



**INERIS**  
maîtriser le risque  
pour un développement durable

  
UNIVERSITÉ  
DE REIMS  
CHAMPAGNE-ARDENNE

UNIVERSITÉ  
  
LE HAVRE  
NORMANDIE

  
Sebio  
UMR-102  
Sanctuaire de l'Environnement et de la Biodiversité  
Stress Environnemental et Bio-surveillance

# LA BIOEVALUATION, ou l'analyse du risque écotoxique et de la santé des écosystèmes à l'aide de sondes biologiques

F. Le Foll

  
CNRS  
Scale  
Sciences appliquées  
à l'environnement

# UMR-I 02 SEBIO

Stress Environnementaux et BIOsurveillance  
des milieux aquatiques



**Biosurveillance passive**

**Biosurveillance active**

**Modèles**

**Bioessais**

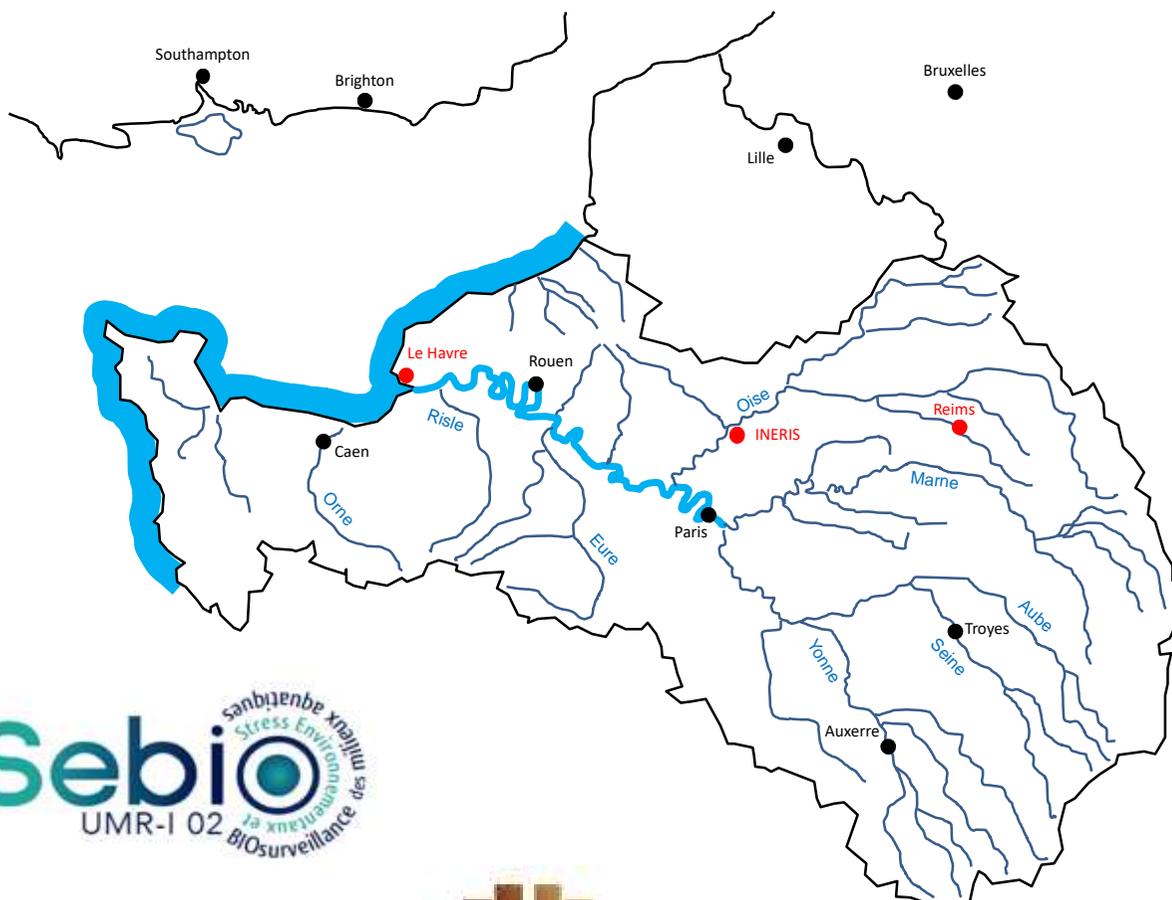
**Biomarqueurs**

**Biocapteurs**

**Moule contaminée**

# UMR-I 02 SEBIO

*Stress Environnementaux et BIOsurveillance  
des milieux aquatiques*



## 3 SITES

ULHN Le Havre  
URCA Reims  
INERIS Verneuil-en-Halatte

## PERSONNELS

33 CHERCHEURS  
20 PERSONNELS TECHNIQUES  
25 CDD, DOCTORANTS & POSTDOCS

## MOYENS

2 PLATEFORMES DE RECHERCHE  
12 RIVIERES ARTIFICIELLES  
1 SITE ATELIER : LA ZA SEINE  
>40 PROGRAMMES FINANCES  
2 MASTERS EN ENVIRONNEMENT

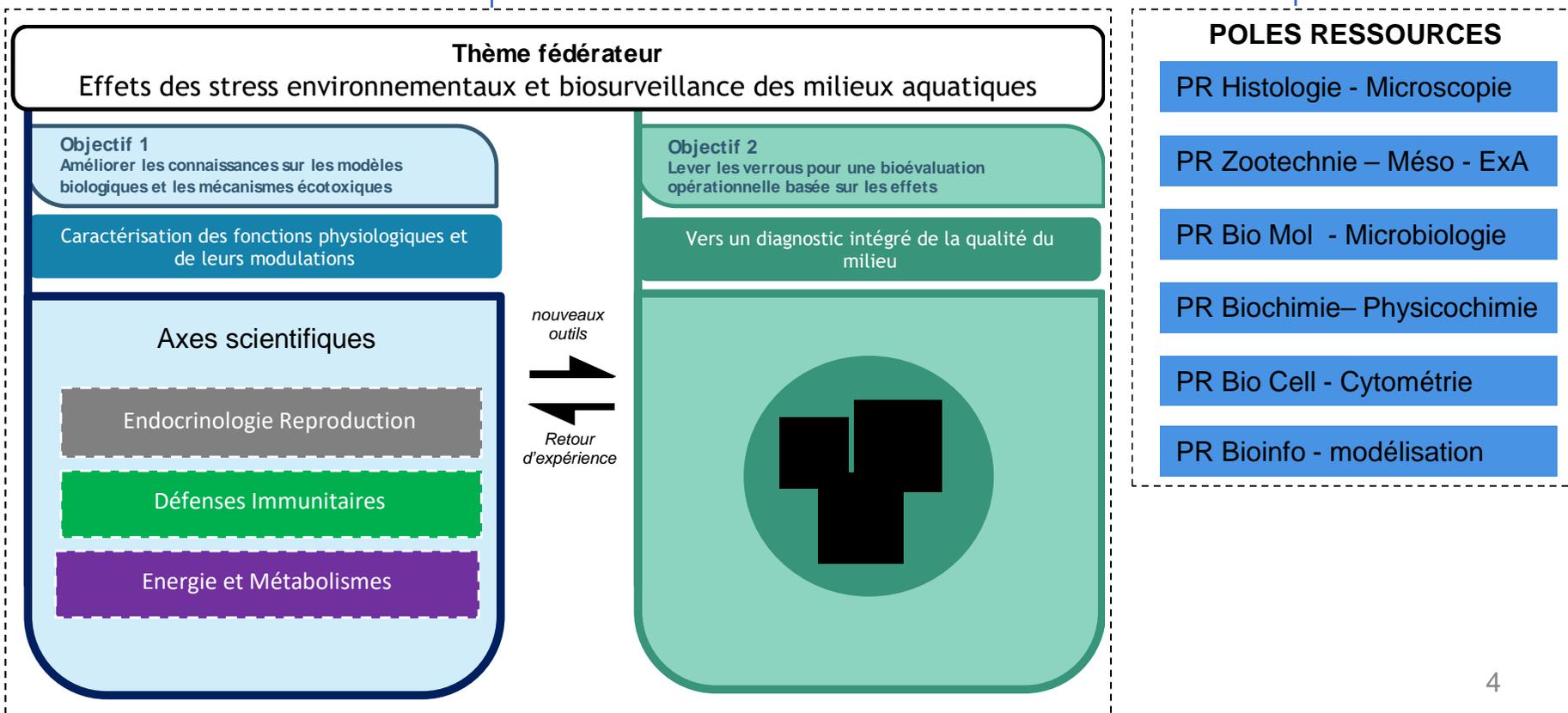
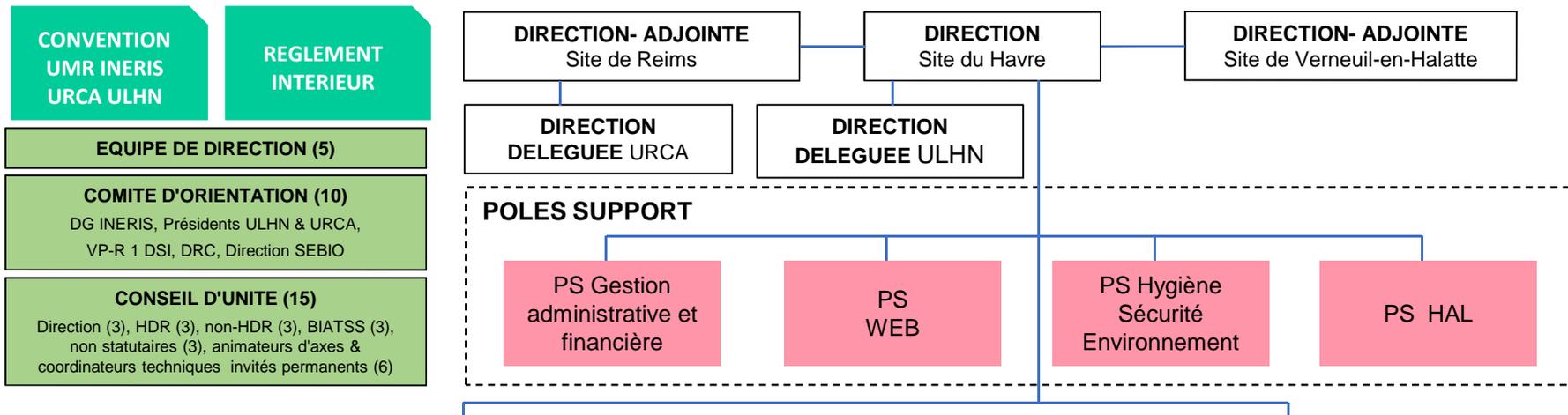
## RESULTATS

