

PIREN  
Seine



Fascicule #24



# Le rôle du biote comme témoin de la qualité de l'eau de la Seine

Sous la direction de Aurélie Goutte et Marc Bonnard





# Le rôle du biote comme témoin de la qualité de l'eau de la Seine

**Sous la direction de :**  
**Aurélie Goutte<sup>[1]</sup> et Marc Bonnard<sup>[2]</sup>**

**Contributeurs :**

**Fabrice Alliot<sup>[1]</sup>, Thierry Berthe<sup>[3]</sup>, Aurélie Bigot-Clivot<sup>[2]</sup>, Hélène Blanchoud<sup>[1]</sup>, Marc Bonnard<sup>[2]</sup>, Nicolas Boudaud<sup>[4]</sup>,  
Julie Do Nascimento<sup>[2]</sup>, Benjamin Janvier<sup>[3]</sup>, Christophe Gantzer<sup>[5]</sup>, Alain Geffard<sup>[2]</sup>, Aurélie Goutte<sup>[1]</sup>,  
Pierre Labadie<sup>[6]</sup>, Emilie Lance<sup>[2]</sup>, Jérémie D. Lebrun<sup>[7]</sup>, Léa Lorrain-Soligon<sup>[1]</sup>, Etienne Marchand<sup>[1]</sup>, Noëlie Molbert<sup>[1]</sup>,  
Mélissa Palos-Ladeiro<sup>[2]</sup>, Fabienne Petit<sup>[3]</sup>**

[1] Sorbonne Université / EPHE / CNRS, UMR METIS - [2] Université de Reims Champagne-Ardenne / INERIS / ULH, UMR SEBIO  
[3] Université Rouen Normandie / Université Caen Normandie / CNRS, M2C - [4] Département Sécurité Alimentaire, Actalia  
[5] Université de Lorraine/CNRS UMR 7564 LCPME - [6] Université de Bordeaux/CNRS, UMR 5805 EPOC - [7] INRAE, UR HYCAR



# Sommaire



**CHAPITRE 1 : Une seule santé : un cadre pour étudier la pollution environnementale 8**

1. La pollution de l'environnement aquatique 10
2. L'évaluation des risques écotoxicologiques 10
3. Le cadre « une seule santé » 12
4. Les contaminants chimiques étudiés dans le bassin de la Seine 12
5. Les contaminants biologiques étudiés dans le bassin de la Seine 16
6. Les approches développées dans le cadre du PIREN-Seine 19

**CHAPITRE 2 : L'utilisation du biote pour évaluer la contamination du milieu 22**

1. Les niveaux de contaminants chimiques dans les organismes vivants 24
2. Le transfert de contaminants le long de la chaîne trophique 28
3. Les contaminants biologiques 30

**CHAPITRE 3 : Les effets à différentes échelles biologiques 40**

1. Les gammars : des organismes historiquement étudiés 42
2. Les hémocytes comme modèle cellulaire pour l'évaluation de la génotoxicité et de l'immunotoxicité des masses d'eaux 42
3. Intégrer les effets écotoxicologiques de l'échelle cellulaire aux traits d'histoire de vie 46
4. Vers l'évaluation des effets à l'échelle des populations et des communautés 47

**CONCLUSION GÉNÉRALE 50**

Références 52

Glossaire 58

Sigles 59



# Introduction

Le bassin de la Seine est caractérisé par un tissu urbain en forte expansion, des nombreuses activités industrielles, mais également une agriculture très productive. Ces activités variées génèrent de multiples pressions sur les milieux aquatiques, notamment des pollutions environnementales par des substances chimiques et des microorganismes qui peuvent altérer le fonctionnement et la dynamique des écosystèmes. Depuis ses débuts en 1989, le PIREN-Seine a affirmé sa volonté de caractériser l'impact de l'agglomération parisienne sur les hydrosystèmes, en particulier les rejets urbains et les stations d'épuration. Ce champ d'études s'est progressivement élargi en intégrant la contamination métallique, les micropolluants organiques, puis l'écotoxicologie et les contaminations biologiques. L'objectif est de comprendre, d'une part, le devenir des substances chimiques dans les organismes vivants, c'est-à-dire leur transfert, leur transport, leur accumulation et leur transformation au sein des écosystèmes. D'autre part, il s'agit d'évaluer les dommages potentiels qu'ils génèrent, à l'échelle sub-individuelle (échelles moléculaires, cellulaires, physiologiques), individuelle (comportement, survie, reproduction) et à l'échelle des populations et des communautés biologiques. L'interaction entre les contaminations environnementales, qu'elles soient chimiques ou biologiques, et le biote, est un processus dynamique et rétroactif, et donc complexe.

Le PIREN-Seine a œuvré à mettre en évidence le rôle majeur du biote comme témoin de la qualité de l'eau à l'échelle du bassin versant de la Seine. L'interdisciplinarité et la longévité qui caractérisent le PIREN-Seine sont des forces pour répondre aux défis écotoxicologiques et sanitaires posés par ces contaminations. Ce programme offre un espace de dialogue et de co-construction entre

des experts et des expertes en chimie environnementale, microbiologie environnementale, physiologie, toxicologie et écologie. Il est ainsi possible d'offrir une vision plus large du devenir de ces contaminants dans l'environnement, de l'exposition des organismes aquatiques et des effets possibles à différentes échelles biologiques, en prenant en compte les autres pressions environnementales.

Ce fascicule est structuré en trois volets. La première partie pose le cadre scientifique lié à la pollution de l'environnement aquatique, les précautions vis-à-vis de l'évaluation des risques telle qu'elle est traditionnellement menée, ainsi qu'au concept d'éco-exposome et du paradigme « une seule santé ». Cette approche qui repose sur le triptyque santé environnementale, humaine et animale vise à promouvoir une vision intégrée et globale des enjeux sanitaires.

La deuxième partie se focalise sur les travaux de biosurveillance, menés au sein du PIREN-Seine, qui visent à mesurer les niveaux de concentration en contaminants chimiques ou biologiques au sein d'organismes vivants. Ceux-ci peuvent être prélevés *in situ* (surveillance passive) ou exposés de façon expérimentale à la contamination environnementale, via des techniques d'encagement

(surveillance active). Cette estimation de l'exposition interne est complémentaire de la caractérisation de la contamination externe, dans les matrices environnementales (eau, sédiment), car elle intègre les multiples voies d'expositions (diffusion cutanée, respiration branchiale, ingestion de proies), et qu'elle prend en compte le comportement des molécules dans le biote, notamment les processus de bioaccumulation et de bioamplification.

Enfin, le troisième volet s'intéresse aux effets de ces contaminants à différentes échelles biologiques, avec des études menées *in situ*, par opposition aux approches classiques en milieux contrôlés de laboratoire qui sont trop éloignés des conditions environnementales et donc peu extrapolables, afin de prendre en compte les contaminations multiples et les interactions avec d'autres paramètres environnementaux.





# CHAPITRE 1



# Une seule santé : un cadre pour étudier la pollution environnementale

La façon d’appréhender les interactions entre le Vivant et la pollution environnementale a évolué au gré des découvertes scientifiques, des progrès techniques et des nouveaux liens tissés entre les disciplines. Ainsi, les chercheurs du PIREN-Seine ont œuvré à mieux caractériser le niveau des contaminations chimiques et biologiques dans

les écosystèmes aquatiques du bassin versant de la Seine et ont développé de nouvelles approches pour l’étude des impacts sur la santé environnementale. Ce chapitre pose le cadre conceptuel de ces travaux de recherche et explicite les stratégies qui ont été mises en œuvre durant les dernières décennies.



## 1. La pollution de l'environnement aquatique

La pollution induite par les activités humaines est polymorphe : visible, invisible, sonore, lumineuse, thermique, chimique et biologique. Ces différentes formes de pollution partagent comme point commun le fait qu'elles perturbent certaines fonctions biologiques des organismes et à terme, peuvent altérer le fonctionnement et la dynamique des écosystèmes. Dans ce fascicule, nous n'aborderons pas des problématiques liées à la pollution par les déchets plastiques. Des travaux récents du PIREN-Seine ont visé à caractériser la pollution par les microplastiques et sont consultables en ligne<sup>12</sup>. Le choix a été fait de se focaliser dans le présent document, sur les liens entre les organismes vivants et les contaminations chimiques et biologiques, notamment par les micropolluants, c'est-à-dire les substances chimiques, d'origine anthropique ou naturelle, rejetées de façon diffuse ou accidentelle dans le milieu, ainsi que par les entités biologiques, telles que des bactéries, des virus ou des parasites. Le devenir et les effets de ces contaminants dans les écosystèmes aquatiques font l'objet de travaux de recherche depuis plusieurs années au PIREN-Seine. Malgré de très faibles concentrations, de l'ordre du nanogramme par litre, l'exposition environnementale aux substances chimiques est préoccupante en raison de la continuité des rejets, de la diversité des substances et de leurs effets en mélange (effets cocktails) et du potentiel toxique de ces substances biologiquement actives, même à faible dose.

## 2. L'évaluation des risques écotoxicologiques

En termes de réglementation, la directive-cadre sur l'eau (DCE, 2000/60/EC) de l'Union européenne et sa directive-fille (2013/39/UE) ont établi des normes de qualité environnementale, les NQE (2008/105/EC)<sup>3</sup>, pour les substances dites prioritaires, afin de prévenir la pollution des eaux de surface. Ainsi, les NQE représentent « la concentration d'un polluant ou d'un groupe de polluants

dans l'eau, les sédiments ou le biote qui ne doit pas être dépassée afin de protéger la santé humaine et l'environnement ». Ces NQE reposent sur l'évaluation des effets toxiques de ces substances, dans des conditions contrôlées de laboratoire. Il est également préconisé de compléter l'évaluation de l'état chimique des milieux aquatiques, en quantifiant les niveaux de ces contaminants dans le biote, notamment pour les substances susceptibles de s'accumuler dans les tissus des organismes, comme les polluants dits persistants, peu métabolisables et lipophiles. Ces normes de qualité environnementale concernant le biote (NQE<sub>biote</sub>) ont été principalement définies pour les poissons. Ces normes orientent nécessairement le développement des méthodes analytiques développées pour les composés listés dans cette directive, puisque des limites de quantification compatibles avec les NQE proposées doivent être atteintes. Ainsi, une masse d'eau est considérée en « bon état chimique », lorsque les concentrations de polluants mesurées dans l'eau, les sédiments, ou le biote n'excèdent pas les NQE. Ces NQE ne concernent qu'une liste restreinte de substances définies comme prioritaires.

Par ailleurs, l'évaluation des risques écotoxicologiques s'appuie sur le rapport entre la concentration d'une substance chimique prédite dans l'environnement (PEC de l'anglais « predicted environmental concentration ») et d'une concentration prédite sans effet pour les organismes aquatiques (PNEC de l'anglais « predicted no effect concentration »). Si le rapport PEC/PNEC est supérieur à 1, la substance atteint un niveau qui représente un risque possible pour les écosystèmes. La détermination des concentrations seuils en dessous desquelles aucun effet toxique n'est observé est réalisée sur la base de protocoles normalisés, dans des conditions contrôlées de laboratoires et en s'appuyant sur des organismes modèles couvrant différents niveaux trophiques (diatomées, daphnies, poissons-zèbres). La toxicité des substances dépend de la durée d'exposition. Ainsi, on distingue la toxicité aiguë qui correspond à une exposition ponctuelle, à une dose élevée sur un laps de temps court, qui conduit rapidement à des effets sévères, voire létaux, de la toxicité chronique, qui traduit une exposition à de plus faibles concentrations, de façon continue ou répétée sur un temps long, déterminé

1 Lire la fiche 4-pages sur les microplastiques : [https://www.piren-seine.fr/sites/default/files/piren\\_documents/fiches\\_4\\_pages/fiche\\_4\\_pages\\_microplastiques.pdf](https://www.piren-seine.fr/sites/default/files/piren_documents/fiches_4_pages/fiche_4_pages_microplastiques.pdf)

2 Lire le fascicule « Les microcontaminants dans le bassin de la Seine » : <https://piren-seine.fr/publications/fascicules>

3 DCE 2000/60/EC <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32000L0060>

Directive fille <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32013L0039>

NQE <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=CELEX:32008L0105>

en rapport au temps de génération de l'organisme, et qui aboutit à des effets sub-létaux.

Les méthodes d'évaluation des risques font l'objet de vives critiques pour plusieurs raisons. Premièrement, la toxicité est évaluée pour chaque substance individuellement et ne permet donc pas de considérer la toxicité de mélanges de substances chimiques, bien que ce soit ce mélange qui caractérise la contamination environnementale. Or, certaines substances chimiques ne sont pas néfastes lorsqu'elles sont prises isolément, mais le deviennent lorsqu'elles sont mélangées. Ces effets dits « cocktail » sont dus à différents types d'interactions entre les molécules :

- Effet additif : l'effet d'un mélange de produits chimiques est similaire à la somme des effets de chaque produit chimique pris isolément.
- Effet synergique : l'effet d'un mélange de produits chimiques est supérieur à la somme des effets individuels de chacune des substances.
- Effet antagoniste : l'effet d'un mélange de produits chimiques est inférieur à la somme des effets individuels de chacune des substances.
- Potentialisation : une substance qui n'a habituellement pas un effet toxique augmente la toxicité d'un produit chimique.

Deuxièmement, les tests écotoxicologiques sont réalisés dans des conditions contrôlées de laboratoire, sans considération des variations environnementales. Or, les milieux aquatiques sont caractérisés par des fluctuations prévisibles de l'environnement, telles que des variations saisonnières du débit et des températures, ainsi que des perturbations imprévisibles des paramètres biotiques (compétition, prédation, parasitisme, etc.) et abiotiques (par exemple des événements météorologiques extrêmes, modification de l'habitat dû à des travaux d'aménagement). Les effets néfastes des substances toxiques peuvent être exacerbés ou atténués par certains facteurs environnementaux. Par exemple, l'exposition à certains polluants peut diminuer les défenses immunitaires des organismes et les rendre plus sensibles à des pathogènes. Il est donc essentiel de réaliser des études sur le terrain, complémentaires aux tests en laboratoire, afin d'intégrer cette réalité environnementale et écologique.

Troisièmement, les tests d'écotoxicité sont menés sur des espèces modèles à différents maillons de la chaîne

alimentaire : algue verte unicellulaire, daphnie, larve de chironome ou poisson-zèbre. Bien que ces espèces modèles présentent des avantages certains pour la compréhension des effets à différents stades de vie, les résultats sont difficilement généralisables à des espèces autochtones. Les variabilités inter-spécifiques, inter-populationnelles et inter-individuelles sont occultées dans les tests standardisés qui utilisent des souches et des lignées élevées en laboratoire depuis plusieurs dizaines voire centaines de générations. Les réponses aux substances chimiques sont alors évaluées sur des organismes génétiquement homogènes et sont difficilement extrapolables à des populations issues des milieux naturels.

Quatrièmement, le concept d'une relation dite monotone (c'est-à-dire une relation simple, croissante ou décroissante) entre la dose d'une substance et les effets toxiques est à nuancer. Plus la dose augmente, plus les effets augmentent, de telle sorte qu'on peut définir des valeurs seuils en dessous desquelles on n'observe pas d'effet. Or cette relation dose-réponse, qui peut se résumer à la formule de Paracelse « C'est la dose qui fait le poison » n'est pas toujours vérifiée. Certains éléments traces métalliques, comme le fer ou le zinc, sont des éléments essentiels, avec des effets bénéfiques à faible dose et néfastes à forte dose. D'autres substances, comme les perturbateurs endocriniens, interfèrent avec le système hormonal et induisent des effets variés qui suivent des relations dose-réponses dites non monotones (courbe complexe dont la pente change de direction dans une gamme de doses). C'est le cas de courbe en cloche, avec des effets qui augmentent puis diminuent en fonction de la dose d'exposition. Il est alors difficile de définir des valeurs seuil qui correspondraient à un risque considéré comme acceptable.

Les approches écotoxicologiques en laboratoire présentent des intérêts de standardisation et de répliquabilité des mesures nécessaires à une inter-comparaison entre les substances. Il faut toutefois rester conscient de leurs limites et œuvrer à lever les verrous méthodologiques et scientifiques pour une meilleure prise en compte de la diversité et de la complexité des réponses du biote face aux expositions à de multiples contaminants environnementaux. Le PIREN-Seine relève ce défi depuis plusieurs décennies, en développant des approches innovantes menées dans les milieux naturels, afin de prendre en compte des interactions complexes et les rétroactions entre les organismes vivants et les contaminants.

Au sein du PIREN-Seine, l'objectif n'est pas d'évaluer, cartographier ou prédire le risque écotoxicologique sensu stricto. Il s'agit en priorité d'améliorer les connaissances en menant des travaux de recherche, visant à une meilleure compréhension des interactions entre les contaminations chimiques et biologiques et les organismes vivants en milieux naturels. L'enjeu est d'identifier des biomarqueurs\* sensibles, précoces et prédictifs chez des espèces autochtones représentatives du milieu, afin d'améliorer la biosurveillance. Certains éléments relatifs aux risques écotoxicologiques ont été abordés dans les publications synthétiques<sup>4</sup>.

Un changement conceptuel a été adopté avec l'émergence d'une démarche interdisciplinaire qui s'appuie sur le concept de « One Health ».

### 3. Le cadre « une seule santé »

#### Une démarche interdisciplinaire qui s'appuie sur les concepts de One Health, d'Ecohealth et d'écoexposome

Historiquement, le concept de « One Health » (Une seule Santé, figure 1), a été proposé en 2008 par les organismes internationaux (FAO, OIE, OMS, *World Bank*), alors que les recherches menées sur la relation entre l'Environnement et la Santé des êtres humains ou celle des animaux, s'imprégnaient progressivement du concept d'exposome. Le concept postule que la Santé d'un être humain est la résultante de ses expositions externes aux multiples contaminants chimiques et physiques, de ses conditions sociales (psycho-affectif et socio-économiques), de ses caractéristiques génétiques et métaboliques (y compris son microbiote) et ce tout au long de sa vie (figure 2).

