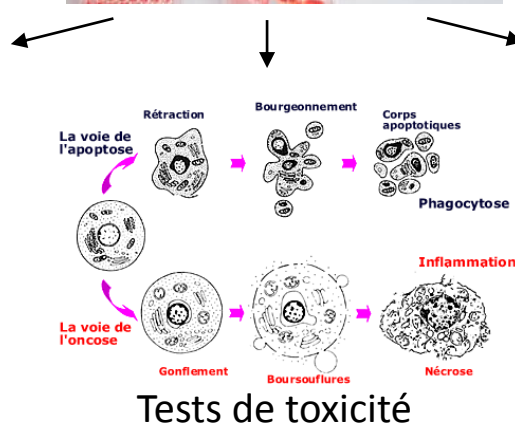
■ Projet 2 : effets sur la santé

- Exposer des lignées cellulaires aux micropolluants extraits (projet 1)

Cellules épithéliales intestinales (Caco2), leucocytes (HL60, Jurkat)



Dosage cytokines



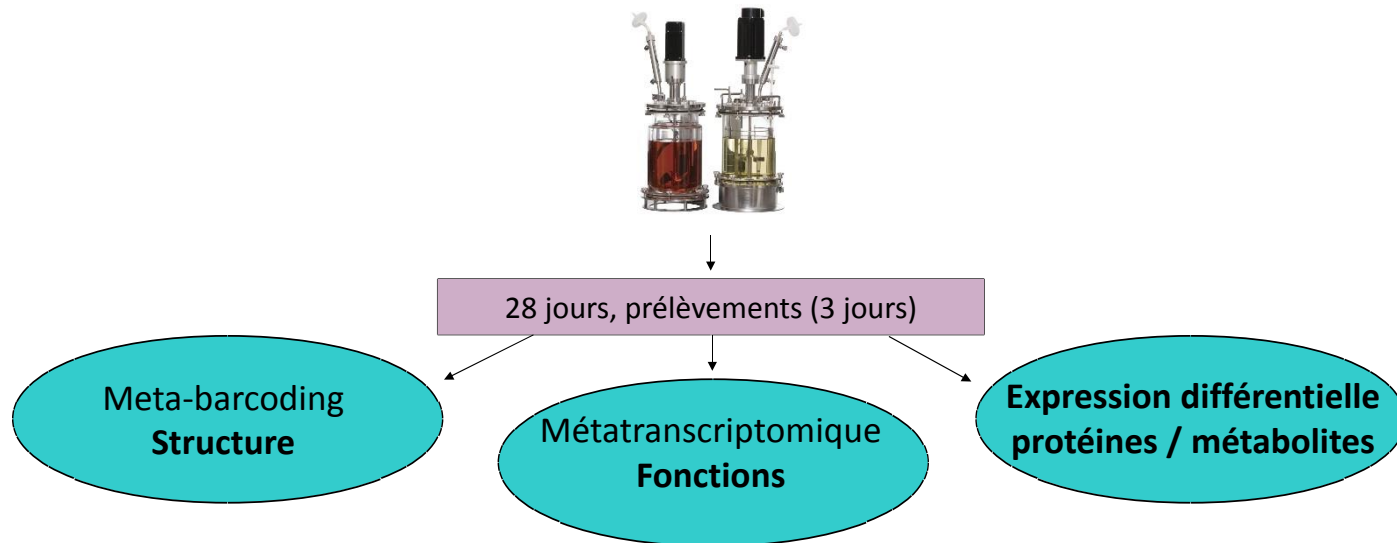
Protéomique/transcriptomique

- Identifier les réponses cellulaires
- Biomarqueurs, liens avec des pathologies

Projets de recherche

■ Projet 2 : effets sur la santé

- Exposer le microbiote intestinal aux micropolluants extraits (projet 1)



→ Identifier les réponses du microbiote intestinal aux micropolluants

→ Biomarqueurs, liens avec des pathologies

Projets de recherche

■ Objectifs à court et moyen terme

- Suivi constant des micropolluants présents dans l'eau de consommation
- Identifier les réponses physiologiques, cellulaires et moléculaires
- Identifier les réponses structurelles et fonctionnelles du microbiote
- Identifier les molécules différenciellement produites en réponse aux micropolluants

■ Objectifs à moyen et long terme

- Valider les biomarqueurs d'exposition
- Etablir des liens directs et indirects (microbiote) micropolluants → pathologies
- Mettre au point des moyens de remédiation : probiotiques / prébiotiques et systèmes d'épuration innovants

Projets de recherche

■ Demandes de financement

- ANR
- Région Occitanie
- ADEME, AFB, FRM, INCA, ARC, Ligue Nationale contre le Cancer

■ Collaborations

- Equipe d'accueil
- Plateformes de séquençage
- Réseau professionnel (public, privé)