50 PUBLICATIONS/an  
5 THESES/an  
14 HDR  
10 RECRUTEMENTS

## PROGRAMMES

ANR  
INTERREG  
H2020  
AFB  
PIA3  
AESN – AERM  
EdF - BioRAD  
Région Normandie  
Région Grand Est

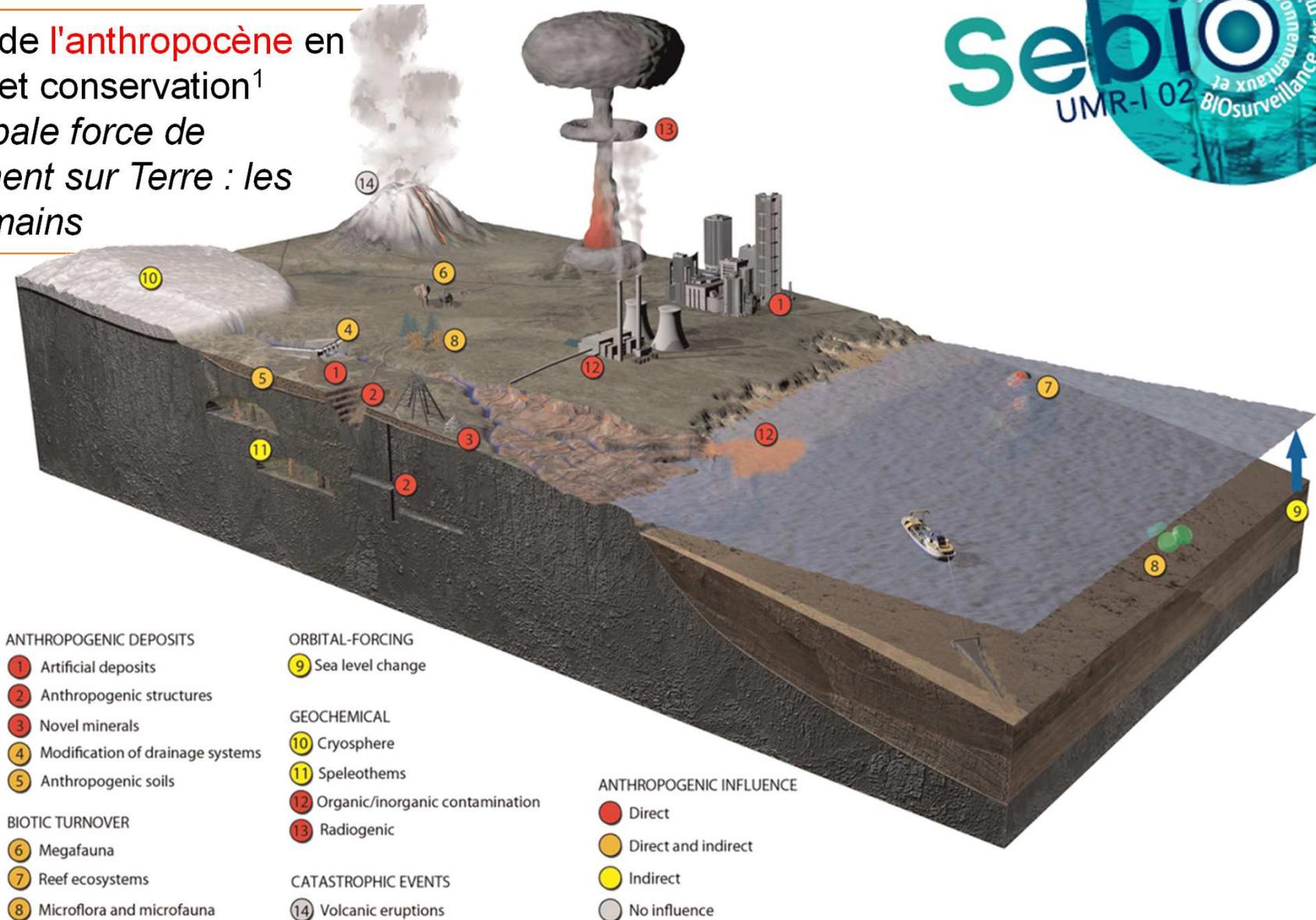
# Organigramme et Structuration Scientifique



## A quelle époque vit-on ?

Concept de l'**anthropocène** en écologie et conservation<sup>1</sup>

→ Principale force de changement sur Terre : les êtres humains

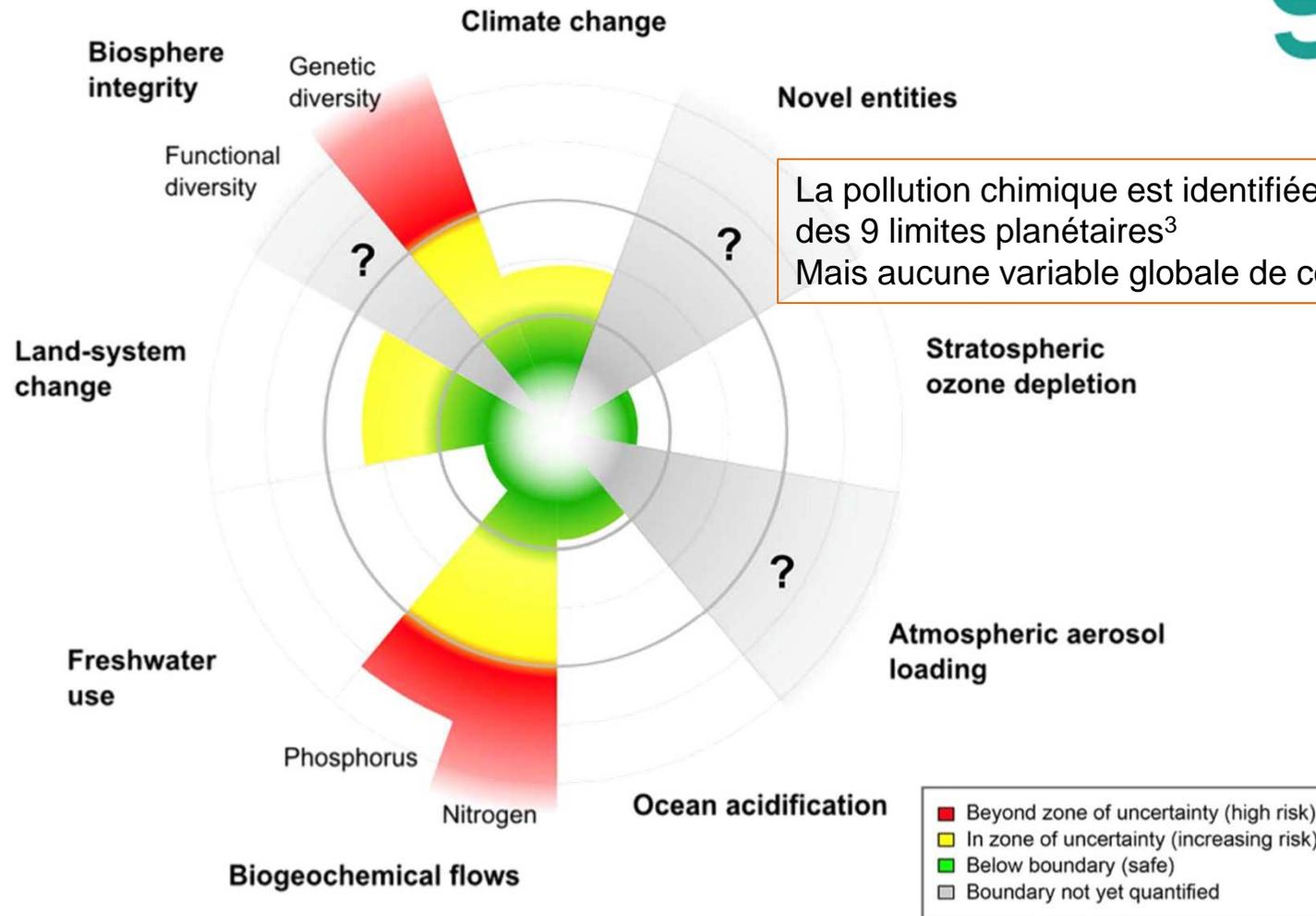


## Evènements clés qui pourraient produire une signature stratigraphique de l'anthropocène<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Corlett, R.T., 2015. The Anthropocene concept in ecology and conservation. Trends Ecol. Evol. 30, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.10.007>