Le concept « Une seule Santé » repose sur la nécessité d'intégrer les trois composantes du vivant pour mieux appréhender les problèmes majeurs de santé publique (figure 1). Le concept postule que les « Santé » des trois compartiments que sont les êtres humains, l'environnement, et les animaux sont interdépendantes. Dès lors, les scientifiques se sont emparés de ce concept, qui s'avère parfois complexe à décliner notamment

dans l'environnement. Ainsi, les limites entre les trois compartiments peuvent varier selon les études, si le compartiment animal comprend *de facto* les exploitations animales intensives, et les animaux domestiques vivant à proximité des zones urbaines, la faune sauvage peut être intégrée dans le compartiment environnemental. De même, en termes de santé animale, les animaux peuvent être porteurs sains, ou des réservoirs de pathogènes pour les humains, sans que leur santé soit affectée.

Au-delà d'une approche anthropocentrée, qui se restreint à la dissémination des pathogènes et/ou des gènes de résistances aux antibiotiques, le concept d'*Eco-Health* a permis de définir la notion de « santé environnementale ». Il est alors proposé une approche écosystémique de la santé, où l'érosion de la diversité de la faune sauvage, de la flore ou des communautés microbiennes, dans des environnements sous pression anthropique (eau, sols, sédiments), altère les services écosystémiques, mais peut aussi favoriser la dissémination des agents pathogènes (Figure 3). En complément à ce concept « *Eco Health* », le terme d'éco-exposome, combine le paradigme d'exposome et le concept « Une seule Santé », en précisant l'ensemble des conséquences au sein d'un organisme, d'une exposition aux contaminants chimiques. L'éco-exposome correspond à la totalité des expositions internes au cours de la vie des individus d'une espèce donnée. Cela inclut l'exposition aux produits chimiques anthropiques, à leurs produits de biotransformation et/ou aux adduits. Les produits chimiques de signalisation endogènes, modifiés en réponse à l'exposition aux produits chimiques anthropiques, pourraient contribuer à la totalité de l'exposition interne et à la traduction de cette exposition en réponses biologiques.

Dans le cadre du projet PIREN-Seine, il a été mené une approche écosystémique de la santé qui s'appuie sur une démarche interdisciplinaire, combinant les expertises de chimie environnementale, microbiologie environnementale, écologie, évolution, écotoxicologie, physiologie.

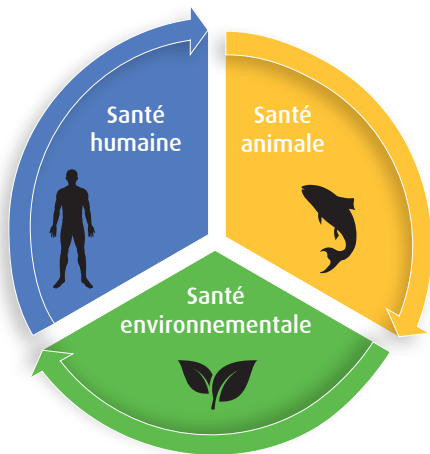


Figure 1 : Le concept « Une seule Santé » postule que les « Santé » des trois compartiments que sont les êtres humains, l’environnement, et les animaux sont interdépendantes.

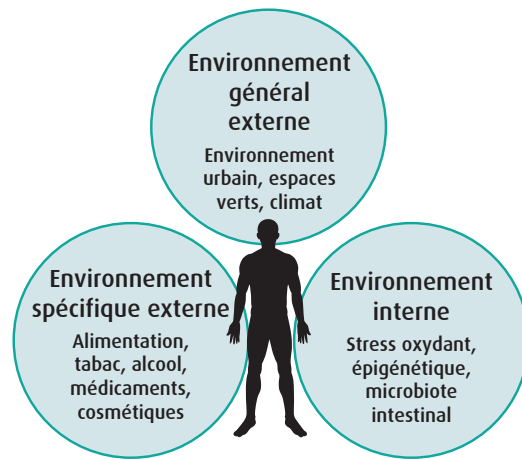


Figure 2 : Schéma présentant les 3 domaines de l'exposome avec des exemples non-exhaustifs.

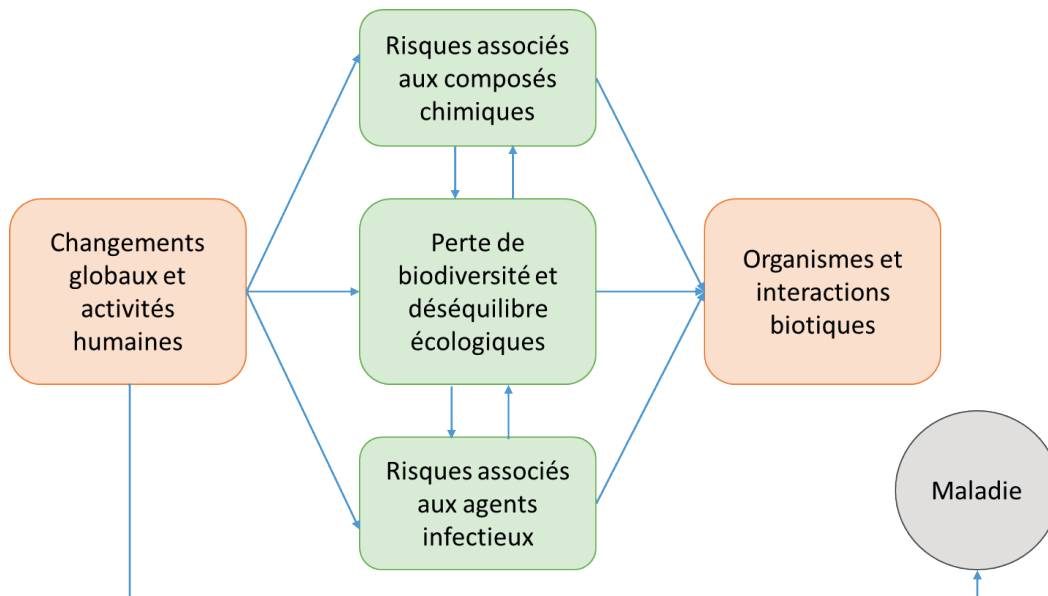


Figure 3 : Impact des activités humaines sur l'érosion de la biodiversité, l'augmentation des risques écotoxicologiques et sur la dissémination d'agents pathogènes.

## 4. Les contaminants chimiques étudiés dans le bassin de la Seine

Depuis 35 ans, un des objectifs du PIREN-Seine est de caractériser la contamination biologique et chimique dans le bassin versant de la Seine et d'en évaluer les dynamiques de transfert dans le biote et les risques pour le Vivant.

Concernant la pollution chimique, plusieurs centaines de milliers de substances ou mélanges de substances sont

répertoriés. En plus de cette diversité vertigineuse, les volumes de production ne cessent de croître : au niveau mondial, ils ont été multipliés par 50 depuis 1950 et devraient encore tripler d'ici à 2050 par rapport à 2010. Ce constat alarmant a mené en 2023 à la création d'un panel international sur la pollution chimique (IPCP), dans la lignée de ce qui se fait au GIEC (Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat) sur les changements climatiques et à l'IPBES (plateforme intergouvernementale scientifique et politique sur la biodiversité et les services écosystémiques) sur l'érosion de la biodiversité et les services écosystémiques.



Quelles sont les substances à étudier en priorité? Au PIREN-Seine, le choix s'est historiquement porté sur des contaminants ubiquistes, avec une écotoxicité élevée et un potentiel de bioaccumulation dans le biote. Ainsi, les premiers travaux ont œuvré à la compréhension du devenir et des effets des éléments traces métalliques, puis des polluants organiques persistants, notamment les polychlorobiphényles (PCB) et les pesticides organochlorés. Ces polluants, interdits depuis les années 90, sont toujours détectés dans les sédiments et sont considérés comme des polluants d'héritage en raison de leur rémanence élevée. Au cours des dernières phases du PIREN-Seine, d'autres substances avec des enjeux actuels ont été étudiées. Ce fascicule s'intéresse au devenir et aux effets de ces molécules d'intérêt émergent, qui ne sont pas nouvelles, mais qui sont reconnues comme des contaminants environnementaux depuis plus récemment. Certaines d'entre elles sont très médiatisées. Ce sont par exemple les plastifiants (phtalates, bisphénol A), les pesticides, les retardateurs de flamme bromés, les imperméabilisants, les résidus de médicaments, les produits cosmétiques. Certains de ces polluants ne sont pas persistants et bioaccumulables, et ont des comportements dans l'environnement et le biote bien différents des PCB et pesticides organochlorés. Le fascicule « Les microcontaminants dans le bassin de la Seine »<sup>5</sup> du PIREN-Seine décrit en détail ces microcontaminants, leur source et leur devenir dans l'environnement. Nous reviendrons ici brièvement sur quelques familles de polluants d'intérêt émergent qui ont été particulièrement étudiés durant les dernières phases du PIREN-Seine.

### Composés per et polyfluoroalkylés

À ce jour, il n'existe pas de consensus sur la définition pour les composés per et polyfluoroalkylés (PFAS) et plusieurs définitions ont été proposées au cours des dix dernières années. La définition la plus récente, proposée par l'OCDE en 2021, est également la plus inclusive. Elle indique qu'un PFAS est un composé qui comporte un groupe méthyle perfluoré (-CF<sub>3</sub>) ou un groupe méthylène perfluoré (-CF<sub>2</sub>-) et on estime qu'au moins 10 000 composés peuvent appartenir à cette famille. On distingue différents sous-groupes au sein de cette vaste famille, notamment des polymères et des non polymères. Les travaux réalisés dans le cadre du PIREN-Seine ont, pour l'instant, concerné seulement ces derniers du fait de leur plus grande mobilité

et disponibilité pour les organismes aquatiques, aussi appelée biodisponibilité.

La synthèse industrielle des PFAS a débuté vers 1950 et la production mondiale a dépassé les 3 millions de tonnes en 2000 (polymères inclus). Les nombreuses applications des PFAS comprennent par exemple leur usage comme additifs ou auxiliaires dans la synthèse de polymères fluorés, des traitements imperméabilisants ou anti-graisses pour les textiles, des formulations de mousses anti-incendie, des lubrifiants, des emballages alimentaires, etc. Il y a plus de 20 ans, on découvrait que le sulfonate de perfluorooctane (PFOS) était présent dans la faune sauvage et chez l'homme à l'échelle mondiale. Des inquiétudes ont été exprimées quant aux effets néfastes de ce composé avant qu'il ne soit officiellement classé comme polluant organique persistant en 2009. Depuis lors, de nombreuses études ont abordé la question des sources de PFAS, de leur devenir et de leur impact dans l'environnement. Outre les aéroports et les bases militaires, les sites industriels tels que les sites de production fluorochimiques, les sites de traitement de surface des métaux, les usines textiles ou les centrales électriques, les zones urbaines sont également considérées comme des sources clés de PFAS pour les milieux aquatiques. Toutefois, la dynamique de ces substances chimiques dans les écosystèmes aquatiques, y compris les rivières urbaines, demeure mal comprise et nécessite d'être explorée. Du fait du manque de connaissances à l'échelle de la famille, ces composés sont encore considérés comme des contaminants d'intérêt émergent.

### Les pesticides actuellement utilisés

Les pesticides regroupent les produits phytopharmaceutiques et les biocides. Les produits phytopharmaceutiques sont des préparations destinées à protéger les végétaux et les produits des végétaux, principalement pour des usages agricoles et horticoles, pour lutter contre les adventices (herbicides), les insectes ravageurs (insecticides), et le développement de champignons (fongicides). L'agriculture est une activité majeure du bassin de la Seine, les terres agricoles couvrent 60 % du territoire, et sont dominées par les plaines céréalières. L'utilisation de produits phytopharmaceutiques y est donc importante. En parallèle, des herbicides ont été ou sont toujours utilisés pour l'entretien des espaces verts

ou le long d'infrastructures (voies ferrées, berges des voies navigables), ou par les particuliers. Les biocides, quant à eux, regroupent des produits à usage domestique et industriel, dans un cadre préventif, répulsif ou destructif des organismes dits nuisibles. Il peut s'agir de désinfectants, de produits de protection (protection du bois contre les moisissures, ou contre des insectes par exemple), des produits de lutte contre des organismes parasites ou nuisibles (insecticides, rodenticides), des peintures antisalissures (algicides, molluscicides) appliquées sur les bateaux pour éviter le développement d'organismes aquatiques sur la coque.

Ces pesticides utilisés dans un cadre précis visent des organismes considérés comme nuisibles, mais induisent des effets non intentionnels sur des organismes non cibles. En effet, ces substances biologiquement actives peuvent altérer la machinerie cellulaire, fausser les ajustements physiologiques et ainsi amener à de lourdes conséquences pour la biodiversité, via des mécanismes similaires à ceux pour lesquels ils sont utilisés, mais également via des effets nouveaux directs ou indirects. Ainsi, dans les milieux aquatiques drainant les parcelles agricoles, les pesticides sont responsables du déclin voire de la disparition d'espèces de macroinvertébrés, qui se répercutent sur l'ensemble du réseau trophique. Chez les poissons, on peut citer des effets sur le système nerveux pour les pesticides neurotoxiques, comme la plupart des insecticides, des effets génotoxiques, avec des anomalies au niveau de l'ADN, des effets cancérogènes, des effets sur les capacités de défenses immunitaires pour les substances immunotoxiques, mais aussi des effets perturbateurs sur le système endocrinien, ou une altération de la composition du microbiote intestinal.

En France, les plans Ecophyto pour la réduction d'usage des pesticides n'ont pas permis d'atteindre leurs objectifs. En fonction de la réglementation, ces produits font l'objet d'autorisation de mise sur le marché, mais également d'interdiction ou de dérogation, qui se répercutent sur les niveaux de contamination des masses d'eaux superficielles dans les bassins versants agricoles. Les molécules soumises à des restrictions d'usage sont de moins en moins retrouvées dans les cours d'eau, même si certaines d'entre elles, comme l'atrazine interdite en 2003 et ses métabolites, persistent plusieurs années voire décennies. Pour les substances autorisées ou faisant l'objet de dérogation, leurs niveaux aquatiques sont très

variables, avec des pics de contamination post-traitement. Il est important de noter que les produits commercialisés, que ce soient des produits phytopharmaceutiques ou des biocides le sont sous forme de formulations commerciales, qui sont composées de substances actives, ainsi que d'autres substances (adjuvants ou co-formulants). La prise en compte des interactions entre molécules et des effets cocktail est un point crucial.

## Les phtalates

Les phtalates sont utilisés comme plastifiants dans une large gamme de produits quotidiens, majoritairement pour la fabrication de chlorure de polyvinyle (PVC), auquel ils confèrent de la souplesse, de l'élasticité et de la flexibilité, les rendant également plus résistants aux chocs et aux basses températures. Ils sont également utilisés pour la confection de produits cosmétiques (deuxième domaine d'application, comme agents fixateurs), de peintures, de vêtements, de détergents, de matériaux de construction, de matériel médical et hospitalier (poches à perfusion) et médicaments (capsules gastro-résistantes), d'emballage, de produits électroniques. Leur large utilisation explique les énormes volumes de production, qui atteignent près de 5 millions de tonnes/an au niveau mondial, 1 million de tonnes/an en Europe, dont près de 100 000 tonnes par an en France. La réglementation européenne a permis de restreindre l'utilisation de certains phtalates, notamment dans les jouets, le matériel de puériculture et les emballages alimentaires. Avec l'usage et le temps, les phtalates ne restent pas fixés aux polymères, et sont relargués progressivement. Ils sont retrouvés de manière ubiquiste et omniprésente dans tous les compartiments environnementaux. Les rechercher et les quantifier dans les masses d'eau et dans les organismes aquatiques imposent une extrême vigilance sur le matériel utilisé lors du prélèvement et de l'analyse, afin d'éviter toute contamination.

Les phtalates sont sujets à des processus de métabolisation, au sein des organismes, et notamment des poissons. Ils subissent différentes étapes de transformation, d'hydrolyse, oxydation par le système enzymatique du cytochrome P450 dans le foie et les reins, et les métabolites ainsi formés sont conjugués, ce qui augmente la solubilité des métabolites de phtalates et ce qui facilite leur excrétion via les urines ou les fèces. Les phtalates et métabolites de

phtalates perturbent le système endocrinien et altèrent la reproduction. Tout l'enjeu est de caractériser l'exposition en prenant en compte ces métabolites de phtalates dans les matrices environnementales et biologiques.

## Les antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances avec une propriété bactéricide ou bactériostatique (inhibition de la croissance bactérienne), à usage médical ou vétérinaire. Ces substances posent un défi sanitaire majeur : le développement de bactéries résistantes aux antibiotiques chez les patients sous traitement. Malgré une baisse significative de 2011 à 2020 de la consommation d'antibiotiques en ville, la France est le 4<sup>e</sup> pays européen le plus consommateur, d'après les chiffres de 2021, avec des pics de prescription qui concordent avec les infections hivernales. Ces médicaments rejoignent les milieux aquatiques, via les stations de traitement des eaux usées, qui sont peu efficaces pour certains antibiotiques comme le sulfaméthoxazole, le triméthoprime ou l'amoxicilline. Pour les usages vétérinaires, la contamination des milieux aquatiques est plus diffuse, via l'épandage de lisiers et fumiers. Les résidus médicamenteux ont été retrouvés dans des eaux de surface du bassin de la Seine, ainsi que dans les biofilms, ce qui soulève des préoccupations environnementales pour les organismes non cibles, mais aussi des enjeux sanitaires avec le maintien de l'antibiorésistance dans les milieux aquatiques. Certains antibiotiques, comme l'amoxicilline, sont rapidement transformés et éliminés par biodégradation (réactions catalysées par des microorganismes libres dans le milieu), hydrolyse ou photolyse, tandis que d'autres familles d'antibiotiques, comme les fluoroquinolones, sont plus résistantes et donc plus persistantes dans les milieux naturels. Ainsi, le temps de demi-vie de l'ofloxacin est de plusieurs centaines à milliers de jours, versus une journée pour l'amoxicilline. Les travaux du PIREN-Seine ont permis de révéler la présence d'antibiotiques dans le bassin de la Seine. De façon originale, des travaux ont été menés pour caractériser la contamination des organismes aquatiques, comme les poissons d'eau douce, mais également l'ensemble du réseau trophique. La dynamique de ces antibiotiques dans le biote a été mise en lien avec des thématiques de maintien de l'antibiorésistance dans les milieux aquatiques.

## 5. Les contaminants biologiques étudiés dans le bassin de la Seine

Pour les contaminants biologiques, l'attention a été portée aux pathogènes potentiellement transmissibles à l'Homme ou aux animaux d'élevage et aux biotoxines environnementales. Le biote est un réservoir de la contamination biologique de la Seine sans être systématiquement une cible de cette contamination en fonction de la sensibilité des espèces. Le biote joue donc essentiellement un rôle de biosurveillance.

### Les protozoaires

La contamination fécale des environnements aquatiques touche de nombreuses régions dans le monde avec des risques avérés pour la santé humaine. Cette contamination concerne notamment les protozoaires pathogènes *Cryptosporidium spp*, *Giardia duodenalis* et *Toxoplasma gondii*, responsables de zoonoses clairement identifiées comme priorités de santé publique.

*Cryptosporidium spp* est responsable de la cryptosporidiose qui est la 2<sup>e</sup> cause de mortalité par diarrhée chez les enfants de moins de deux ans dans les pays en voie de développement. La grande majorité des cas de cryptosporidiose humaine est due à *Cryptosporidium parvum* dont le principal réservoir animal est le groupe des ruminants. *Giardia duodenalis* est responsable de la giardiose. Les réservoirs sont l'Homme ainsi que différents animaux sauvages (castors) ou domestiques (bovins, chiens, etc.). *T. gondii* est quant à lui responsable de la toxoplasmose, une maladie cosmopolite à large gamme d'hôtes, mais où seuls les félins peuvent être hôtes définitifs. Il s'agit d'une zoonose habituellement asymptomatique, mais qui peut être redoutable chez les sujets fragiles dont la réponse immunitaire ne peut pas endiguer la dissémination des parasites. La gravité de cette infection est liée au risque de transmission fœtale du parasite en cas de contamination maternelle survenant en cours de grossesse et au risque différé de réactivation d'une infection antérieurement acquise, sous l'effet d'une immunodépression.

Pour les trois parasites, la reproduction sexuée aboutit à la production de la forme de résistance libérée dans l'environnement avec les fèces de l'hôte parasité : des oocystes pour *C. parvum* et *T. gondii*, et des kystes pour *G. duodenalis*. Ces stades libres peuvent ruisseler avec les eaux de pluie et ainsi contaminer tous les types de milieux aquatiques : milieux continental et marin, eau de surface, eau souterraine. Les stades oocystes et les kystes sont très résistants aux conditions climatiques extrêmes ou encore à divers traitements chimiques.

En Europe, les indicateurs de contamination biologique dans les eaux sont essentiellement des indicateurs microbiens reflétant une forte pollution d'origine fécale qui n'induit pas forcément un risque sanitaire. Plusieurs études ont montré que la corrélation entre ces différents indicateurs et le nombre ou la présence d'oocystes de *C. parvum* ou de kystes de *G. duodenalis* est relativement faible, voire inexistante. En effet, les indicateurs bactériens, comme les coliformes dont *E. coli*, sont plus facilement détruits par les traitements d'épuration que les virus, ou les formes de résistance des protozoaires. Toutefois, de nombreuses études ont montré que les espèces filtreuses, comme les bivalves, peuvent filtrer de grands volumes d'eau et concentrer dans leurs tissus les protozoaires ce qui permet de les envisager comme outils de biosurveillance de la contamination biologique.

## Les virus

Les masses d'eau douce sont sujettes à des contaminations fécales d'origine diverse. En effet, malgré les différents processus pour épurer les eaux usées brutes, les microorganismes pathogènes tels que les bactéries, virus et protozoaires peuvent passer à travers des mailles d'assainissement et perdurer dans les eaux et boues traitées en étant infectieux. Cependant, les indicateurs bactériens traditionnellement utilisés, comme les coliformes dont *E. coli*, sont plus facilement détruits par les traitements d'épuration que les virus, que les spores de *C. perfringens* ou encore que les formes de résistance des protozoaires. Les indicateurs bactériens ne sont donc pas adaptés pour estimer le risque viral et parasitaire (protozoaires). Parmi ces contaminants, les virus entériques, dont les norovirus

humains, sont responsables de nombreuses épidémies de gastro-entérites chaque année dans le monde. Depuis quelques années, un intérêt grandissant est né pour les bactériophages considérés comme indicateurs prometteurs de la contamination virale entérique, bien plus proche des virus en termes de cinétique de survie, structure et comportement dans l'eau que les indicateurs bactériens. En particulier, les bactériophages ARN F spécifiques (FRNAPH) remplissent les critères d'un bon indicateur. Ils ont l'avantage d'être facilement détectables par une méthode standardisée, rapide et peu coûteuse : la technique de la double couche d'agar (norme ISO 10705-1a)<sup>6</sup>. Le dénombrement précis et fiable de ces plages renseigne sur le nombre de phages infectieux. Cependant, l'intérêt de l'utilisation des phages pour évaluer la qualité des masses d'eau se heurte à différentes difficultés : i) limite de détection de la méthode pour les faibles charges, ii) variabilité des résultats d'analyses sur l'eau liée aux changements spatio-temporels inhérents à la matrice eau (débit des rivières, événements météorologiques) pouvant influencer la propagation et le transport des bactériophages ARN F spécifiques. Afin de lever ces limites, il est proposé de s'appuyer d'une part sur les capacités de bioaccumulation de bivalves aquatiques, et tout particulièrement de la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) pour le milieu continental, et d'autre part sur la représentativité de ces organismes vis-à-vis de leur milieu de vie (espèces sessiles) pour améliorer la mesure des FRNAPH dans un objectif de surveillance de la qualité des masses d'eau.

## Les cyanobactéries

L'eutrophisation est un phénomène naturel lent, accéléré par des apports de nutriments d'origine anthropique vers les milieux aquatiques, notamment par des rejets industriels, urbains (par exemple, eaux usées) ou agricoles (par exemple, lessivage des sols). Ce déséquilibre dans le milieu a pour conséquence la croissance excessive des producteurs primaires, les macrophytes, microalgues et cyanobactéries<sup>7</sup>. Les cyanobactéries appartiennent aux communautés phytoplanctoniques (se développant dans la colonne d'eau) et benthiques (se développant sur des supports macrophytiques, sédimentaires ou rocheux). Lorsque les conditions leur sont favorables (température

6 ISO 10705-1:1995 Qualité de l'eau - Détection et dénombrement des bactériophages - Partie 1: Dénombrement des bactériophages ARN F spécifiques

7 Lire le fascicule « Eutrophisation des cours d'eau du bassin de la Seine » : [https://www.piren-seine.fr/publications/fascicules/eutrophisation\\_des\\_cours\\_deau\\_du\\_bassin\\_de\\_la\\_seine](https://www.piren-seine.fr/publications/fascicules/eutrophisation_des_cours_deau_du_bassin_de_la_seine)



de l'eau > 25 °C, faibles turbulences, teneurs élevées en nitrates et phosphore), les cyanobactéries ont des capacités de prolifération importantes leur permettant une production rapide de biomasse, créant des phénomènes appelés efflorescences ou « blooms ». Sous nos latitudes, les efflorescences de cyanobactéries ont lieu majoritairement de mai à octobre dans les eaux stagnantes, mais certaines peuvent occasionnellement durer toute l'année. Les cyanobactéries peuvent également se développer dans les eaux courantes, sous formes planctoniques ou benthiques, surtout en périodes et/ou zones de moindre débit.

De récentes méta-analyses de la littérature montrent que les cyanobactéries ont un impact de plus en plus significatif sur la santé humaine et animale à travers le monde, en lien avec leurs capacités de production d'une grande variété de métabolites secondaires dont certains sont qualifiés de toxines (par exemple les neurotoxines, hépatotoxines, dermatotoxines, cytotoxines). Les voies d'exposition principales de l'Homme à ces cyanotoxines sont les voies orales et nasales pendant la baignade, l'ingestion d'eau potable, ou la consommation d'organismes contaminés. Les organismes aquatiques sont principalement intoxiqués par les cyanotoxines dissoutes dans l'eau, par consommation directe de cyanobactéries ou par transfert trophique.

Les proliférations de cyanobactéries engendrent d'importants problèmes d'ordre :

- 1) économique : plusieurs centaines de millions d'euros sont attribués chaque année à la gestion des problématiques engendrées par les cyanobactéries dans les écosystèmes dulcicoles (par exemple, traitement des eaux d'alimentation, restrictions des activités de pêche ou de loisirs),
- 2) écologique : mortalités massives d'animaux aquatiques et terrestres sur tous les continents, et déséquilibre dans les communautés phytoplanctoniques et macrophytiques,
- 3) de santé publique : nombreux cas d'intoxications chroniques ou aiguës, parfois létales. Deux classes de cyanotoxines sont particulièrement courantes et impliquées dans ces intoxications : les neurotoxines anatoxines et les hépatotoxines microcystines. Dès 1996, des valeurs guides ont été établies par l'OMS pour les teneurs en microcystines dans les eaux destinées à la consommation humaine (EDCH, 1 µg/L) et dans les eaux récréatives (20 µg/L). En France, l'ANSES (Agence nationale

de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) a récemment révisé ces valeurs à la baisse pour les microcystines (0,2 et 0,3 µg/L dans les EDCH et eaux récréatives respectivement) et recommande un suivi des autres cyanotoxines en cas de présence de cyanobactéries. La quantification des cyanotoxines permet de décider si les différents usages d'un site et de son eau sont possibles.

Le suivi de la présence de cyanobactéries et de cyanotoxines dans les masses d'eau se généralise depuis plusieurs années et va devenir incontournable. En effet, l'anthropisation et l'eutrophisation des eaux douces continentales, associées aux bouleversements climatiques (surtout les alternances de pluies intenses et de sécheresses), amplifient la fréquence, la sévérité et la durée des proliférations de cyanobactéries. La communauté scientifique estime que ces effets de potentialisation vont largement s'intensifier dans les années à venir, menaçant la santé humaine et celle des écosystèmes.

## Les antibiorésistances

La résistance bactérienne aux antibiotiques, qui résulte de l'usage intensif et du mésusage des antibiotiques, en médecines humaine et animale depuis 1950, est reconnue depuis plus de deux décennies comme un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale (OMS, 2000, 2014, 2015)<sup>8</sup>. Qualifiée de pandémie silencieuse, le nombre de décès dans le monde directement imputables à une infection par une bactérie résistante a ainsi atteint 1,27 million pour l'année 2019, tandis que la mortalité indirecte due à une surinfection a atteint 4,95 millions, confirmant des projections établies antérieurement.

Selon le concept « une seule santé » (One Health), il convient d'appréhender la dissémination, voire l'émergence, des bactéries résistantes aux antibiotiques (BRA) et des gènes correspondants, ainsi que les facteurs favorisant cette dissémination (antibiotiques, éléments traces métalliques, biocides), dans tous les compartiments de l'écosystème : Homme, animaux, et environnement. L'émergence, et/ou la sélection des BRA résultent de la pression de sélection exercée par les antibiotiques à des concentrations de l'ordre du mg/mL. Dans l'environnement, la persistance des BRA et l'enrichissement du résistome

environnemental (l'ensemble des gènes conférant la résistance aux antibiotiques, GRA) seraient favorisés par la contamination chronique en antibiotiques, y compris en faible concentration, mais aussi en co-sélecteur chimiques : éléments traces métalliques, biocides voire de pesticides. Dans les eaux de surface, les niveaux de contamination en BRA, GRA et en antibiotiques sont consécutifs à la pression démographique (humaine et animale) exercée sur le bassin versant, et les modalités de prescriptions en antibiotiques. Les rivières urbaines sont ainsi des écosystèmes d'intérêt, pouvant jouer un rôle d'interface entre l'Homme et la faune aquatique.

## 6. Les approches développées dans le cadre du PIREN-Seine

Face au constat d'une contamination multiple du bassin versant de la Seine et de la complexité à évaluer le devenir et les effets des polluants sur le biote, le PIREN-Seine a développé des stratégies de recherche adaptées et complémentaires.

D'une part, les approches descriptives par prélèvement d'individus *in situ*, offrent une vision pertinente et réaliste du devenir des substances chimiques et des entités biologiques dans les écosystèmes aquatiques. Le biote joue en effet un rôle de témoin de certaines contaminations, mais aussi d'acteur du devenir de ces contaminants, via des processus de bioaccumulation, bioamplification, organotropisme, transfert trophique, métabolisation, excrétion. Ces processus dépendent des caractéristiques physico-chimiques des polluants (ou des paramètres biologiques pour les contaminations microbiologiques), mais également de l'organisme considéré, et des paramètres biotiques et abiotiques de l'environnement. Ces approches offrent une photographie à un temps *t* de la contamination du milieu le long de gradient d'exposition (amont, aval proche ou éloigné d'une agglomération, ou d'une STEU), des niveaux d'exposition internes, au sein des organismes et des potentiels effets associés dans un environnement complexe. Ces études observationnelles permettent d'établir des corrélations statistiques et non des liens de causalité. Elles ne permettent pas de s'affranchir d'éventuels effets confondants. En effet, les milieux aquatiques peuvent être à la fois dégradés par des contaminations, mais également par une modification

de l'habitat ou une hausse locale des températures, ce qui complexifie l'interprétation des données acquises. Les processus temporels sont également difficiles à appréhender, alors qu'ils sont au cœur des problématiques de biosurveillance et d'évaluation des effets : les impacts de la pollution peuvent s'exprimer de façon différée dans le temps ou bien s'atténuer rapidement une fois que la pression chimique cesse. Il peut y avoir réversibilité des effets moléculaires, cellulaires ou physiologiques.

D'autre part, les approches expérimentales menées également *in situ* offrent un cadre adéquat pour tester les relations de causalité entre la contamination du milieu, l'exposition des organismes et les effets, et ainsi valider les hypothèses. A ce titre, le PIREN-Seine a développé des approches de type « biomonitoring actif » par transplantation et engagements d'organismes issus de populations dites de référence sur des individus calibrés (âge, sexe, taille), afin de standardiser le temps d'exposition *in situ* et s'affranchir d'éventuels mécanismes d'adaptations locales. De telles expériences permettent de limiter l'influence de facteurs dits confondants, afin de valider ou d'infirmer les conséquences des contaminations multiples sur les organismes. Au PIREN-Seine, ces approches ont été d'abord mises en place sur des gammarès : amphipodes très communs dans les cours d'eau, puis sur des dreissènes : bivalves filtreurs, ou des goujons, des poissons communs. Par ailleurs, d'autres techniques ont vu le jour plus récemment avec le suivi par capture-marquage-recapture de population de poissons, expérimentalement exposés à des polluants via l'utilisation d'implants sous-cutanés qui diffusent un mélange de substances à faibles doses et pendant un laps de temps d'un mois. Le choix d'une espèce modèle se fait en fonction de plusieurs critères, tels que la large distribution de l'espèce à l'échelle du bassin versant de la Seine, afin de permettre la comparaison entre les sites, et une sensibilité modérée à la pollution, pour l'utilisation dans la biosurveillance et dans la mesure d'effets sub-létaux.

Ces études sont réalisées sur certains sites ateliers du PIREN-Seine (Figure 4), c'est-à-dire des sites fortement instrumentalisés, afin de mutualiser les prélèvements, renforcer la pluridisciplinarité et travailler en collaboration avec des gestionnaires. L'axe Seine est caractérisé par un fort gradient de contamination entre l'amont et l'aval de l'agglomération parisienne. Trois sites sont particulièrement étudiés : Marnay-sur-Seine, Bougival et Triel-sur-Seine. Un affluent de la Seine, l'Orge est également un site phare,

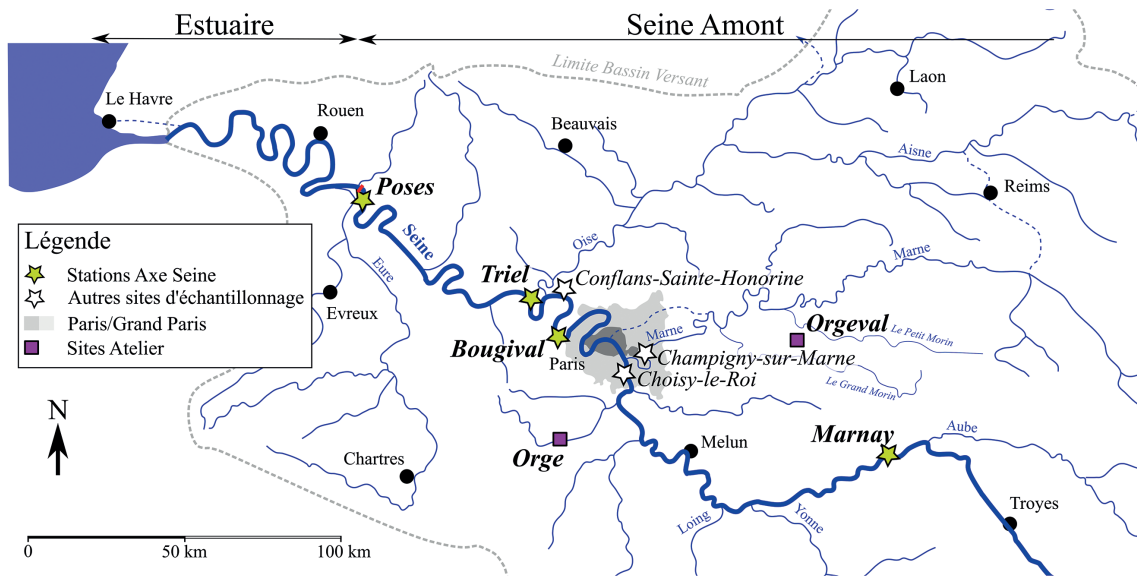


Figure 4 : Carte des sites ateliers du PIREN-Seine. (crédit T. Thiebault)

caractérisé par un fort gradient agricole-urbain, avec notamment la présence de stations d'épuration d'eaux usées et un tissu urbain dense. Enfin, le bassin versant de l'Orgeval, qui rejoint ensuite le Grand Morin, en Seine-et-Marne, est caractéristique des activités agricoles des grandes plaines céréalières.