<sup>2</sup>Waters, C.N., Zalasiewicz, J.A., Williams, M., Ellis, M.A., Snelling, A.M., 2014. A stratigraphical basis for the Anthropocene? Geol. Soc. Lond. Spec. Publ. 395, 1–21. <https://doi.org/10.1144/SP395.18>

# La présence ubiquitaire de contaminants signe l'anthropocène



## Identification et statut des variables de contrôle pour 7 des 9 limites planétaires<sup>4</sup>

<sup>3</sup>Rockström, J., Steffen, W., Noone, K., Persson, Å., Chapin, F.S.I., Lambin, E., Lenton, T., Scheffer, M., Folke, C., Schellnhuber, H.J., Nykvist, B., de Wit, C., Hughes, T., van der Leeuw, S., Rodhe, H., Sörlin, S., Snyder, P., Costanza, R., Svedin, U., Falkenmark, M., Karlberg, L., Corell, R., Fabry, V., Hansen, J., Walker, B., Liverman, D., Richardson, K., Crutzen, P., Foley, J., 2009. Planetary Boundaries: Exploring the Safe Operating Space for Humanity. *Ecol. Soc.* 14. <https://doi.org/10.5751/ES-03180-140232>

<sup>4</sup>Steffen, W., Richardson, K., Rockstrom, J., Cornell, S.E., Fetzer, I., Bennett, E.M., Biggs, R., Carpenter, S.R., de Vries, W., de Wit, C.A., Folke, C., Gerten, D., Heinke, J., Mace, G.M., Persson, L.M., Ramanathan, V., Reyers, B., Sorlin, S., 2015. Planetary boundaries: Guiding human development on a changing planet. *Science* 347, 1259855–1259855. <https://doi.org/10.1126/science.1259855>

# La présence ubiquitaire de contaminants signe l'anthropocène

> 100 000 substances anthropogéniques



activités agricoles

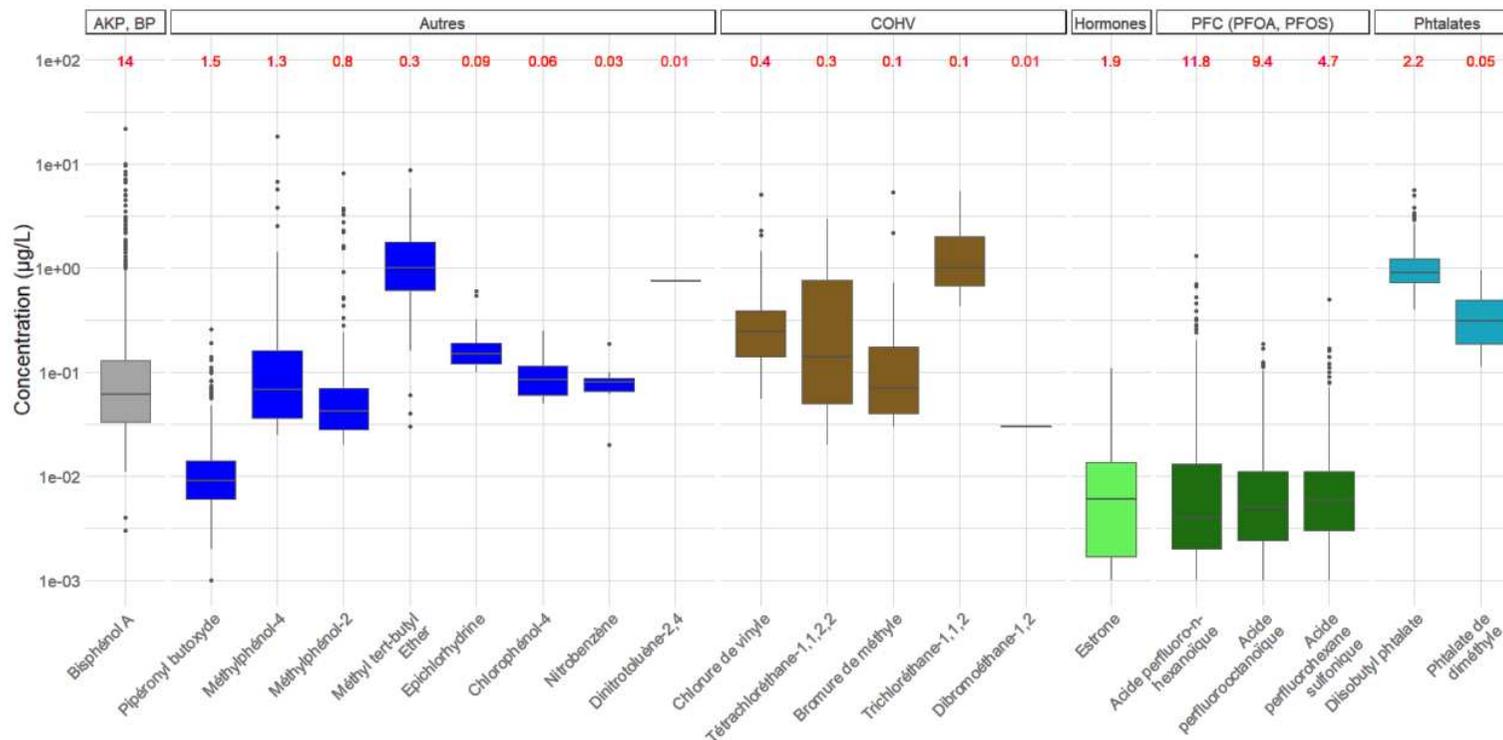


activités industrielles



effluents urbains

> Réceptacle final : les milieux aquatiques ; 103 Substances Pertinentes A Surveiller



21/10/2021

Niveaux d'imprégnation (µg/L) des milieux aquatiques de 2016 à 2018 sur plus de 1600 sites des bassins de métropoles (alkyl- et bisphénols, autres substances, COHV, solvants chlorés, fréons, hormones, composés perfluorés et phtalates). Matrice eau. En rouge, les fréquences de quantification<sup>5</sup>

<sup>5</sup>Substances Pertinentes à Surveiller (SPAS) dans les eaux de surface - Bilan des données de surveillance acquises de 2016 à 2018 pour l'eau et le sédiment

[phtalate de diméthyle]<sub>eau de surface</sub> = 1 µg/L ?  $PNEC_{aqua} = 0,9 \mu\text{g/L}$

Les concentrations dosées dans les matrices environnementales sont-elles révélatrices d'effets délétères ?



- Substance connue
- Substance dosée (FQ)
- LQ < concentrations toxiques
  - Effet(s) connu(s)
  - VTR connue pour l'ensemble des organismes exposés
  - Devenir connu : biodisponibilité, bioaccumulation, biotransformation
  - Changement d'échelle connu : conséquences populationnelles, transgénérationnelles

## BIOEVALUATION

Ensemble d'outils fondés sur la réponse de systèmes vivants pour analyser les **effets** des contaminants chimiques et évaluer le risque écotoxique.

Approche **a priori** ou **prédictive**. Caractérisation du danger intrinsèque, substance par substance. Détermination de VTR.