## Conclusion

La Seine et ses affluents charrient donc de nombreux polluants, dont des composés chimiques d'intérêt

émergents comme les PFAS, les pesticides, les plastifiants, les résidus de médicaments, mais également des contaminants biologiques, tels que des virus, protozoaires, cyanobactéries, et bactéries résistantes aux antibiotiques. Les approches traditionnelles en laboratoire étant difficilement extrapolables à des écosystèmes complexes et dynamiques, il a fallu innover pour évaluer la contamination du milieu et les effets sur le biote. Ainsi, de nouvelles approches descriptives et expérimentales ont été déployées sur des sites ateliers du PIREN-Seine, tout en se plaçant dans le cadre novateur de l'éco-exposome et du paradigme « une seule santé ».







# CHAPITRE 2





## L'utilisation du biote pour évaluer la contamination du milieu

La biosurveillance désigne l'utilisation du biote pour surveiller la qualité d'un milieu. La détection et les niveaux de contaminants biologiques et chimiques peuvent être investigués au sein des organismes ou d'un tissu

biologique en particulier pour caractériser l'exposition environnementale. Cette approche permet aussi d'élucider les processus de bioaccumulation et de bioamplification dans les réseaux trophiques.



## 1. Les niveaux de contaminants chimiques dans les organismes vivants

### Les progrès analytiques

Détecter et quantifier les micropolluants et leurs métabolites dans les matrices environnementales présente un certain nombre de difficultés liées à la complexité de ce type d'analyse. Celle-ci est liée à la diversité des composés à doser, qui entraîne une grande disparité de propriétés physico-chimiques. C'est notamment le cas lorsque l'on considère tant les composés parents que leurs produits de transformation. En outre, les composés d'intérêt sont présents à de faibles concentrations (ex. : ng/L à µg/L dans l'eau), ce qui nécessite des méthodes d'extraction et de détection très sélectives et sensibles. Par ailleurs, les matrices environnementales (eau, sédiments, biote) contiennent de nombreux constituants pouvant interférer avec les analyses, par exemple en complexifiant la séparation et la détection des micropolluants. Dès lors, il est souvent indispensable d'optimiser les méthodes d'extraction et de purification pour maximiser la sélectivité de ces étapes préliminaires, notamment en isolant au maximum les micropolluants des constituants de la matrice sans perte significative des analytes. La faiblesse des concentrations implique le recours à des équipements coûteux, associant en général une technique séparative chromatographique à une technique d'analyse sensible et sélective telle que la spectrométrie de masse en tandem. Enfin, la faisabilité des analyses est conditionnée à la disponibilité d'étalons appropriés pour les composés d'intérêt.

### Les dreissènes : des organismes filtreurs, bioindicateurs de la contamination

Pour une utilisation en biosurveillance environnementale, les espèces sentinelles (ou sentinelles environnementales) doivent être en mesure de bioaccumuler les contaminants chimiques et/ou biologiques à des niveaux supérieurs à ceux retrouvés dans l'environnement et de retranscrire par les niveaux et variations de leurs réponses biologiques précoces, désignées sous le terme générique de

biomarqueurs, la pression écotoxique associée.

En raison de leur mode de vie sédentaire et de la bioaccumulation/bioconcentration au sein de leurs tissus des contaminants dépendante du niveau et du temps d'exposition, les organismes filtreurs comme les mollusques bivalves permettent de retranscrire la qualité des masses d'eau à un endroit précis et retracer ainsi les événements de pollution. Si la majorité des études en écotoxicologie aquatique porte sur les bivalves marins d'intérêt économique (moule, huître, palourde...), la moule zébrée ou dreissène - *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) (Figure 5) peut être considérée comme l'équivalent des moules marines du genre *Mytilus* en biosurveillance de la qualité des masses d'eaux continentales en raison notamment de ses capacités de filtration et bioaccumulation importantes. Originaire de la région Ponto-Caspienne en Europe Centrale, la dreissène a colonisé depuis plus de deux cents ans les différents hydrosystèmes (fleuves, rivières, lacs...) d'Europe de l'Ouest et d'Amérique du Nord. La dreissène est de ce fait caractérisée par une aire de répartition élargie et une abondance importante dans les milieux qu'elle occupe. En comparaison des espèces autochtones, la dreissène présente une grande tolérance aux stress environnementaux. Ses caractéristiques biologiques et écologiques sont aujourd'hui bien connues. Ainsi, l'ensemble de nos connaissances sur cette espèce a permis le développement et la mesure de réponses biologiques précoces (ou biomarqueurs), que ce soit en conditions d'exposition contrôlée de laboratoire ou bien sur le terrain dans le cadre de programmes de biosurveillance environnementale. Échantillonnable tout au long de l'année, la dreissène a été employée dans plusieurs études de biosurveillance passive qui consistent en la mesure des effets biologiques sur des populations naturelles prélevées sur différents sites. Néanmoins, ces études soulignent une variabilité des réponses biologiques qui n'est pas seulement en lien avec la fluctuation des paramètres environnementaux (température, conductivité...), mais également avec les paramètres intrinsèques des organismes échantillonnés (taille, âge, traits d'histoire de vie, adaptation aux conditions locales...). Ces facteurs confondants peuvent conduire à une mauvaise interprétation de la réponse apportée par les biomarqueurs pour caractériser le potentiel écotoxique des masses d'eau. Les approches de surveillance dite active, qui consistent à encager sur différents sites des organismes calibrés provenant d'une même population (par exemple, avec contrôle de la taille/âge, de l'origine géographique,

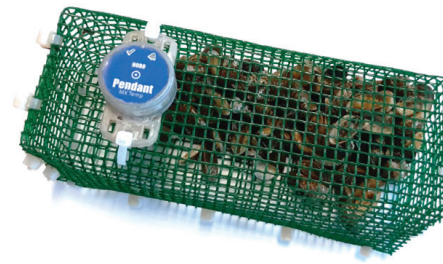


Figure 5 : Photographie de dreissène (5A) et du système d'encagement (5B) pour la biosurveillance des milieux aquatiques (Crédit photographie : A. Catteau).

de la génétique des organismes d'étude...), permettent de limiter et/ou de s'affranchir de l'influence des paramètres intrinsèques dans l'interprétation de la réponse des biomarqueurs. Elles permettent d'autre part d'exposer sur une période limitée à quelques jours/semaines les organismes et ainsi détecter les événements récents de contamination et comparer le potentiel écotoxique de la contamination. Cette approche de surveillance active s'avère être une stratégie particulièrement intéressante pour la définition de valeurs de référence et valeurs seuils des biomarqueurs applicables en biosurveillance environnementale.

Situées très bas dans le réseau trophique, les dreissènes sont exposées aux micropolluants par voie dissoute (filtration et respiration) et par la voie trophique (matières en suspension). Les mollusques sont par ailleurs dotés de capacités de métabolisation réduites par rapport à d'autres organismes employés en biosurveillance. Leurs niveaux et profils de contamination sont ainsi susceptibles de refléter ceux de la colonne d'eau, en apportant par ailleurs une intégration temporelle.

Pour tester cette hypothèse, une action exploratoire a été réalisée pour estimer le potentiel de la dreissène comme organisme bioindicateur de la contamination de la Seine par les PFAS. Cette action s'est focalisée sur l'axe fluvial : des dreissènes ont été encagées sur quatre sites, ainsi que sur un site de référence situé à l'amont de l'agglomération parisienne sur la Marne (Champigny). Un échantillon de référence (individus non exposés) a également été analysé pour estimer le niveau de contamination des dreissènes

avant exposition *in situ*. Les résultats obtenus sont illustrés par la figure 6.

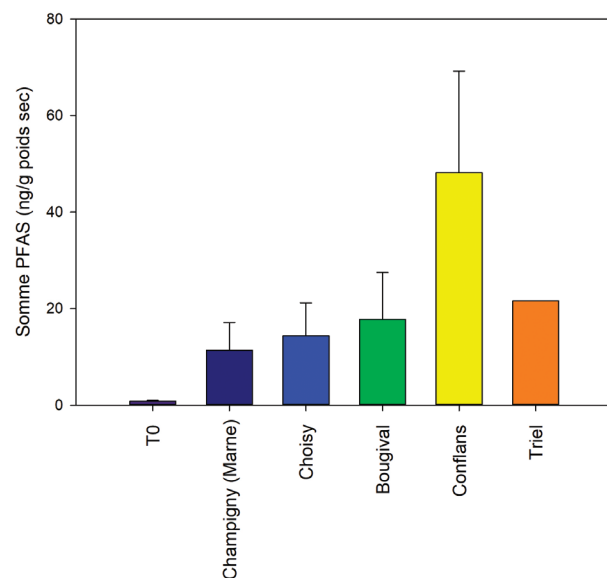


Figure 6. Teneurs totales en PFAS dans les tissus mous de dreissène (ng/g poids sec), après exposition de trois semaines ; n=3 sauf Triel (n=2). T0 : individus non exposés.

Dans les tissus de dreissènes, les teneurs totales de PFAS après trois semaines d'encagement *in situ* se sont avérées largement supérieures à celles observées chez les organismes témoins (Figure 6). Le faible nombre de mesures réalisées (au maximum 3 par site) n'a pas permis de tester la significativité des différences entre sites. Néanmoins, compte tenu de i) la répétabilité des mesures (estimée à moins de 15 %) et ii) du fait que les mesures ont été réalisées sur des échantillons composites (par exemple, constitués de plusieurs individus

et intégrant ainsi la variabilité interindividuelle), ces résultats suggèrent que les teneurs observées sur le site de Conflans sont supérieures à celles observées à l'amont de l'agglomération parisienne. Cette conclusion est également supportée par la cohérence des observations entre les trois campagnes et par la concordance avec les tendances observées pour les matières en suspension (MES). Par ailleurs, ces observations tendent à conforter les résultats acquis durant la phase VII du PIREN-Seine qui montraient une augmentation significative des concentrations de PFAS dans la phase dissoute de la colonne d'eau et le biofilm de l'amont à l'aval, suggérant des apports conséquents au sein de la métropole parisienne.

Nos travaux ont également démontré que le profil moléculaire des PFAS dans les tissus de dreissène (par exemple, l'abondance relative des différents composés) est globalement très proche de celui observé dans les MES. Ce patron de contamination est dominé par des PFAS historiques tel le PFOS, mais on relève également la contribution notable de PFAS relativement réactifs, tel le 10:2 FTSA ou le 6:2 FTAB, ce dernier étant largement employé dans les formulations historiques de mousses anti-incendies. La présence de ces PFAS moins persistants chez la dreissène est vraisemblablement liée aux capacités de métabolisation des xénobiotiques réduites chez la dreissène. Ce profil reflète ainsi assez fidèlement celui du milieu d'exposition, ce qui suggère la pertinence de la dreissène en tant que bioindicateur de la contamination par les PFAS, dans une démarche de biosurveillance active (transplantation d'organismes).

L'activité de filtration est un processus clé dans la bioaccumulation des micropolluants par la dreissène, qui peut être influencée par différents facteurs : température, taille, concentration et nature des particules, abondance de la nourriture (ex. : phytoplancton). Pour explorer les relations entre la contamination des MES et celle des dreissènes, nous avons déterminé le facteur d'accumulation biote-sédiment ( $BSAF_{MES}$ ). Ce facteur permet de quantifier la distribution des composés entre un organisme et les particules en suspension. Les  $BSAF_{MES}$  semblent contrôlés par la structure des PFAS considérés (par exemple, longueur de chaîne et nature du groupement fonctionnel) et les résultats montrent une variabilité comprise entre 29 et 47 %, ce qui reste relativement faible compte tenu des conditions d'acquisition des données. Ces observations indiquent que les  $BSAF_{MES}$  sont relativement constants d'un

site à l'autre et d'une période à l'autre (Figure 7), ce qui suggère que les teneurs dans les dreissènes puissent être utilisées comme un proxy pour estimer la contamination de la colonne d'eau. Les teneurs dans les MES peuvent en effet être estimées via le BSAF, et les concentrations dissoutes peuvent ensuite être à leur tour calculées via le coefficient de partage  $K_d$ . Une alternative consisterait ici à utiliser le facteur de bioaccumulation BAF pour estimer directement les concentrations dissoutes, sous réserve qu'il soit disponible ; or, ce n'est pas le cas pour la majorité des PFAS considérés ici.

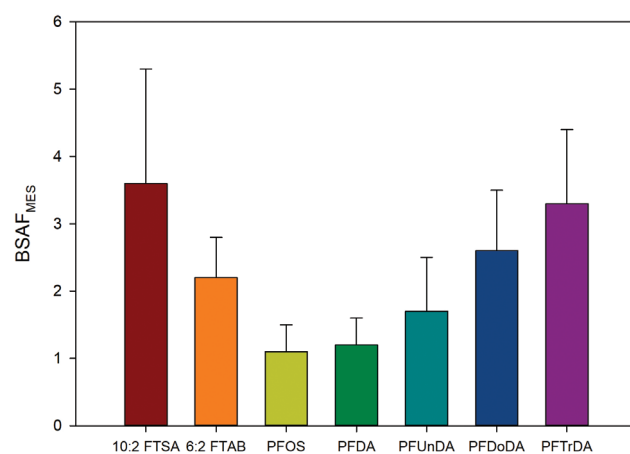
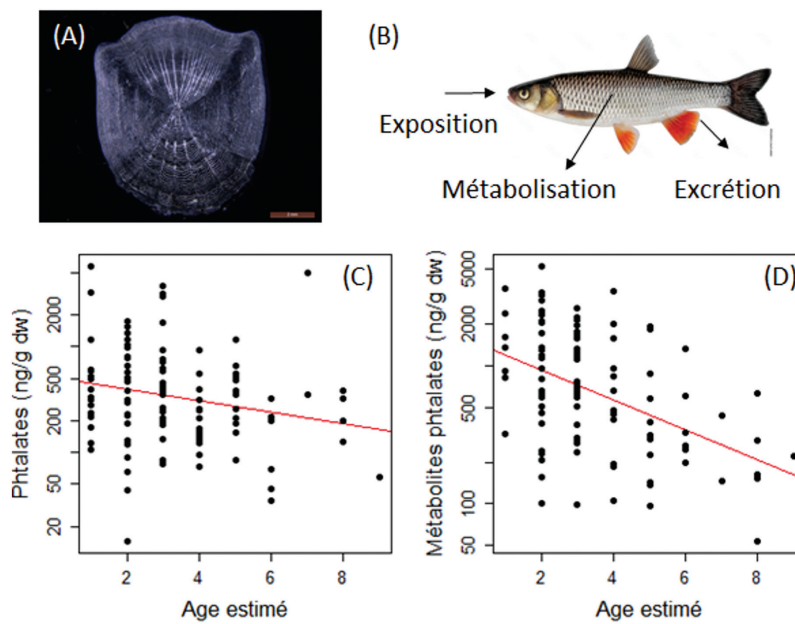


Figure 7. Facteurs d'accumulation biote-sédiment ( $BSAF_{MES}$ , moyenne + écart-type, n=3), calculés sur la base de teneurs exprimées en poids sec pour les tissus de dreissènes et les MES.

## Les poissons : des organismes intégrateurs de la contamination

En raison de leur longévité et de leur position sur les maillons plus élevés du réseau trophique, les poissons d'eau douce intègrent les différentes pressions et sont de bons indicateurs des pollutions diffuses. Le chevesne *Squalius cephalus* est un cyprinidé ubiquiste, très commun dans les cours d'eau européens et tolérant à des niveaux de pollution élevés. Ils sont donc étudiés préférentiellement dans le cadre de travaux de recherche, mais aussi de biosurveillance avec la mise en place des NQE<sub>biote</sub> qui se rapportent aux poissons. Les analyses de polluants sont principalement effectuées dans le muscle ou le foie. Le foie est privilégié pour les métabolites de polluants qui sont principalement générés lors des réactions enzymatiques effectuées au sein des cellules hépatiques, ainsi que pour les molécules hydrophobes. Ainsi les polluants organiques persistants peuvent atteindre des niveaux de concentration élevés dans



**Figure 8 :** (A) Ecaille de chevesne pour la détermination de l'âge des individus (scalimétrie), (B) représentation schématique du devenir des phtalates dans les organismes : exposition aux phtalates présents dans l'environnement, métabolisation et excrétion des métabolites de phtalate, (C) diminution des niveaux de phtalates dans le muscle des chevesnes en fonction de leur âge, (D) diminution des niveaux de métabolites de phtalates dans le foie des chevesnes en fonction de leur âge.

les tissus des chevesnes, en particulier les tissus adipeux et le foie. En raison des processus de bioaccumulation et de bioamplification trophique qui caractérisent ces substances, les individus les plus âgés et les plus grands sont les plus contaminés (Figure 8). Contrairement à ces polluants d'héritage, des substances d'intérêt émergent, comme les phtalates, sont plus facilement métabolisables. Lorsqu'un poisson est exposé aux phtalates, des enzymes impliquées dans le métabolisme de ces substances sont activées au niveau des cellules du foie principalement, mais aussi au niveau des branchies ou des reins. Les phtalates sont alors transformés en métabolites de phtalates, plus hydrosolubles, qui sont ensuite éliminés par voies biliaire ou urinaire. Les processus de bioaccumulation au sein des organismes ne suivent donc pas la même dynamique que les polluants organiques persistants. Les résultats menés dans le cadre du PIREN-Seine ont montré que les teneurs musculaires en phtalates, mais également celles en métabolites de phtalates diminuent avec la longueur totale des chevesnes (Figure 8), et avec leur âge qui peut être estimé à partir des écailles, par scalimétrie. Plus un poisson est âgé et donc grand, moins il accumule des polluants facilement métabolisables et les métabolites de ces polluants. Ce phénomène est expliqué par la dilution des composés métabolisables lors de la croissance des individus. Malgré cette rapide transformation et excrétion, il faut souligner que des phtalates et des métabolites de

phtalates sont retrouvés à des niveaux élevés dans le muscle de chevesnes en Seine (entre 50 et 5000 ng/g de muscle en poids sec), ce qui reflète un taux d'exposition bien supérieur au taux de transformation enzymatique et d'excrétion. Les niveaux de phtalates mesurés dans le muscle des chevesnes augmentent en suivant le gradient amont-aval de contamination environnementale, à l'échelle du bassin versant de la Seine.

De la même manière, nous avons étudié la contamination de cette espèce par les PFAS. Nous avons montré la présence généralisée de ces micropolluants chez cette espèce de poissons le long d'un transect longitudinal sur l'axe fluvial (de l'amont à l'aval de Paris). Des niveaux de contamination plus élevés sont observés sur les secteurs aval, en lien avec les apports urbains et industriels de PFAS (Figure 9). Outre le site d'échantillonnage, les habitudes alimentaires constituent un facteur majeur contrôlant les niveaux de PFAS chez une espèce bio-indicatrice telle que le chevesne, dans un cours d'eau sous influence urbaine dans lequel les niveaux de PFAS dissous varient rapidement en fonction des conditions hydrologiques. L'influence relative de chaque paramètre méritera d'être étudiée sur différentes populations de chevesnes et complétée par la prise en compte d'autres variables pertinentes telles que l'exposition par la respiration ou la teneur en phospholipides.

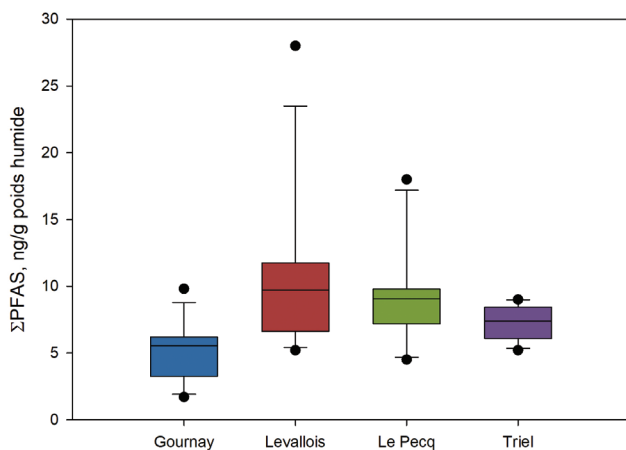


Figure 9. Teneurs totales des PFAS dans les muscles dorsaux de chevesne (ng/g de tissus frais).

En raison de leur écologie, les chevesnes ne se prêtent pas à des approches de biomonitoring actif avec engagement d'individus. Or, ces approches expérimentales sont nécessaires, car elles permettent de calibrer le temps d'exposition. Ainsi, dans le cadre du PIREN-Seine, une autre espèce commune a été utilisée pour des approches expérimentales : le goujon *Gobio gobio*, afin de suivre leur imprégnation à des antibiotiques. Des goujons issus de populations sauvages, pêchés dans l'Orge, ont été engagés en amont et en aval des rejets de la station d'épuration des eaux usées (STEU) d'Ollainville (91). Ils ont ainsi été exposés sur une période d'une, deux ou de trois semaines, aux rejets d'antibiotiques par la STEU. Malgré la contamination par les antibiotiques en aval de la STEU et dans l'eau de l'effluent ( $< 90 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  pour la somme de 14 antibiotiques), ces substances ne se bioaccumulent pas dans les muscles ou le foie de goujons. Ces substances se dégradent rapidement dans les milieux aquatiques et sont également rapidement métabolisées au sein des organismes aquatiques. C'est notamment le cas de l'amoxicilline, un antibiotique dont les teneurs atteignent  $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  à l'aval de la STEU, mais qui n'est pas détectée dans les goujons, même après 3 semaines d'exposition continue. Il n'apparaît donc pas judicieux d'utiliser les tissus de poissons pour des actions de biosurveillance concernant des résidus de médicaments. Toutefois, il est important de noter que le fait que ces substances ne soient pas détectées dans les organismes ne veut pas dire qu'elles n'ont pas d'impacts. Elles transitent au sein de l'organisme, sont transformées par les cytochromes  $\text{P}_{450}$ , un complexe enzymatique responsable de la métabolisation de la grande majorité des médicaments, avant d'être éliminées. L'exposition aux antibiotiques et à des biocides peut en outre modifier le microbiote intestinal et cutané des poissons.

## 2. Le transfert de contaminants le long de la chaîne trophique

Les organismes aquatiques sont donc utilisés pour la biosurveillance, via la mesure dans les tissus ou l'individu entier des niveaux de contaminants, toutes voies d'exposition confondues. En effet, en plus de la diffusion cutanée ou branchiale ou de la filtration de particules en suspension, une des voies d'exposition est l'ingestion de proies contaminées. Cette imprégnation de contaminants varie en fonction de l'écologie trophique des organismes, un organisme filtreur n'ayant pas la même exposition qu'un poisson piscivore ou qu'un détritivore. Il s'avère donc essentiel de comprendre les processus de transfert de ces contaminants au sein du réseau trophique (Figure 10). Pour les polluants organiques persistants, on observe une bioamplification, avec une augmentation des niveaux de polluants des producteurs primaires, aux consommateurs et jusqu'aux prédateurs supérieurs. Ceci s'explique par l'ingestion de nombreuses proies contaminées, l'assimilation et le stockage de ces polluants chez les prédateurs. Cette dynamique dépend toutefois des contaminants environnementaux. Pour un polluant facilement métabolisé et éliminé, les taux d'excrétion surpassent les taux d'assimilation, de sorte qu'il n'y a ni bioaccumulation ni bioamplification. On parle alors de dilution trophique. De même, des polluants plus solubles dans l'eau sont moins enclins à s'accumuler dans les tissus adipeux, et sont plus facilement éliminés par voies branchiale ou urinaire.

Dans ce contexte, nous avons étudié le devenir des contaminants d'intérêt émergent au sein des réseaux trophiques de l'Orge, dans un contexte très urbanisé, soumis à des pollutions multiples dues aux systèmes de traitement des eaux usées, aux rejets accidentels, ou au ruissellement de substances sur les surfaces imperméabilisées. Les teneurs de plus d'une centaine de contaminants historiques (pesticides organochlorés, PCB) ou d'intérêts émergents (chloroalcanes, PFAS, phtalates, pesticides, antibiotiques) ou de leurs produits de dégradation ont été analysés au sein des organismes aquatiques, à chaque maillon de la chaîne alimentaire. Plus particulièrement, les organismes étudiés sont des producteurs primaires (biofilms, algues, végétaux aquatiques), des macroinvertébrés (gammare, corbicules [bivalves], insectes [notonectes], limnées et planorbes [escargots d'eau douce]), des poissons (goujons, chabots, perche commune, perche-soleil, tanche, poisson-

chat). En plus d'identifier l'espèce, l'analyse de leur signature isotopique a permis de déterminer leur position au sein du réseau trophique. Concernant les composés organochlorés, une bioamplification trophique est mise en évidence pour les pesticides organochlorés et les PCBs les plus hydrophobes, tandis qu'une dilution trophique est observée pour les chloroalcane. Les travaux du PIREN-Seine ont également montré que d'autres composés suivent cette dilution trophique : les phtalates, les HAPs (hydrocarbures aromatiques polycycliques), les pesticides, et les antibiotiques. Les teneurs de ces contaminants diminuent le long de la chaîne alimentaire, de telle sorte que les prédateurs sont moins contaminés que leurs proies. En investiguant les raisons de ce déclin, les propriétés de ces substances, et notamment leurs caractères hydrosolubles et facilement métabolisables expliquent leur élimination progressive des réseaux trophiques. Enfin, concernant la dynamique trophique des PFAS sur ce même site, des résultats contrastés sont observés en fonction des composés. Les facteurs d'amplification trophique confirment le caractère bioamplifiable des carboxylates à chaîne longue (> C8) et des sulfonates (> C7). Elles ont également mis en évidence, pour la première fois, la

bioamplification de trois PFAS d'intérêt très émergent : deux sulfonates de fluorotélomères (8:2 FTSA et 10:2 FTSA), ainsi que celle d'un dérivé phosphoré (6:2 diPAP). Ces résultats tendent à confirmer le rôle déterminant des caractéristiques structurales – longueur de chaîne alkyle et nature du groupement fonctionnel – dans la bioamplification apparente des PFAS. En outre, grâce à l'application de la méthode TOP (*Total Oxidisable Precursor assay*), nous avons démontré que la contribution relative de PFAS métabolisables non identifiés à la concentration totale en acides fluoroalkylés (PFAA) diminuait avec le niveau trophique. Ceci suggère très fortement l'influence de la biotransformation de ces composés sur la bioamplification apparente de certains PFAA. Ainsi, pour mieux quantifier et comprendre la bioamplification des PFAS dans les réseaux trophiques aquatiques, il apparaît essentiel de considérer des listes élargies de PFAS et de proposer des approches complémentaires, par exemple en associant analyse ciblée et analyse globale de type TOP.

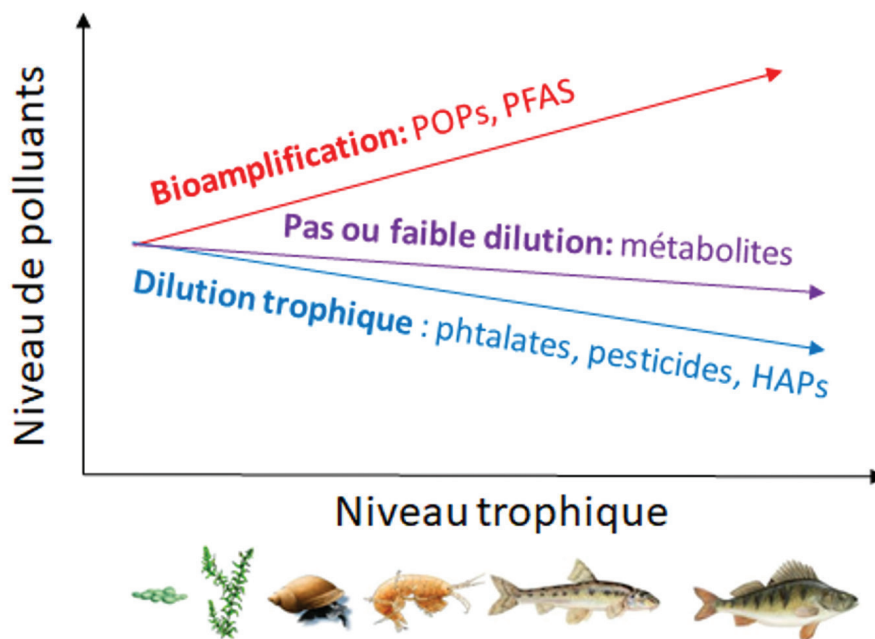


Figure 10 : Représentation schématique de la dynamique des polluants dans les réseaux trophiques : la bioamplification signifie une augmentation des teneurs en polluants des producteurs primaires aux consommateurs, jusqu'aux prédateurs supérieurs. C'est le cas des polluants organiques persistants (POPs) des composés per et polyfluorés (PFAS). La biodilution trophique est la relation inverse, due aux processus de métabolisation et d'excrétion des polluants au sein des organismes et in fine des réseaux trophiques. C'est le cas des phtalates, HAP, pesticides, résidus de médicaments. Les métabolites ainsi produits ont des niveaux plutôt stables ou qui diminuent légèrement le long des réseaux trophiques.



Sur la base de cette relation entre les niveaux de polluants et le niveau trophique, estimé grâce aux isotopes stables de l'azote, il est possible de calculer un facteur d'amplification trophique (TMF pour Trophic Magnification Factor). Cette valeur est égale à  $10^b$ , avec  $b$  correspondant à la pente de la régression linéaire :  $\log_{10}[\text{Polluant}] = a + b \cdot \text{Niveau Trophique}$  avec  $\log_{10}[\text{Polluant}]$  la teneur en polluants exprimée en ng/g de lipides dans l'organisme sur une échelle logarithmique. Ainsi, lorsque le TMF est supérieur à 1, la pente de la régression est positive et le polluant est bioamplifié, tandis qu'un TMF inférieur à 1 signifie que la pente est négative et qu'il y a eu une biodilution trophique du polluant.

Le tableau 1 donne un aperçu des valeurs obtenues de TMF sur l'Orge, à proximité de la confluence avec la Seine.

Polluants	TMF
Phtalates	0,16
Métabolites de phtalate	0,5
HAPs	0,08
Métabolites de HAPs	0,1
Pesticides organochlorés	1,7
PCB	1,19
Chloroalcane à chaînes courtes	0,18
Chloroalcane à chaînes moyennes	0,14

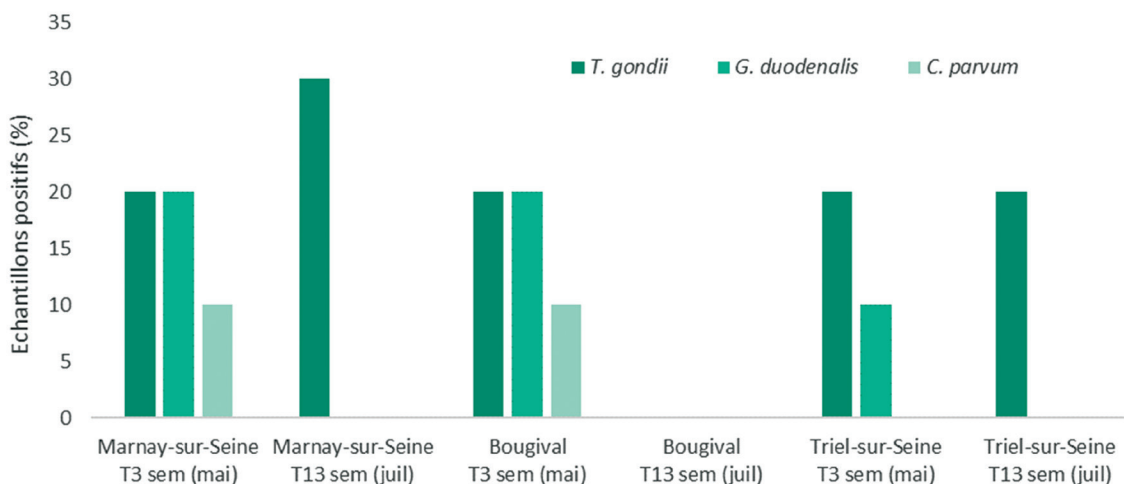
**Tableau 1 : TMF (Facteur d'amplification trophique) calculé sur l'ensemble des organismes (producteurs primaires, macroinvertébrés, poissons) prélevés sur l'Orge pour différentes familles de polluants.**

### 3. Contaminants biologiques

#### Mesure de la contamination biologique dans les organismes engagés

L'évaluation de la contamination biologique des masses d'eau (protozoaires, cyanobactéries, virus FRNAPH) a été abordée dans les deux dernières phases du PIREN-Seine avec la transplantation d'une population contrôle de dreissènes pendant plusieurs semaines (de 3 ou 13 semaines), sur différents sites ateliers de l'axe Seine et de ses affluents (Marne, Oise).

Lors de la campagne de 2016, dès 3 semaines d'exposition, les trois espèces de protozoaires ont été détectées dans les tissus des bivalves engagés le long de l'axe Seine, à Marnay-sur-Seine et Bougival; et *T. gondii* et *G. duodenalis* ont été détectés dans les bivalves engagés à Triel-sur-Seine (Figure 11). Après 13 semaines, aucun protozoaire n'a été détecté dans les moules zébrées engagées à Bougival, et seul *T. gondii* a été détecté dans les tissus des dreissènes transplantées à Marnay-sur-Seine et Triel-sur-Seine. Ce résultat pourrait être expliqué par une durée d'engagement (13 semaines) trop longue qui aurait pour conséquence une dépuración des bivalves. Ainsi, ces résultats suggèrent qu'une période d'engagement de 3 semaines est suffisante pour démontrer la contamination de l'eau par les protozoaires.



**Figure 11 : Pourcentage de dreissènes positives à *T. gondii*, *G. duodenalis* ou *C. parvum* après 3 semaines (prélèvement en mai 2016) ou 13 semaines (prélèvement en juillet 2016) de transplantation à Marnay-sur-Seine, Bougival et Triel-sur-Seine (n = 10). ND : non détecté.**

Bougival et Triel-sur-Seine étant des sites urbains, la contamination biologique pourrait être liée à la forte densité de population dans cette partie du bassin de la Seine et pouvant potentiellement être porteuse. Concernant *T. gondii*, les félins sont les seuls hôtes définitifs, or l'abondance en chats domestiques est corrélée positivement avec la forte anthropisation.