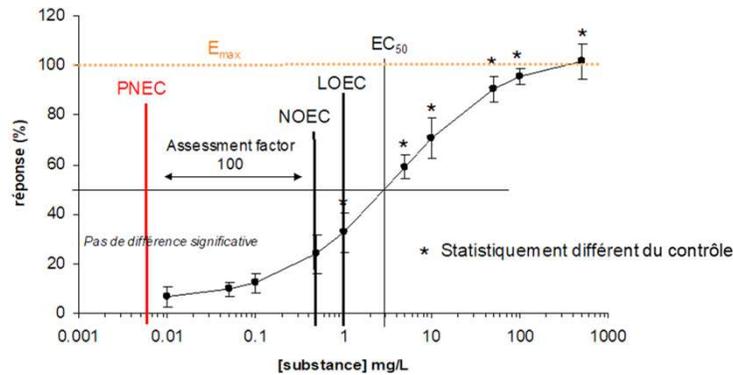
- Levier utilisé par l'EU pour limiter le risque à la source en réglementant l'usage des nouvelles entités chimiques selon une ERE fondée sur des VTR via REACH 1907/2006/CE (compété par les orientations du SDAGE pour les phytopharmaceutiques et la directive 2010/75/UE IED pour les émissions industrielles dangereuses).

Approche **rétrospective**. Evaluer *a posteriori* la qualité des milieux. Réseaux de surveillance par prélèvements eau, sédiment, biote.

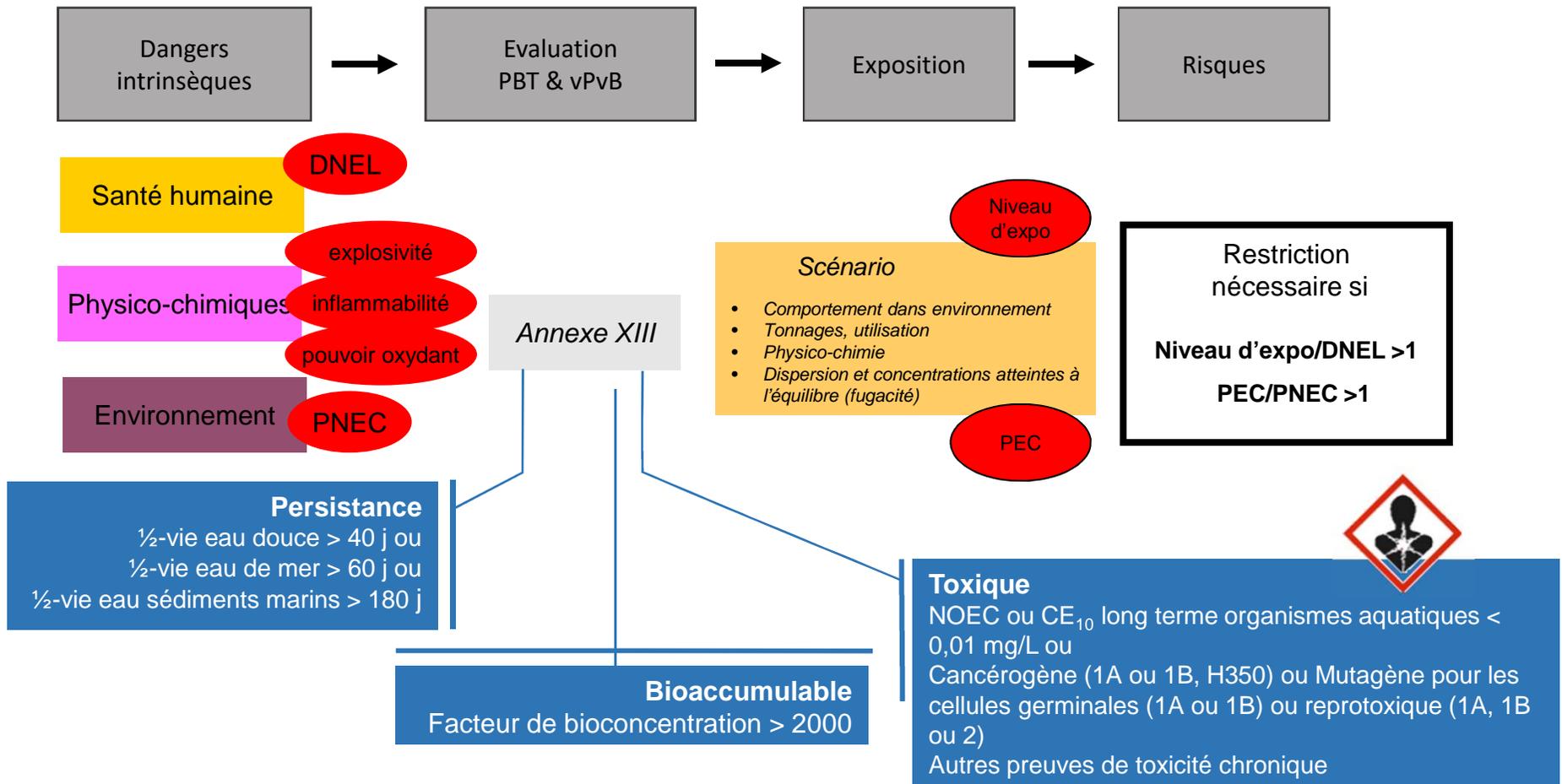
- Levier utilisé par l'EU pour surveiller la qualité des eaux continentales via la directive DCE 2000/60/CE et du milieu marin via la DCSMM 2008/56/CE. Détermination du bon état chimique via une  $NQE_{substance}$  dérivée des VTR (41 substances). Détermination du bon état écologique via des indices biocénétiques.

# La BIOEVALUATION par substance dans REACH

Coordonnées semilogarithmiques



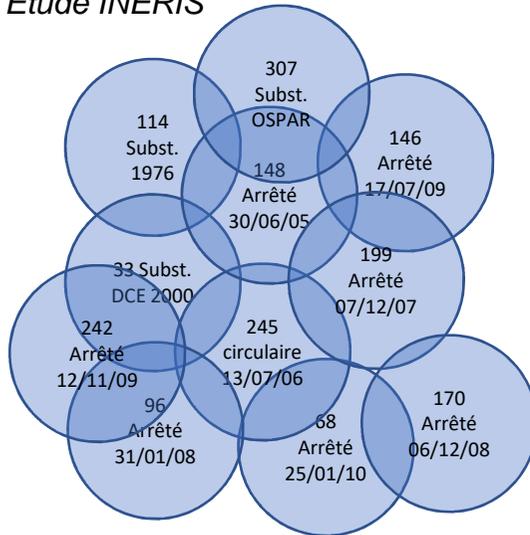
Données disponibles	Facteur d'extrapolation
Au moins une C(L)E <sub>50</sub> court terme pour chacun des 3 niveaux trophiques du jeu de données (poisson, daphnie et algues)	1000
Une NOEC long terme (poisson ou daphnie)	100
2 NOECs long terme d'espèces représentant 2 niveaux trophiques (poissons et/ou daphnie et/ou algue)	50
NOECs long terme pour au moins 3 espèces (poisson, daphnie et algues) représentant 3 niveaux trophiques	10
Distribution de sensibilité des espèces (SSD)	5-1*
Données de terrain ou écosystèmes modélisés	Cas par cas



# La BIOEVALUATION par substance dans la DCE : 1. Bon état chimique

## 1. Listes de substances

Etude INERIS



## 2. Dérivation de la NQE :

$$EQS = QS_{water\_eco}, QS_{sediment}, QS_{biota\_sec\_pois}, QS_{biota\_hh}, QS_{dw\_hh}$$

$QS_{water\_eco}$ :écotoxicité organismes aquatiques

$QS_{sediment}$ :écotoxicité organismes benthiques

$QS_{biota\_sec\_pois}$ :empoisonnement prédateurs

$QS_{biota\_hh}$ :val limites prod pêche conso humaine

$QS_{water\_eco}$ :norme dans les eaux de boisson

**Atrazine** ; interdit depuis 2001 – CE<sub>50</sub> 96 h truite = 8 800 µg/L  
– CE<sub>50</sub> daphnie = 6 900 µg/L Eaux de surface intérieures :  
**NOEC = NQE-MA 0,6 µg/L – NQE-CMA 2 µg/L**

## 3. Dosages chimiques

**Atrazine** : Imprégnation Seine à Poses 0-0,5 µg/Leau

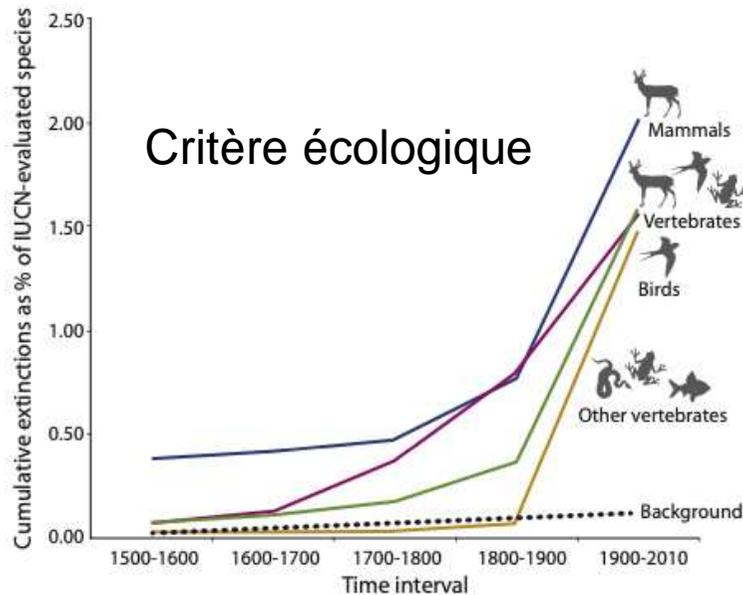
## 2. Bon Etat Ecologique

**Etat écologique** : l'appréciation de la structure et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Utilisation d'**indices**:

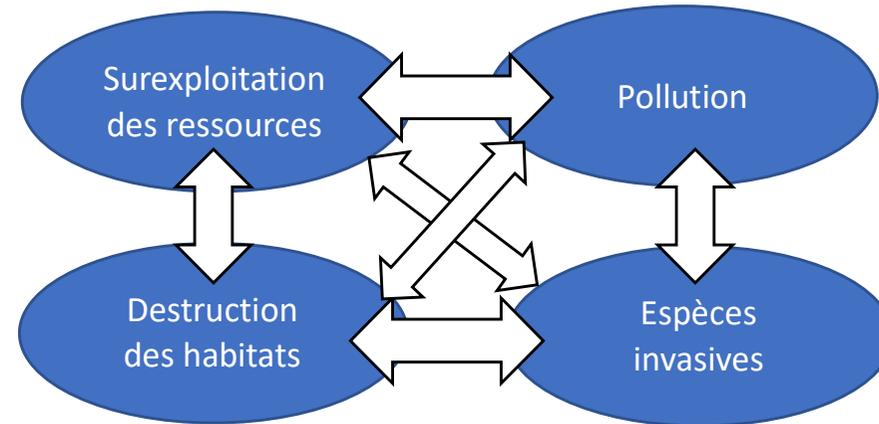
- Indice Biologique Diatomées IBD – NF-T90-354
- Indice Biologique Global Normalisé IBGN (Richesse faunistique en macroinvertébrés d'eau douce) – XP-T90-333 ou 388
- Indice Poisson Rivière IPR (composition du peuplement, richesse taxonomique, structure trophique et abondance – XP-T90-383
- Indice Biologique Macrophytique en Rivière IBMR – NF-T90-395



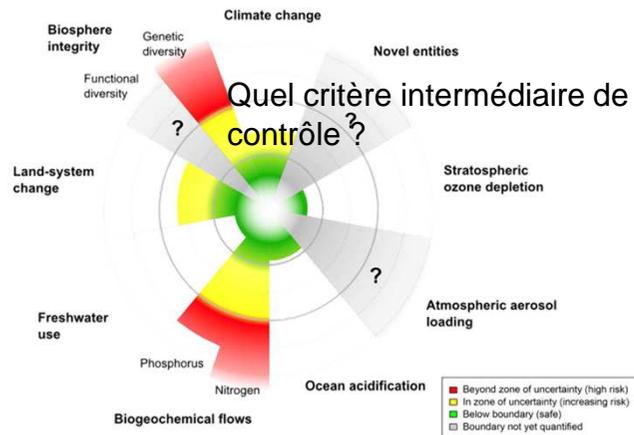
## Est-ce suffisant ?



## Causes combinées de la fragilisation des écosystèmes



## Extinctions cumulées des espèces selon IUCN (2012). Estimation conservative<sup>6</sup>



## LES METHODES EFFETS-CENTREES EN ECOTOXICOLOGIE

- ✓ Fidèles à la complexité de l'éco-exposome
  - les effets cocktails, cumulés ou combinés
  - les traits d'histoire de vie des organismes considérés
  - la biodisponibilité, bioaccumulation, biotransformation
- ✓ reflètent la biologie des organismes exposés
- ✓ holistiques, sans cible fonctionnelle prédéterminée.
- ✓ adaptées aux contaminants émergents
- ✓ Révèlent des mécanismes d'action spécifiques, prédictifs à l'échelle de l'écosystème,
  - faire le lien avec le statut écologique du milieu
  - Former un **critère intermédiaire de contrôle**, utilisable en prévention, préférable à la remédiation

<sup>6</sup>Ceballos, G., Ehrlich, P.R., Barnosky, A.D., García, A., Pringle, R.M., Palmer, T.M., 2015. Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. *Sci. Adv.* 1, e1400253. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1400253>

# APPROCHES EN BIOEVALUATION DU RISQUE ECOTOXIQUE



# Informations toxicologiques nouvelles sur les polluants émergents



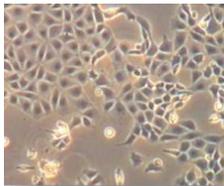
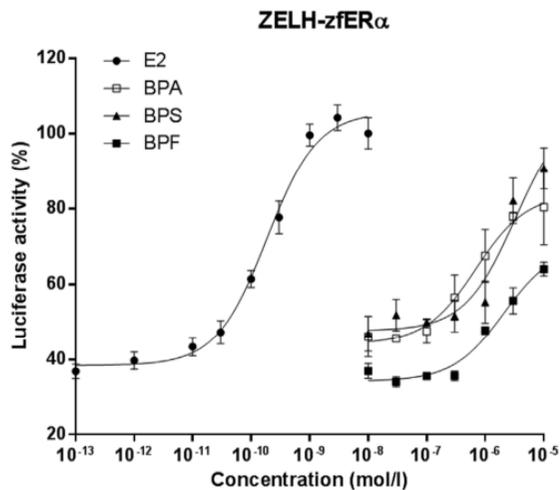
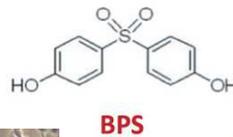
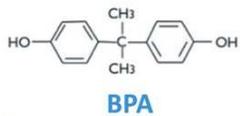
Evaluation des risques a priori

Toxique

Bioessais

In vitro

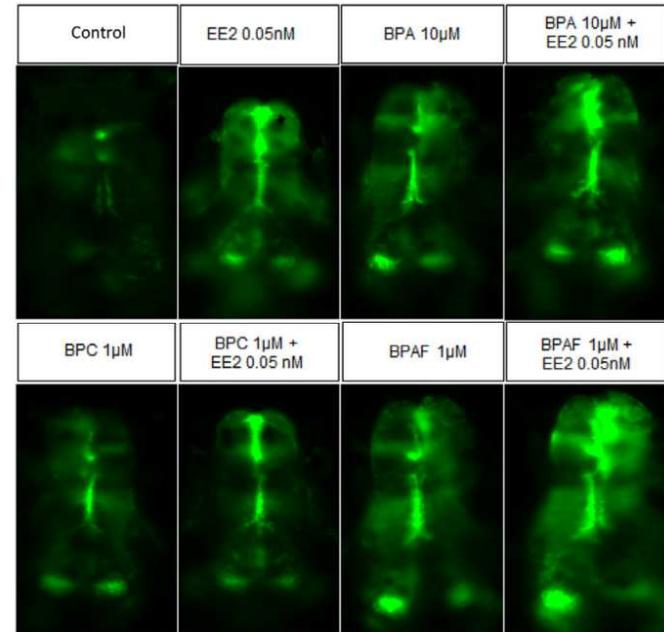
- Propriétés oestrogéniques des substitués du BPA à l'échelle cellulaire



TG EASZY



- Induction tissu spécifique de la signalisation oestrogénique



Induction de l'aromatase cérébrale par les BPA, BPAF, BPC ou EE2 chez des larves transgéniques cyp19a1b-GFP<sup>8</sup>

Induction de la luciférase comme gène rapporteur dans des lignées exprimant les récepteurs aux œstrogènes du zebrafish<sup>7</sup>



<sup>7</sup>Le Fol, V., Aït-Aïssa, S., Sonavane, M., Porcher, J.-M., Balaguer, P., Cravedi, J.-P., Zalko, D., Brion, F., 2017. In vitro and in vivo estrogenic activity of BPA, BPF and BPS in zebrafish-specific assays. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 142, 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.04.009>

<sup>8</sup>Pinto, C., Hao, R., Grimaldi, M., Thrikawala, S., Boulahtouf, A., Aït-Aïssa, S., Brion, F., Gustafsson, J.-Å., Balaguer, P., Bondesson, M., 2019. Differential activity of BPA, BPAF and BPC on zebrafish estrogen receptors in vitro and in vivo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 380, 114709. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2019.114709>

<sup>9</sup>Brion, F., De Gussem, V., Buchinger, S., Hollert, H., Carere, M., Porcher, J.-M., Piccini, B., Féray, C., Dulio, V., Könnemann, S., Simon, E., Werner, I., Kase, R., Aït-Aïssa, S., 2019. Monitoring estrogenic activities of waste and surface waters using a novel in vivo zebrafish embryonic (EASZY) assay: Comparison with in vitro cell-based assays and determination of effect-based trigger values. *Environ. Int.* 130, 104896. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.06.006>

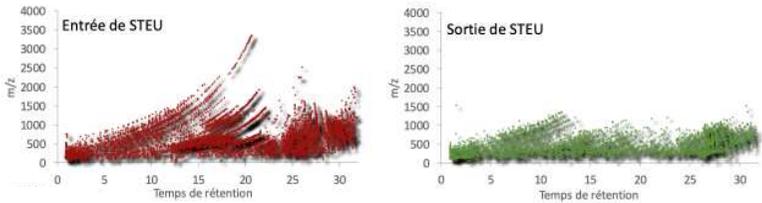
# Puissance des bioanalyses environnementales

Surveillance de la qualité de l'environnement

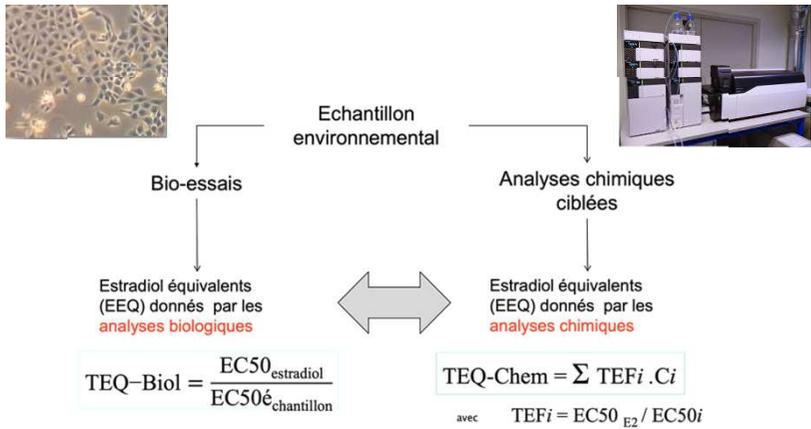
Milieu

Bioessais

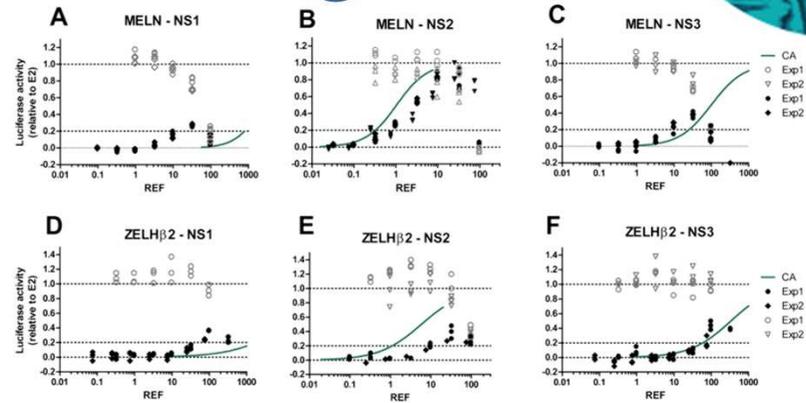
In vitro



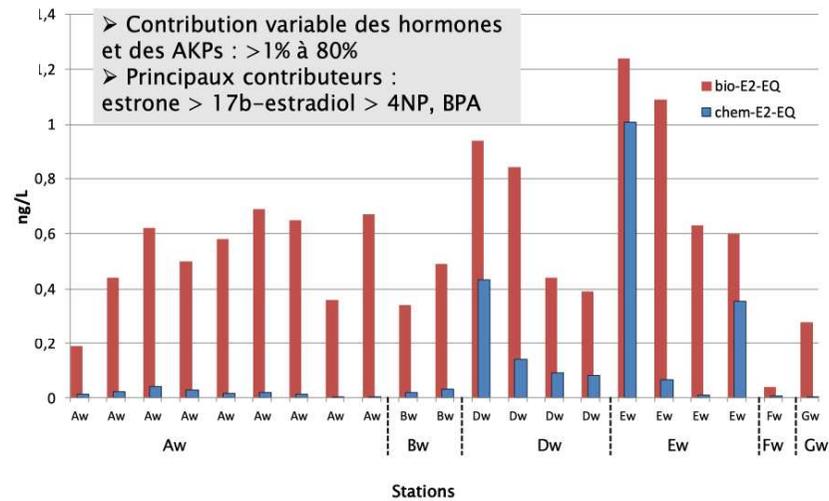
Analyse LC-MSMS des eaux brutes en entrée et sortie de STEU



Comparaison des TEQ biologiques et TEQ chimiques



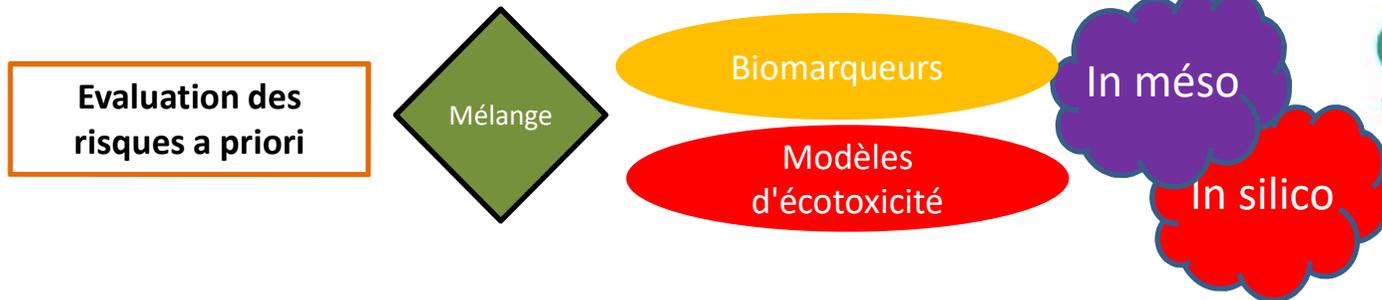
Activités oestrogéniques et anti-oestrogéniques (en présence de 0,1 nM E2) d'échantillons des eaux de surface du Danube. La ligne verte représente l'effet prédictif sur la base de l'addition des concentrations. <sup>10</sup>



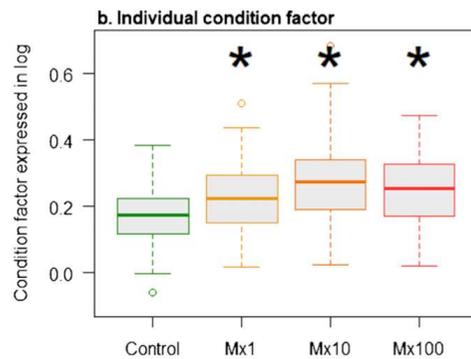
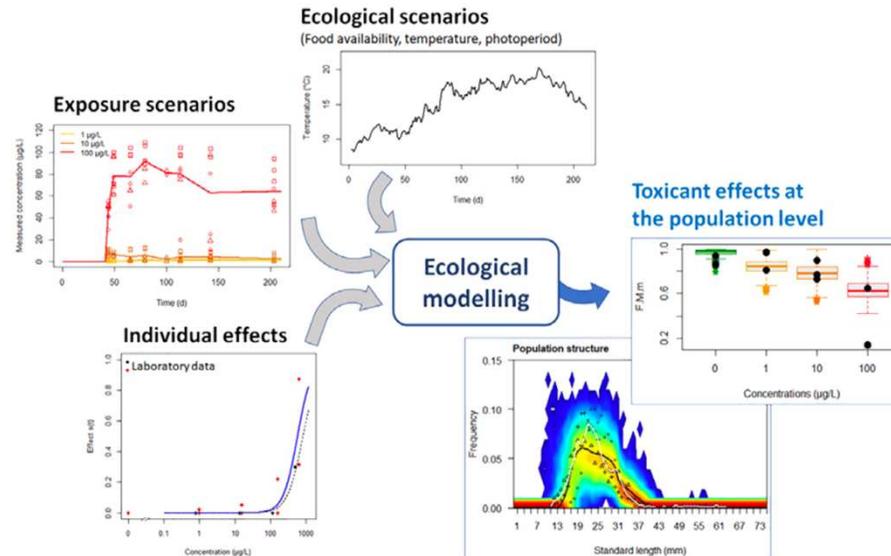
Effluents urbains : contribution partielle des polluants ciblés par la chimie. Les bioessais intègrent des xéno-oestrogènes non dosés ou inconnus

<sup>10</sup>Serra, H., Brion, F., Chardon, C., Budzinski, H., Schulze, T., Brack, W., Ait-Aïssa, S., 2020. Estrogenic activity of surface waters using zebrafish- and human-based in vitro assays: The Danube as a case-study. Environ. Toxicol. Pharmacol. 78, 103401. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103401>

# Données toxicocinétiques et prédictions avec changement d'échelle



- Effets en dynamique des populations d'une exposition chronique d'épinoches à 3 épines à un mélange de pharmaceutiques (diclofenac, carbamazépine, irbesartan, acetaminophen and naproxen) en mésocosmes dynamique des populations<sup>11</sup>



## Biomarqueurs individuels

Facteur de condition  
 Liver somatic index  
 Gonadal somatic index  
 Amylase intestinale  
 Phosphatase alcaline  
 NFS  
 Viabilité leucocytaire  
 Burst respiratoire  
 Présence lysosomale  
 Activité phagocytaire  
 VTG

## Endpoints populationnels

NF, NM  
 FF, FJ  
 Naissances ...