La contamination biologique à Marnay-sur-Seine pourrait être liée aux activités agricoles et d'élevage importantes dans cette région. Le bétail, en particulier les bovins, est une source importante de *C. parvum*. De plus, l'abondance des chats domestiques étant positivement corrélée avec le nombre de fermes, ce paramètre peut expliquer la contamination de ce site à *T. gondii*. Cette étude a donc permis de mettre en évidence que les parasites protozoaires sont présents dans la Seine et que la dreissène, en tant qu'organisme sédentaire, pourrait refléter les contaminations biologiques ambiantes des cours d'eau.

Trois campagnes de transplantation de dreissènes ont été réalisées en 2020, 2021 et 2023 sur cinq sites ateliers choisis suivant un gradient amont-aval (Champigny-sur-Marne; Choisy-le-Roi, Bougival, Conflans-Sainte-Honorine

et Triel-sur-Seine), afin de prendre en compte la variabilité spatiale et temporelle de la qualité des eaux de la Seine et de ses affluents (Marne, Oise). Aucun gradient amont/aval n'a été identifié en termes de contamination en protozoaires (Tableau 2). Toutefois, une contamination plus importante en kystes de *G. duodenalis* est observée durant la campagne de janvier 2023 avec 5 pools de dreissènes positifs sur 50, contre 2 pools positifs sur 50 en novembre-décembre 2020 et en novembre-décembre 2021. Or, la transmission des protozoaires des sols contaminés vers le compartiment aquatique peut être facilitée par les eaux de ruissellement. Les précipitations pourraient ainsi expliquer la contamination plus importante des sites de la Seine en janvier 2023, car cette période a été marquée par un débit journalier plus important comme à Paris Austerlitz avec 305 m<sup>3</sup>/s, contre respectivement 139 m<sup>3</sup>/s et 135 m<sup>3</sup>/s en novembre 2020 et novembre 2021. Les sites ciblés lors de ces campagnes sont localisés en zones urbaines et correspondent à des territoires artificialisés. Le type d'occupation du sol (terres agricoles et pâturages versus sols artificialisés) peut expliquer une part de la contamination en protozoaires. En effet, les déjections des animaux domestiques (chat pour *T. gondii*) et des animaux d'élevage (bovins pour *G. duodenalis*) sont des sources

Campagne	Site	Protozoaire <sup>a</sup> <i>T. gondii</i>	Protozoaire <sup>a</sup> <i>G. duodenalis</i>
Campagne n° 1 Nov-Déc. 2020	Champigny-sur-Marne	0/10	0/10
	Choisy-le-Roi	0/10	0/10
	Bougival	0/10	0/10
	Triel-sur-Seine	0/10	2/10 (4,79 et < LOQ)
	Conflans	1/10 (< LOQ)	0/10
Campagne n° 2 Nov-Déc. 2021	Champigny-sur-Marne	0/10	0/10
	Choisy-le-Roi	1/10 (< LOQ)	1/10 (2,11)
	Bougival	0/10	0/10
	Triel-sur-Seine	0/10	0/10
	Conflans	0/10	1/10 (1,1)
Campagne n° 3 Janv. 2023	Champigny-sur-Marne	0/10	2/10 (2,88 et 2,02)
	Choisy-le-Roi	0/10	0/10
	Bougival	0/10	0/10
	Triel-sur-Seine	1/10 (< LOQ)	1/10 (1,66)
	Conflans	0/10	2/10 (2,05 et 2,27)

a. Nombre d'échantillon(s) positif(s) sur dix analysés. Entre parenthèses figure le nombre d'oocystes de *T. gondii* ou de kystes de *G. duodenalis* détectés par échantillon avec < LOQ = inférieur à la limite de quantification.

**Tableau 2 : *Toxoplasma gondii* et *Giardia duodenalis* détectés et quantifiés dans les tissus de dreissènes (n=10 pools de deux dreissènes) engagées sur différents sites de la Seine en 2020, 2021 et 2023.**



importantes de contamination. Les eaux de ruissellement et le lessivage des sols de zones agricoles et d'élevage peuvent véhiculer les agents pathogènes vers le milieu aquatique. Les résultats obtenus dans la présente étude en conditions naturelles soulignent l'utilité de la dreissène en tant qu'outils de biosurveillance de la contamination en protozoaires.

## Les cyanobactéries

Afin de suivre la contamination du milieu par les cyanobactéries, les toxines microcystines ont été recherchées durant la campagne de 2016 dans les tissus des dreissènes sous deux formes d'accumulation, la forme libre dans les tissus classiquement dosée par méthode d'immunodétection Elisa, mais aussi la forme totale (libre et liées aux protéines) plus rarement investiguée, mais fournissant une information plus complète sur la présence de cyanotoxines dans le milieu entre deux dates de prélèvement. En effet, après ingestion de cyanobactéries par les dreissènes, les microcystines sont rapidement accumulées sous forme libre dans les cellules, forme éliminée par les systèmes de biotransformation impliquant les glutathion-S-transférase. Ainsi, les cinétiques de contamination par les microcystines libres montrent des détoxications rapides de l'ordre de la semaine et reflètent la contamination du milieu à court terme. Par contre, une part des microcystines se lie aux protéines de manière covalente et ne sont probablement éliminées

que lors du turn-over naturel de ces dernières, reflétant aussi des contaminations un peu plus anciennes de l'ordre de la quinzaine de jours voire du mois. Une méthode d'extraction et de dosage par spectrométrie de masse des microcystines accumulées sous forme totale dans les tissus de dreissène a donc été spécifiquement mise au point pour accéder à ces deux types d'intégration temporelle de la contamination du milieu.

Le dosage des microcystines libres dans les tissus de la dreissène montre une accumulation principalement au mois de mai dans les trois sites, avec une teneur maximale de 3,22 ng g<sup>-1</sup> poids sec sur le site de Bougival (Figure 12). Des microcystines sont également retrouvées en novembre chez les bivalves de Marnay et de Triel, mais à des concentrations proches de la limite de détection.

La quantification des microcystines totales montre une accumulation dans les tissus de la dreissène après 3 semaines d'encagement pour les deux campagnes (Figure 13).

Les valeurs d'accumulation sont globalement plus importantes lors de la campagne 1 versus la campagne 2, mais les différences ne sont pas significatives. La concentration maximale de microcystines totales atteint 8,77 ng g<sup>-1</sup> poids sec en juillet à Triel pour la campagne 1, et 6,41 ng g<sup>-1</sup> poids sec en décembre à Marnay pour la campagne 2. Les concentrations de microcystines totales sont supérieures à celles de microcystines libres pour tous

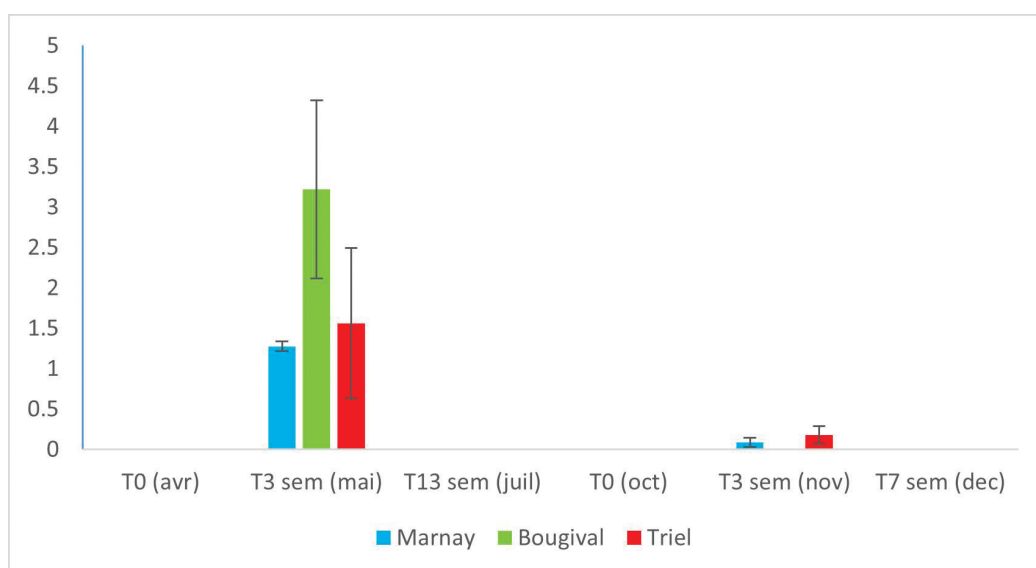


Figure 12. Accumulation de microcystines libres (ng g<sup>-1</sup> poids sec) chez *D. polymorpha* lors des deux campagnes d'encagement de 2016 sur les sites de Marnay-sur-Seine, Bougival et Triel-sur-Seine.

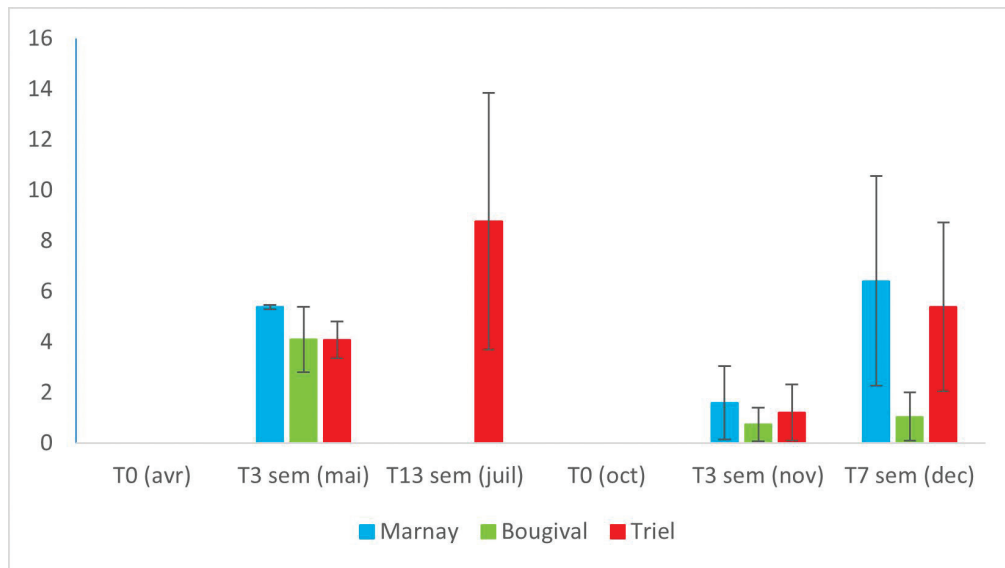


Figure 13. Accumulation de microcystines totales (libres et liées aux protéines) (ng g<sup>-1</sup> poids sec) chez *D. polymorpha* lors des deux campagnes d'engagement de 2016 sur les sites de Marnay-sur-Seine, Bougival et Triel-sur-Seine.

les mois d'exposition. Ces données de toxines totales permettent de mettre en évidence une contamination du milieu en juillet et en décembre, non révélée par le dosage des toxines libres dans les tissus de la dreissène. Les teneurs en toxines libres et liées dans les tissus de la dreissène au 16 novembre 2016 montrent que des cyanobactéries ont été présentes dans les 3 sites de Marnay, Bougival et Triel lors des 2 premières semaines de novembre. En revanche, au 13 décembre, seules des microcystines totales sont relevées dans les tissus, à de plus fortes teneurs à Marnay et Triel qu'à Bougival et à de plus fortes teneurs qu'en novembre pour ces deux sites, suggérant une contamination du milieu par les cyanobactéries ayant eu lieu entre le 16 novembre et le début du mois de décembre.

Globalement, ces valeurs d'accumulation restent de l'ordre du ng g<sup>-1</sup> poids sec et sont donc modérées par rapport aux teneurs reportées dans la littérature, allant jusqu'à plusieurs dizaines de µg g<sup>-1</sup> poids sec. Ces résultats montrent donc la présence de cyanobactéries productrices de microcystines dans tous les sites aux mois de mai, novembre et décembre, et uniquement à Triel en juillet 2016. Cependant, les densités de cyanobactéries dans la colonne d'eau ont probablement été limitées, sans phénomène de prolifération intense (bloom). Ces résultats montrent aussi l'intérêt de l'utilisation d'organismes intégrateurs pour révéler la présence de toxines présentes en faibles concentrations dans un milieu courant comme la Seine. En effet, les forts débits de la Seine limitent les

développements intenses des cyanobactéries comme on peut les observer en milieux stagnants. Cependant, le risque en période d'étiage ou de bas débit peut être plus important, de même que dans les écosystèmes stagnants adjacents et en connexion avec le continuum Seine, pouvant représenter des réservoirs de proliférations de cyanobactéries avec un transfert possible dans l'axe Seine.

## Les virus FRNAPH

Une première étape a consisté à caractériser en laboratoire l'amplitude d'accumulation des FRNAPH au sein de la dreissène, sa représentativité vis-à-vis du niveau d'exposition ainsi que les capacités de dépuración.

Tout d'abord, des dreissènes ont été exposées durant 48 h à une large gamme de concentration de FRNAPH dont les plus faibles sont difficilement détectables par une analyse directe de l'eau. La concentration la plus forte est, quant à elle, de l'ordre de grandeur des concentrations retrouvées dans des eaux usées brutes. Les résultats (Figure 14A) soulignent qu'à l'exception de la plus faible condition, des FRNAPH infectieux sont mesurés et augmentent ce de façon linéaire avec le niveau d'exposition. Ces résultats soulignent, une bonne représentativité de la concentration en FRNAPH infectieux dans les glandes digestives de dreissènes vis-à-vis du niveau d'exposition pendant 48 h dans leur milieu de vie. Cette représentativité est un critère important pour ensuite proposer la dreissène comme



matrice pour l'analyse des FRNAPH infectieux dans un objectif de surveillance de la qualité des masses d'eau. Ensuite, des dreissènes ont été exposées durant 14 jours à deux concentrations en FRNAPH (344 et 2583 UFP/mL) avec un renouvellement du milieu afin de maintenir un niveau d'exposition constant. Des dreissènes ont été récupérées et analysées après 1, 7 et 14 jours d'exposition). Cette nouvelle expérience souligne une accumulation très rapide des FRNAPH par les dreissènes et un état d'équilibre avec le niveau d'exposition atteint en moins de 24 h (Figure 14B). Outre une accumulation très rapide (<de 24 h), le suivi de la charge en FRNAPH dans les dreissènes sur 14 jours, montre que les organismes se mettent rapidement en équilibre avec le degré de contamination de leur milieu de vie et que leur niveau d'imprégnation reste stable si l'exposition persiste (Figure 14B). En complément de la capacité d'accumulation, cette représentativité du degré d'exposition, et donc de la contamination de son milieu de vie au cours du temps, est un critère également d'intérêt pour l'utilisation de la dreissène en tant que matrice pour la surveillance des masses d'eau. Enfin, la cinétique de dépuración des FRNAPH accumulés chez les dreissènes a été évaluée en les exposant pendant 48 h, aux deux concentrations d'exposition (96 et 883 UFP/mL) puis en évaluant le niveau d'accumulation des FRNAPH immédiatement (D0 de la figure 14C) ou après les avoir placés dans de nouveaux aquariums sans phages

infectieux pour mesurer la dépuración après 2, 7, 14, 21, 28 et 35 jours. Durant la phase de dépuración, la charge en FRNAPH infectieux diminue régulièrement selon le niveau d'imprégnation initial. Le temps nécessaire pour obtenir une réduction de 90 % (T90) de la concentration des FRNAPH infectieux dans les dreissènes exposées a été calculé à l'aide des équations de courbe de tendance obtenues à partir des données expérimentales et est de 14 jours ( $R^2=0,97$ ) et 13 jours ( $R^2=0,91$ ) pour les conditions 96 et 883 UFP/mL respectivement. De façon complémentaire aux précédents résultats, la cinétique de dépuración renseigne que les dreissènes sont en capacité de conserver le signal infectieux au sein de leurs tissus et ainsi traduire une exposition passée. Ce paramètre est également d'intérêt pour une utilisation de la dreissène comme biocapteur pour évaluer la contamination virale d'origine fécale d'une masse d'eau.

Suite à la caractérisation du schéma d'accumulation des FRNAPH par la dreissène en condition de laboratoire, une application de son utilisation comme matrice d'analyse des FRNAPH pour évaluer la contamination virale d'origine fécale sur le bassin de la Seine a été réalisée. Pour ceci des dreissènes provenant de notre population de référence ont été transplantées durant 3 semaines sur différents sites du bassin de la Seine.