## Modèle DEB-IBM

Des effets individuels (CF et PA) sans effets significatifs sur la structure de la population. Les modèles DEB-IBM indiquent que l'exposition chronique n'affecte pas fortement les populations d'épinoche. Des mécanismes de régulation populationnelle en mésocosme ont certainement compensés l'effet du mélange.

<sup>11</sup>David, V., Joachim, S., Catteau, A., Nott, K., Ronkart, S., Robert, C., Gillard, N., Bado-Nilles, A., Chadili, E., Palluel, O., Turies, C., Julian, N., Castiglioni, S., Dedourge-Geffard, O., Hani, Y.M.I., Geffard, A., Porcher, J.M., Beaudouin, R., 2020. Effects of chronic exposure to a pharmaceutical mixture on the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) population dynamics in lotic mesocosms. *Aquat. Toxicol.* in press.

# Biosurveillance passive

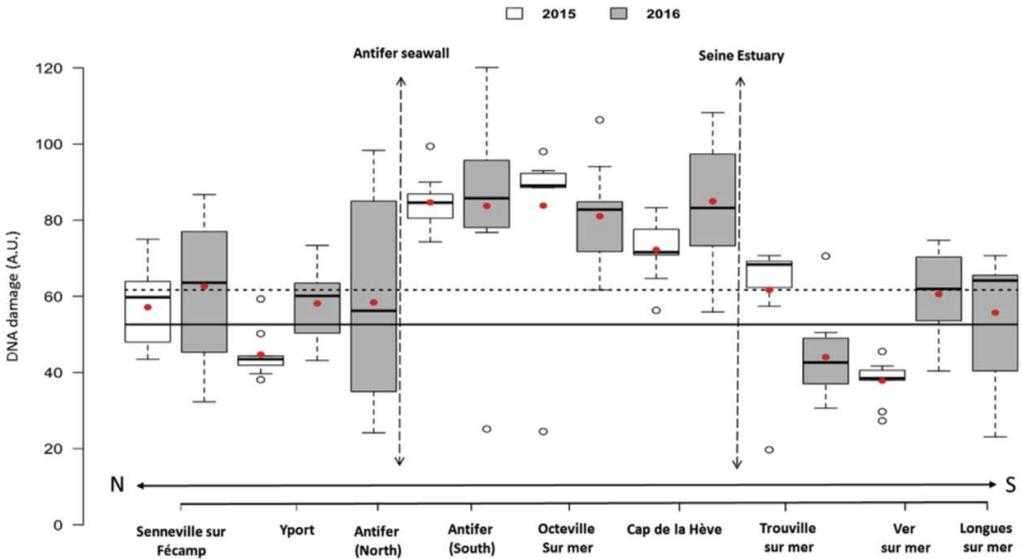
Surveillance de la qualité de l'environnement



**Intégrité de l'ADN spermatique chez *Palaemon* sp**

Spermatozoïde de *Palaemon* sp

- Acquisition de données de référence<sup>11</sup>



- Déploiement (biosurveillance passive)



- ✓ Suivi du continuum estuaire-littoral
- ✓ Pertinence des réponses observées
- ✓ 6 ans d'acquisition



<sup>11</sup>Erraud, A., Bonnard, M., Chaumot, A., Geffard, O., Dufлот, A., Forget-Leray, J., Le Foll, F., Geffard, A., Xuereb, B., 2018. Use of sperm DNA integrity as a marker for exposure to contamination in *Palaemon serratus* (Pennant 1777): Intrinsic variability, baseline level and in situ deployment. *Water Res.* 132, 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.057>

# Biosurveillance active sur un continuum de masses d'eau

Surveillance de la qualité de l'environnement

Milieu

Biomarqueurs

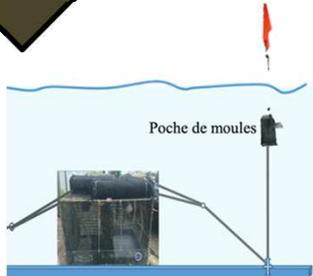
Cages in situ



Engagement avec un zodiac



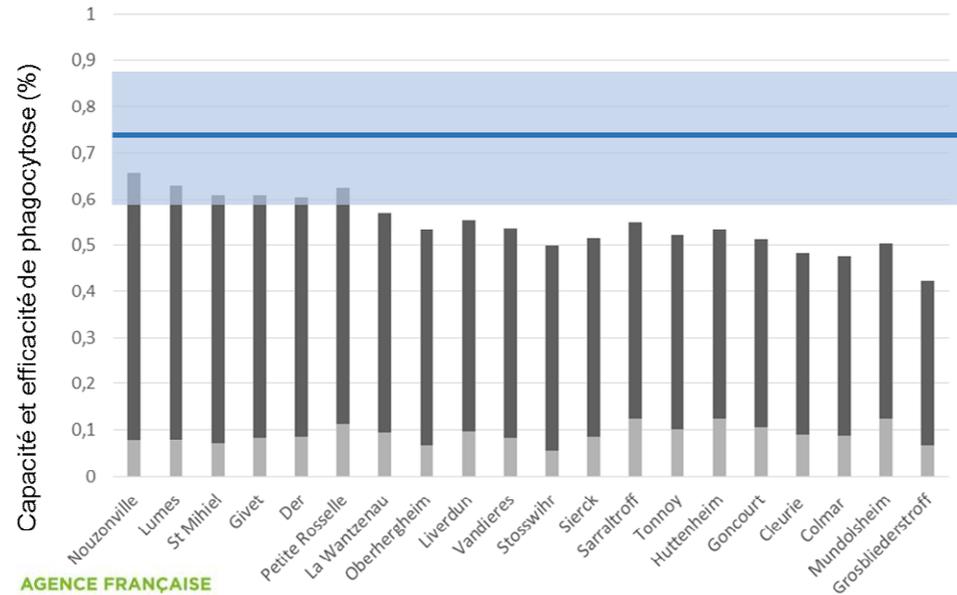
Cage des flets



Fixation des poche de moules Sur le flotteur des cages des flets

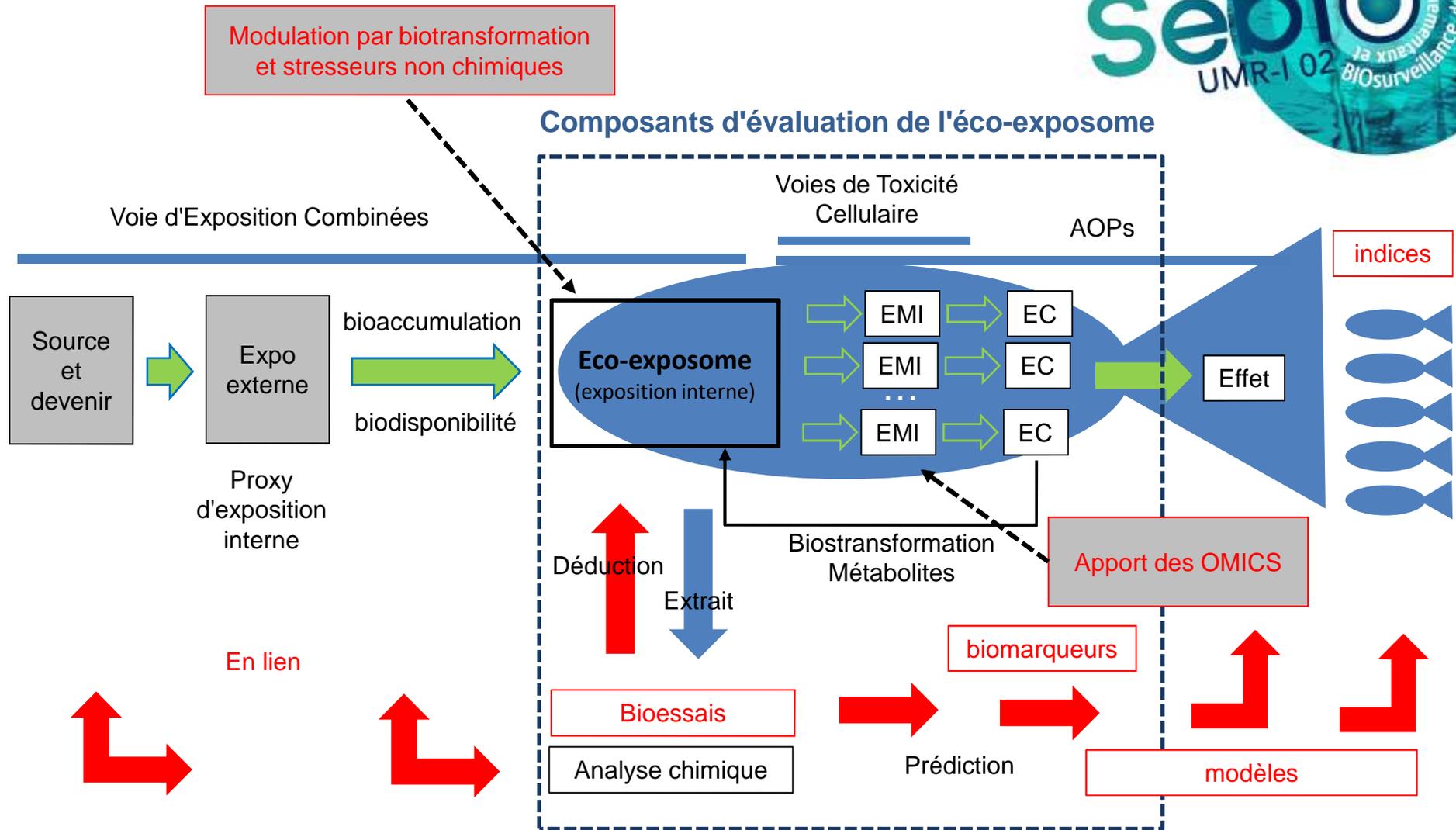
	Mytilus	Dreissena	Mytilopsis	Crevette	Gammaré	Flet	Epinouche
<b>Prélevement</b>	Ponction Musc. add. Pos. Indiv. 4°C	Ponction Musc. add. Pos. Indiv. 4°C	Ponction Musc. add. Pos. Indiv. 4°C	Ponction Cardiaque Indiv. 4°C	Ponction entre le 2 <sup>ème</sup> et 4 <sup>ème</sup> segment dorsal Pool 1 indiv. 4°C	Dissection Org. Lympho II Indiv.	Dissection Org. Lympho II Indiv.
<b>Préparation</b>	ALS 50/50	L15-15%	MPS	ALS 20/80	HBS5	Broyage Centrif. Ficoll L15 héparine Li	Broyage L15 héparine Li
<b>Numeration</b>	Viab IP NFS cyto	N. Kova	N. Thoma	Viab IP NFS cyto	Marquage Hoechst 10 min 16°C Microscopie	N. Mallassez Transport 24 h - 4°C	N. Mallassez Transport 24 h - 4°C
<b>Ajustement Etalage</b>	100 000 c Plaque 30 min 15°C	75 000 c Plaque	100 000 c Tube	80 000 c Plaque 100 µL ALS qsp 30 min 15°C	Ajustement billes	200 000 c	200 000 c
<b>Phago</b>	50 billes 2 µm <sup>2</sup> MPSS 200 µL qsp 2 h 15°C	50 billes 2 µm <sup>2</sup> L15-15 200 µL qsp 4 h 18°C	100 billes 1 µm <sup>2</sup> 1 h 17°C	250 billes 1 µm <sup>2</sup> MPSS 200 µL 2 h 15°C	200 billes 2µm <sup>2</sup> 200µl HBS5 qsp 4h 16°C	150 billes 1 µm <sup>2</sup> L15 1 h RT	150 billes 1 µm <sup>2</sup> L15 1 h RT
<b>Décoll. Fix. Viab post Phago</b>	ALS Double Marquage IP	Trypsine EDTA 10 Triple Marquage IP Hoechst	Double marquage Hoechst Fixation FA 3%	Trypsine NaCl 10 Triple Marquage IP	Trypsine EDTA 10 Triple Marquage IP		
<b>Results</b>	P+V+ P-V+ P-V+ P-V+	P+V+ P-V+ P-V+ P-V+	Différé P+P-	Double Marquage IP P+V+ P-V+ P-V+ P-V+	P+V+ P-V+ P-V+ P-V+	P+P-	P+P-

## Retours sur la campagne BIOSURVEILLANCE 2020 Stratégie globale de déploiement



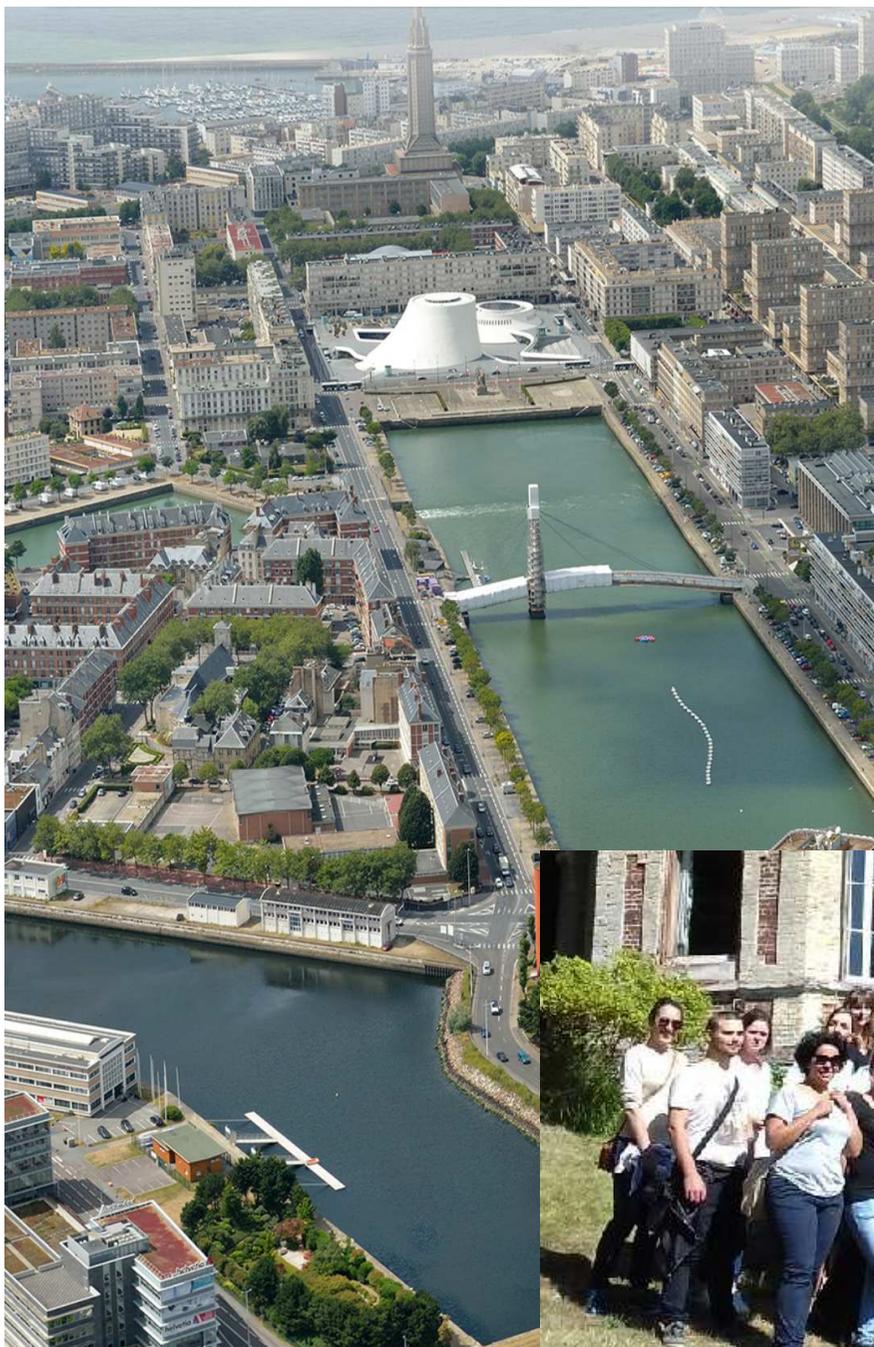
Sites

# CONCLUSION : BIOEVALUATION et éco-exposome



*Apport des méthodes de BIOEVALUATION dans la connaissance de l'éco-exposome (d'après 12)  
En rouge, les éléments explorés par les méthodes de bioévaluation*

<sup>12</sup>Scholz, S., Nichols, J.W., Escher, B.I., Ankley, G.T., Altenburger, R., Blackwell, B., Brack, W., Burkhard, L., Collette, T.W., Doering, J.A., Ekman, D., Fay, K., Fischer, F., Hackermüller, J., Hoffman, J.C., Lai, C., Leuthold, D., Martinovic-Weigelt, D., Reemtsma, T., Pollesch, N., Schroeder, A., Schüürmann, G., von Bergen, M., 2021. The Eco-Exposome concept: Supporting an Integrated Assessment of Mixtures of Environmental Chemicals. Environ. Toxicol. Chem. <https://doi.org/10.1002/etc.5242>



MERCI