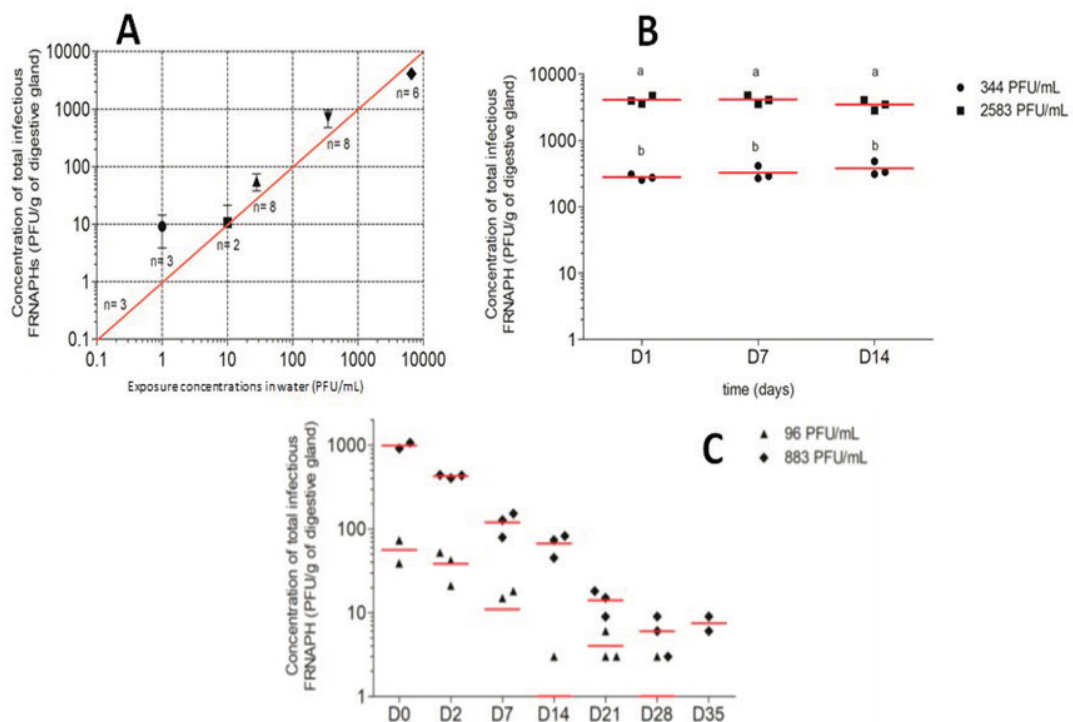


Figure 14 : Concentrations en FRNAPH infectieux (UFP/g de glande digestive, A : moyenne +/- ET des échantillons quantifiables, B et C : 3 pools de 20 glandes digestives).

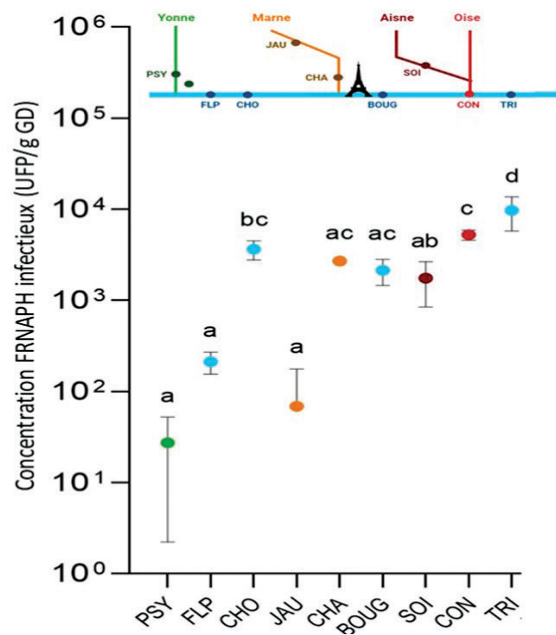


Figure 15 : Concentration en FRNAPH (UFP/g de glande digestive) chez les dreissènes exposées durant 3 semaines sur différents sites du bassin de la Seine : PSY : Pont-sur-Yonne ; FLP : Fontaine-le-Port ; CHO : Choisy-le-Roi ; JAU : Jaulgonne ; CHA : Champigny-sur-Marne ; BOUG : Bougival ; SOI : Soissons ; CON : Conflans-Sainte-Honorine ; TRI : Triel. En bleu : axe Seine, vert : l'Yonne ; orange : La Marne ; marron : Aisne et Rouge : Oise. D'après (Lortholario et al 2024 JEMA).

Les concentrations de FRNAPH mesurées au niveau de la glande digestive des dreissènes exposées sont présentées dans la figure 15. Les résultats soulignent clairement un gradient de la concentration en FRNAPH accumulée dans les dreissènes avec à l'amont de l'agglomération de Paris une concentration de  $6,9 \times 10^1$  UFP/g à Fontaine-le-Port jusqu'au site le plus aval avec une concentration de  $7,6 \times 10^3$  au niveau du site de Triel. Des concentrations plus faibles sont observées au niveau de Pont-sur-Yonne ( $2,7 \times 10^1$  UFP/g) et de Jaulgonne ( $2,1 \times 10^2$  UFP/g) situées plus en amont sur l'Yonne et la Marne respectivement. À l'inverse, les sites plus en aval de la Marne (Champigny) et de l'Oise (Conflans-Sainte-Honorine) montrent également, comme sur l'axe Seine, l'influence de l'agglomération parisienne sur la contamination virale de ces affluents. Ces premiers résultats d'application de la dreissène comme matrice d'analyse de l'indicateur de contamination virale d'origine fécale soulignent le potentiel de cette approche.

## Les poissons comme réservoirs de l'antibiorésistance

Les études menées sur le réseau hydrographique du bassin versant de la Seine, dans le cadre du programme PIREN-Seine, ont démontré que l'abondance en BRA d'origine

fécale (*E.coli* et entérocoques intestinaux), ainsi que les concentrations en antibiotiques persistants (vancomycine, sulfaméthoxazole, triméthoprim et fluoroquinolones), étaient minimales dans les ruisseaux forestiers et maximales dans les rivières urbaines où sont rejetés des effluents traités de stations de traitements des eaux usées (STEU), notamment lorsqu'elles étaient raccordées à des hôpitaux ou des centres de soins. Une étude a confirmé ces résultats en observant une abondance relative plus importante d'intégrons cliniques, support génétique impliqué dans la dissémination de la multirésistance aux antibiotiques en milieu clinique, dans les ADN bactériens extraits de divers compartiments (eau, sédiments, biofilms), lorsqu'ils étaient prélevés à l'aval des rejets de STEU par rapport à l'amont. Cependant, depuis 2015, la mise en place des plans d'action nationaux et européens, qui ont conduit à une diminution des prescriptions en antibiotiques, en parallèle à l'amélioration des processus de traitement des eaux usées ont limité la sélection des bactéries résistantes aux antibiotiques chez les humains et les animaux, et donc leur rejet ultérieur dans le milieu aquatique. Pour autant, ces efforts sont neutralisés par la densité de population croissante, en particulier dans les mégapoles urbaines.

Les travaux menés dans la phase 7 du programme PIREN-Seine, se sont intéressés au rôle potentiel des poissons

sauvages dans la dissémination des BRA, susceptibles d'être transmises à l'Homme, en se focalisant sur le groupe des *Enterobacterales*, qui comprend de nombreux genres bactériens présents à la fois dans le microbiote des poissons sauvages et celui des humains, dont des espèces d'intérêt clinique.

Les microbiotes du mucus cutané et digestif des poissons de l'Orge hébergent des *Enterobacterales* résistants aux antibiotiques, bien que la prévalence des isolats contenant l'intégron clinique de classe 1 soit faible. Parmi les *Enterobacterales* résistantes aux antibiotiques isolés dans des poissons sauvages, plusieurs isolats appartenaient à des genres connus comme pathogènes humains ou animaux tels que *E. coli*, *Klebsiella* ou *Enterobacter*, et impliqués dans des maladies nosocomiales. Des genres plus spécifiques de l'environnement, *Lelliottia*, *Butiauxella* et *Kluyvera*, ont également été isolés du microbiote digestif de ces poissons (Figure 16). Les poissons ayant été rincés immédiatement après leur capture, les isolats identifiés étaient intimement associés au microbiote cutané du poisson. Ces résultats démontrent donc le rôle des poissons sauvages des rivières urbaines dans la propagation des *Enterobacterales* résistants aux antibiotiques partagés par les humains et les animaux.

Aujourd'hui, afin d'harmoniser la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans différents réservoirs, y compris l'environnement, l'autorité européenne de sécurité des aliments recommande de rechercher plus spécifiquement *E. coli* ou même *Salmonella* ou *Klebsiella*. Dans ces travaux, nous montrons que la proportion d'isolats résistants à au moins un antibiotique (sur les 16 antibiotiques testés selon les recommandations de

l'EUCAST 2019, *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) était plus faible dans la population d'*E. coli* que dans la population d'*Enterobacterales* non *E. coli*, comprenant des genres bactériens d'intérêt clinique (Tableau 4, Figure 16).

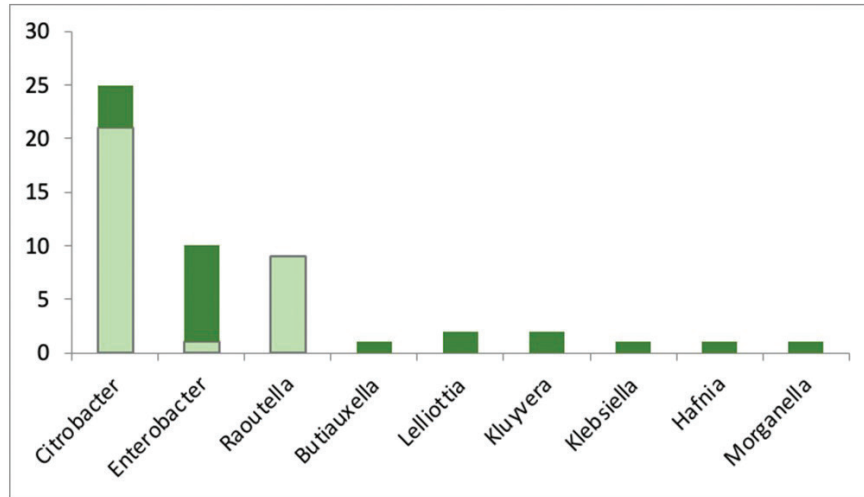
## Les parasites et leur rôle dans la dynamique des contaminants

Un des écueils des tests en conditions contrôlées pour l'évaluation des risques repose sur l'étude d'un organisme modèle sans prendre en compte les interactions biotiques. Dans la section II.1.iii, le devenir des contaminants est décrit au sein des réseaux trophiques, des proies aux prédateurs. Comprendre cette dynamique est indispensable pour interpréter les  $NQE_{\text{biote}}$ . Mais les interactions biotiques ne se résument pas aux relations proies-prédateurs. En conditions naturelles, les organismes vivants sont en constantes interactions, y compris avec des parasites. Il est important de comprendre comment ces interactions biotiques façonnent la dynamique des polluants et la façon dont les organismes répondent aux pressions environnementales. Ainsi des travaux ont été menés pour répondre aux questions suivantes : quel est le devenir des polluants dans les hôtes et leurs parasites ? Les organismes infestés par des parasites intestinaux répondent-ils différemment à la contamination environnementale par rapport aux individus non parasités ?

Ainsi, dans le bassin versant de la Seine, il a été observé qu'environ 70 % des chevesnes sont parasités par des acanthocéphales, des vers helminthes qui se fixent à la paroi intestinale de leur hôte grâce à leurs crochets. Ces parasites ont un cycle de vie complexe, impliquant les

	<i>Enterobacterales</i> (N=105) dont isolat porteur d'intégron cliniques de classe 1	
	<i>Escherichia coli</i>	Autres <i>Enterobacterales</i>
Microbiote cutané	30	3
Microbiote digestif	16 (1)	56 (2)
Résistance à au moins 1 antibiotique (% d'isolats au sein de la population)	28,3	84,7

**Tableau 4 : Le phénotype de résistance aux antibiotiques, et la recherche d'intégron clinique de 105 *Enterobacterales*, isolées de 89 poissons (mucus cutané et tractus digestif ; 8 espèces) montrent que la proportion d'isolats résistants à au moins 1 antibiotique est : (i) indépendante de l'espèce de poissons (Kruskal-Wallis test,  $p = 0,37$ ), (ii) atteint 30,9 % chez *Escherichia coli* (*E. coli*) et 84,7 % chez les *Enterobacterales*-non-*E. coli*. Chaque poisson a été immédiatement rincé après sa capture avec un tampon NaCl 0,9 % (w/v) -Tween 20 1 % (v/v) afin d'éliminer les bactéries associées transitoirement au mucus.**



**Figure 16** Profil phénotypique aux antibiotiques des souches d'*Enterobacterales* isolées du microbiote digestif de poissons prélevés dans l'Orge : vert clair - Sensible aux 16 antibiotiques testés; vert foncé - Nombre de résistances aux antibiotiques compris entre 1 et 3, absence de souches multirésistantes, parmi les 9 genres isolés, deux isolats appartiennent à des genres jugés problématiques en milieu clinique (*Enterobacter*, et *Klebsiella*).

gammarees comme hôtes intermédiaires. Nous avons développé une technique d'endoscopie visant à évaluer la présence des acanthocéphales dans les chevesnes sous anesthésie (Figure 17A).

En analysant les niveaux de plus de 40 polluants au sein des vers intestinaux, nous avons montré un transfert des poissons-hôtes vers leurs parasites acanthocéphales. Ces derniers présentent la remarquable aptitude à accumuler des polluants organiques persistants, des phtalates, des HAP, des pesticides, si bien que les niveaux de contamination sont plus importants dans les parasites que dans les principaux tissus des chevesnes (muscle, foie et contenu stomacal, Figure 17 B). En séquestrant ces polluants, ces parasites peuvent donc indirectement diminuer la disponibilité de ces substances pour les chevesnes. La deuxième étape a donc été d'étudier les conséquences possibles du parasitisme en milieu contaminé. Plusieurs traits physiologiques ont été investigués chez les poissons sauvages. Parmi eux, le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène et les capacités antioxydantes des cellules. Le stress oxydant augmente à la suite d'une exposition aux polluants. Nous avons montré que les poissons parasités présentent un niveau de stress oxydant plus bas que les chevesnes non parasités (Figure 17). Ces résultats suggèrent que la séquestration des polluants par les parasites protège les poissons-hôtes des effets écotoxicologiques. Cet effet positif et inattendu des parasites est à nuancer par les dommages induits par le parasitisme. La pathogénicité,

c'est-à-dire la capacité d'un agent pathogène à causer une maladie, est relativement faible pour les acanthocéphales, avec des dommages localisés sur la muqueuse intestinale et une altération de la composition du microbiote intestinal des chevesnes. Si les bénéfices de l'accumulation des polluants contrebalancent les coûts induits par la fixation des acanthocéphales à leur hôte, on serait dans une situation où les parasites deviennent des mutualistes en fonction du niveau de pollution environnementale. Il s'agit cependant ici d'études descriptives, avec le prélèvement et l'observation de niveaux de pollution, niveaux d'infestation et effets biologiques sur des populations de poissons prélevés *in situ*.

D'autres études expérimentales sont menées en mésocosmes, des dispositifs artificiels de grande taille qui reproduisent des écosystèmes aquatiques, au sein du CEREAP-Ecotron Ile-de-France. Il a ainsi été possible de confirmer de façon expérimentale, les liens de causalité entre la présence de parasites, la séquestration de polluants et la modulation du stress oxydant. Chez les chevesnes non parasités, le stress oxydant augmente avec l'exposition croissante aux HAP. Cette relation s'inverse pour les chevesnes parasités par les acanthocéphales, avec une diminution du stress oxydant malgré la contamination. D'autres traits biologiques sont évalués afin d'adopter une approche intégrative : nous avons ainsi identifié des ajustements au niveau des défenses immunitaires, de la composition et la diversité de microbiote intestinal et du comportement.

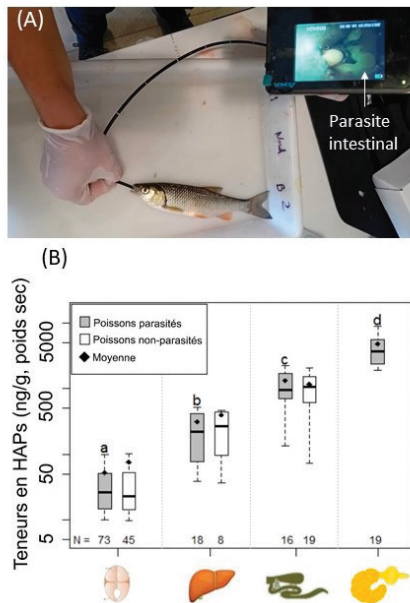


Figure 17 : (A) réalisation d'une endoscopie pour visualiser les parasites intestinaux sur un chevesne anesthésié (crédit photo : Léa Lorrain-Soligon), (B) teneurs en HAP (ng/g poids sec) 3 à 200 fois plus importantes dans les parasites acanthocéphales que dans les tissus des chevesnes (muscle, foie, contenu stomacal).

## Conclusion

Caractériser l'éco-exposome, c'est-à-dire l'ensemble des expositions au cours de la vie des individus en milieu naturel est une tâche ardue, dans la mesure où les contaminants transitent dans les organismes, circulent, s'accumulent, sont transformés et éliminés. Le PIREN-Seine innove en utilisant les organismes aquatiques comme témoin des pollutions chimiques et biologiques, dont les niveaux présentent une forte variabilité spatio-temporelle. Cette biosurveillance peut être active, en s'appuyant sur des individus engagés, notamment les dreissènes, grâce à l'ajustement du temps d'exposition afin d'enregistrer la charge en contaminants biologiques ou chimiques au sein des organismes, connaissant leurs capacités

d'accumulation et de dépuración. Cette biosurveillance peut également être passive, en prélevant des poissons directement dans le milieu aquatique, voire plusieurs organismes représentatifs des réseaux trophiques et en mesurant la charge en polluants. La force de ces approches est de pouvoir comparer différents sites le long de l'axe Seine. Il a ainsi été mis en évidence l'influence majeure de l'agglomération parisienne sur les niveaux de contamination de la plupart des contaminants suivis dans le biote. Les variations saisonnières ont été également prises en compte, ainsi que d'autres sources de variation, telles que les effets de l'âge, du positionnement dans le réseau trophique ou de la charge parasitaire. Une fois cette étape de caractérisation des niveaux de contamination interne, l'objectif est d'appréhender les conséquences biologiques.





## CHAPITRE 3



## Les effets à différentes échelles biologiques

Les réponses du biote à l'exposition aux contaminants peuvent être évaluées à différents échelons d'organisation biologique. Les biomarqueurs sont les témoins, à l'échelle moléculaire, biochimique ou cellulaire, d'effets précoces et spécifiques d'une altération de grandes fonctions physiologiques (par exemple des effets neurotoxiques, immunotoxiques, génotoxiques, perturbateurs

endocriniens). Aux échelons supérieurs (individus, populations, communautés), cela peut se traduire par des altérations morphologiques, de traits d'histoire de vie (croissance, survie, reproduction), de déclin démographique, la disparition d'espèces les plus sensibles. De tels effets donnent une vision plus intégrative des pressions multiples qui s'exercent sur les écosystèmes aquatiques.

## 1. Les gammares : des organismes historiquement étudiés

Les macroinvertébrés d'eau douce constituent une importante biomasse assurant des fonctions écologiques indispensables au bon fonctionnement des écosystèmes aquatiques. Parmi les espèces ubiquistes des cours d'eau, les gammares sont des amphipodes détritivores largement distribués dans les régions tempérées d'Europe incluant le bassin de la Seine. Ces crustacés occupent en effet divers habitats lotiques ou lentiques et sont capables de coloniser de nouveaux habitats disponibles, notamment en contexte urbain. Les espèces natives majoritaires du bassin sont *Gammarus fossarum* et *Gammarus pulex* dont la distribution va dépendre de besoins spécifiques et contraintes environnementales.

En tant qu'espèce bioindicatrice, les gammares se prêtent très bien à l'étude des questions écotoxicologiques concernant les produits chimiques circulant dans l'environnement aquatique. En effet, ces ingénieurs de l'écosystème impliqués dans la dégradation de la litière et le cycle des nutriments sont abondants dans les cours d'eau et constituent une source de nourriture pour de nombreux amphibiens, poissons et oiseaux. Outre leur intérêt écologique, les gammares sont faciles à collecter sur le terrain et à manipuler en laboratoire, ce qui explique leur utilisation croissante aujourd'hui pour le développement de biomarqueurs d'exposition basés sur des traits fonctionnels à différents niveaux d'organisation (de la cellule à la population) et leur déploiement à travers des approches de biosurveillance active (transposition d'individus de référence par encagement). Au niveau sub-individuel, le suivi de biomarqueurs biochimiques impliqués dans diverses fonctions biologiques vitales (par exemple, la mue, la digestion...), dans le stress cellulaire ou la détoxification renseigne sur les modes d'action des contaminants au niveau cellulaire. Ces altérations biochimiques constituent ainsi des alarmes précoces de toxicité, avant tout événement délétère ou létal pour l'individu. Au niveau de l'individu, des traits basés sur des caractéristiques comportementales des gammares (par exemple, la locomotion, la copulation et l'alimentation) sont de plus en plus proposés pour évaluer les effets toxiques de divers contaminants organiques et métalliques, en tant que réponses sublétales à l'interface entre les processus physiologiques et écologiques.

Une utilisation couplée de biomarqueurs biochimiques et comportementaux a été réalisée lors d'un suivi saisonnier de biosurveillance sur l'axe fluvial au cours d'une année hydrologique. Ce suivi visait à évaluer la pertinence de ces outils multiniveaux développés chez le gammare pour évaluer l'écotoxicité de la multicontamination de la Seine et leur sensibilité aux variations temporelles de la pression chimique. Ainsi, des enzymes impliquées dans la digestion, un marqueur neurotoxique (acétylcholinestérase, AchE) et des traits comportementaux (alimentation et reproduction) ont été mesurés chez des gammares encagés sur les sites-ateliers Marnay-Bougival-Triel. Cette étude impliquant différentes équipes du PIREN-Seine a permis de démontrer des effets à différents niveaux biologiques, dont les réponses augmentaient d'amont en aval de la mégalopole de Paris en accord avec le gradient anthropique et les niveaux de contamination mesurés en Seine (PBDEs, HAPs, PFOSs, métaux...), et de mettre en évidence une variabilité saisonnière où l'hiver paraît moins impactant. En outre, ces travaux valident la pertinence de l'utilisation de biomarqueurs multiniveaux pour une évaluation précise d'impacts environnementaux liés à des pressions diffuses et chroniques in situ (dans des conditions réelles), auxquelles la faune sauvage est soumise.

## 2. Les hémocytes comme modèle cellulaire pour l'évaluation de la génotoxicité et de l'immunotoxicité des masses d'eaux

De nombreuses recherches en écotoxicologie aquatique portent sur le développement et la mesure de réponses biologiques à des niveaux d'organisation (sub)individuels, c'est-à-dire de la molécule à l'individu, qui peuvent être regroupées sous le terme générique de biomarqueurs. Les biomarqueurs présentent l'avantage de répondre rapidement aux pressions du milieu et pour certains d'entre eux, d'être spécifiques de voies de toxicité. Ils peuvent être considérés à ce titre comme des signaux d'alerte ou précoces d'une dégradation du milieu. Cependant, il convient de renforcer la pertinence écologique des biomarqueurs afin qu'ils puissent être prédictifs d'effets délétères à des niveaux biologiques supérieurs, c'est-à-dire jusqu'à la population.

Dans ce contexte, l'emploi de biomarqueurs mesurés au sein du système circulatoire des organismes présente un intérêt particulier pour la biosurveillance environnementale. Chez les Invertébrés, le système circulatoire, l'hémolymphe, est remarquable à bien des égards. Dotés d'un système circulatoire ouvert, l'hémolymphe circule au travers des organes, permettant ainsi d'apporter les nutriments nécessaires au fonctionnement basal de l'individu. La fraction cellulaire de l'hémolymphe est composée de cellules circulantes, les hémocytes, assurant différentes fonctions représentatives des activités essentielles telles que le transport et la digestion des nutriments, la respiration, l'excrétion, les réparations aussi bien de l'organisme que de la coquille (bio-minéralisation) et les défenses immunitaires. Les hémocytes permettent de mettre en évidence les effets toxiques associés à la bioaccumulation de contaminants chimiques ou biologiques. L'utilisation de l'hémolymphe regroupe plusieurs avantages tels que i) le caractère non invasif du prélèvement; l'hémolymphe étant ponctionné au niveau du muscle adducteur au travers de la coquille et donc ii) le traitement de l'échantillon aisé, car directement accessible, iii) son rôle central dans l'état de santé des organismes puisque iv) tous les organes baignent dans l'hémolymphe, les réponses biologiques associées sont ainsi intégratives de l'individu.

Une approche multimarqueurs intégrant aussi bien des biomarqueurs d'intégrité que des biomarqueurs de fonctionnalité cellulaire offre l'avantage de mettre en évidence l'ensemble des interactions entre les contaminants du milieu et les réponses biologiques. Avec un tiers des contaminants environnementaux considérés comme génotoxiques, c'est-à-dire susceptibles d'impacter le génome des organismes sous forme de cassures de brins, de lésions oxydatives, de fragmentation ou perte de chromosomes (micronoyaux, aneuploidie...), les biomarqueurs de génotoxicité ont été parmi les premiers à être employés dans les stratégies de surveillance environnementale. Le lecteur pourra trouver un descriptif des biomarqueurs de génotoxicité et des méthodologies associées dans le précédent fascicule sur «l'évaluation du risque écotoxicologique dans le bassin de la Seine». Depuis, les méthodologies ont été optimisées, miniaturisées et valorisées autour de la cellule hémocytaire dans le but de travailler à l'échelle individuelle et de mesurer sur un même échantillon biologique un panel de biomarqueurs. En complément de la mise en évidence des effets génotoxiques, la mesure de fonctionnalités

cellulaires en lien avec la phagocytose est particulièrement pertinente dans l'évaluation des risques immunotoxiques. La compréhension des relations existantes entre les marqueurs d'intégrité et de fonctionnalité phagocytaire vise à améliorer l'interprétation du diagnostic du risque écotoxique et renforcer l'usage des valeurs guides qui ont pu être définies précédemment dans un contexte de biosurveillance environnementale.

Ce fascicule met l'accent sur les résultats obtenus dans le cadre de la dernière phase du PIREN-Seine. Trois campagnes de transplantation de dreissènes provenant d'un site contrôle (Lac du Der) ont été réalisées en 2020, 2021 et 2023 sur les cinq sites ateliers choisis suivant un gradient amont-aval (Champigny-sur-Marne, Choisy-le-Roi, Bougival, Conflans-Sainte-Honorine et Triel-sur-Seine). A l'issue des campagnes de transplantation d'une durée de trois semaines, les effets génotoxiques ont été mesurés sur les hémocytes de dreissènes par le test des comètes pour la mise en évidence des cassures de brins et des lésions oxydatives de l'ADN. Les paramètres immunitaires considérés dans cette étude sont représentatifs du processus de phagocytose (efficacité et avidité) des hémocytes au bout de 4 h de bioessai. Une représentation graphique des principaux biomarqueurs (*ADN* : taux de cassures de brins; *Avidité* : nombre moyen de billes phagocytées par hémocyte; *Efficacité* : pourcentage d'hémocytes efficaces c'est-à-dire ayant phagocyté au moins 3 billes) mesurés sur les cinq sites ateliers (dans le sens horaire : Champigny/ Marne et Choisy-le-Roi en amont, Bougival, Triel-sur-Seine et Conflans-Sainte-Honorine en aval de l'agglomération parisienne) met en évidence une variabilité spatiale (sites) et temporelle (campagnes) de la réponse des biomarqueurs (Figure 18).

De façon globale, le taux de cassures de brins de l'ADN et l'avidité hémocytaire montrent des profils de réponse similaires, avec un gradient amont-aval des effets génotoxiques et immunotoxiques (avidité) marqué pour 2020, en comparaison des campagnes de 2021 et 2023. Sur la base des résultats obtenus, cette étude visait également à combiner tout ou partie des biomarqueurs dans une approche intégrative afin d'avoir un meilleur aperçu de la réponse des organismes face aux pressions génotoxiques et immunotoxiques de leur milieu. Une classification ascendante hiérarchique a permis de rendre compte de la répartition des dreissènes en trois clusters principaux (Figure 19).



Figure 18 : Représentation en radar des résultats des mesures de biomarqueurs de génotoxicité et d'immunotoxicité sur les hémocytes de dreissènes. Les résultats sont exprimés par rapport aux limites de référence des biomarqueurs (traits discontinus noirs). Les valeurs au-delà de 1 traduisent un effet génotoxique (ADN) et immunotoxique sous forme de stimulation de l'avidité phagocytaire ; les valeurs en deçà de 1 traduisent un effet inhibiteur de l'efficacité phagocytaire.

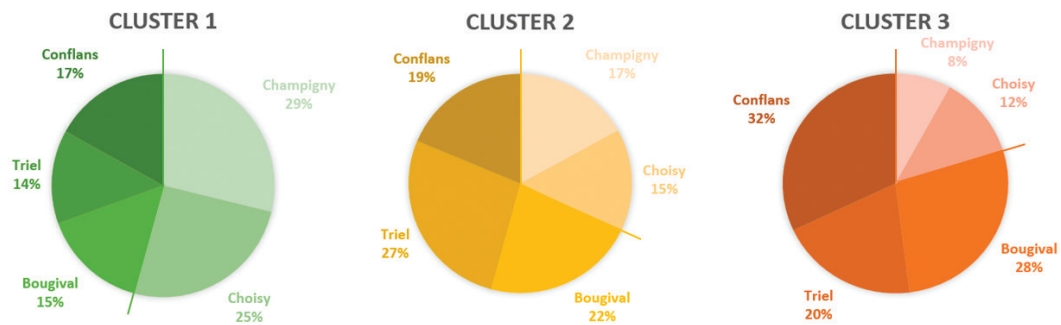


Figure 19 : Répartition des dreissènes suivant leurs caractéristiques génotoxiques et immunotoxiques

Le premier cluster (vert) se caractérise par des dreissènes présentant des valeurs moyennes des biomarqueurs au sein, ou proche, de la gamme de référence. En analysant la contribution relative des dreissènes à la constitution de ce premier cluster, plus de la moitié d'entre elles proviennent des sites de transplantation situés en amont (Champigny-sur-Marne – 29 % et Choisy-le-Roi – 25 %). Les deux autres clusters (orange et rouge) correspondent aux dreissènes présentant des valeurs des biomarqueurs en dehors de la gamme de référence. Les dreissènes du deuxième cluster (orange) sont caractérisées par une inhibition de la capacité de phagocytose des hémocytes associée à des lésions oxydatives de l'ADN alors que les dreissènes du troisième cluster (rouge) sont caractérisées au contraire par une stimulation de la phagocytose des hémocytes comme en témoigne particulièrement l'avidité, corrélée positivement aux cassures de brins de l'ADN. De façon notable, il peut être constaté une diminution progressive

de la contribution relative des dreissènes transplantées dans les sites amont (Champigny-sur-Marne et Choisy-le-Roi) en fonction des clusters (cluster 1 : 54 % ; cluster 2 : 32 % ; cluster 3 : 20 %) au profit des dreissènes transplantées au niveau des sites aval (Bougival, Triel/Seine, Conflans-Sainte-Honorine). Cette analyse intégrée de la réponse des biomarqueurs hémocytaires tend à démontrer qu'il pourrait y avoir plusieurs schémas, associés ou non, de dommages et/ou de réponses face aux pressions génotoxiques et immunotoxiques du milieu. Cela permet d'autant plus de mettre en évidence un gradient amont-aval des effets écotoxiques en lien avec la contamination des eaux.

Cette étude, par son approche intégrative de multiples marqueurs autour d'un même modèle cellulaire, est une première étape visant à comprendre la signification de la réponse apportée par les biomarqueurs hémocytaires. Il convient dorénavant de préciser l'étendue et les

conséquences à plus long terme de l'exposition des organismes aux pressions immunotoxiques et génotoxiques de leur milieu. C'est à ce titre que les biomarqueurs hématocytaires pourront être considérés non seulement comme des indicateurs de toxicité précoce, mais également comme des indicateurs prédictifs de dysfonctionnement physiologique permettant de renforcer ainsi leur pertinence écologique. Les travaux futurs dans le cadre du PIREN-Seine viseront à réaliser des campagnes de transplantation à long terme des dreissènes (18 à 24 mois) et de coupler de façon individuelle la mesure à intervalles réguliers des réponses hématocytaires aux effets à plus long terme sur la

dynamique de croissance et de survie des individus. Cette étude permettra *in fine* de modéliser la probabilité de survie et d'effets toxiques sub-individuels en fonction du site de transplantation des dreissènes et du niveau/catégorie de réponse des biomarqueurs hématocytaires. Ces travaux futurs visant au changement d'échelle dans l'interprétation de la réponse des biomarqueurs permettront de renforcer les valeurs guides (référence et seuils) établies précédemment et de promouvoir leur utilisation dans une démarche de surveillance et d'évaluation des risques environnementaux en lien avec la contamination des masses d'eau.

## Des biomarqueurs liés à la réponse immunitaire

La défense immunitaire joue un rôle majeur dans la physiologie des organismes, puisqu'elle contribue au maintien de l'intégrité de l'organisme. En parallèle, la contamination environnementale induit des effets immunosuppresseurs en perturbant les paramètres cellulaires et humoraux de la défense immunitaire. Dans ce contexte, des paramètres relatifs à ce processus physiologique ont été caractérisés comme biomarqueurs de la pression immunotoxique sur différents modèles animaux et notamment les bivalves. Ces biomarqueurs fonctionnels sont représentatifs de i) l'activité des hémocytes via la mesure de l'efficacité de phagocytose (pourcentage avéré d'hémocytes participant à la phagocytose), mais également de ii) la productivité cellulaire via la mesure de l'avidité (nombre moyen de particules phagocytées par hémocyte).

Brièvement, le processus de phagocytose est un mécanisme cellulaire assuré par les hémocytes. La phagocytose débute par la migration des hémocytes vers les particules étrangères à éliminer par chimiotactisme. Les hémocytes vont reconnaître les particules du non-soi via des interactions membranaires qui vont entraîner la formation de pseudopodes permettant aux hémocytes d'internaliser les particules. S'ensuit une cascade de production enzymatique dans le phagolysosome afin de détruire les particules étrangères (Figure ci-dessous). A partir des connaissances sur ce processus, un bioessai de mesure simultanée de la cytotoxicité et de l'immunotoxicité sur les hémocytes de *D. polymorpha* a été développé à l'aide de la technique de cytométrie en flux. Les hémocytes sont prélevés individuellement et exposés pendant 4 h à des particules fluorescentes à ratio et volume constants et similaires entre les échantillons. A l'issue de cette exposition, les paramètres d'efficacité et d'avidité sont mesurés sur une moyenne de 10 000 cellules par individu et 10 individus par sites d'études et permettent de discriminer l'activité de phagocytose en fonction des sites d'expositions des individus.

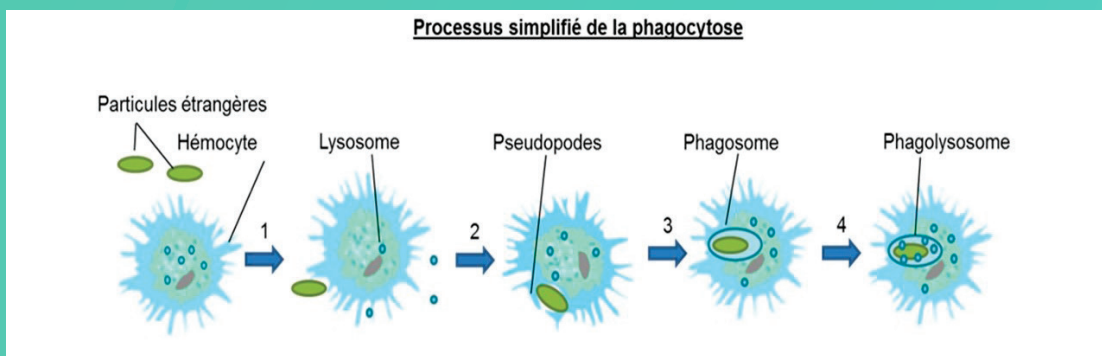


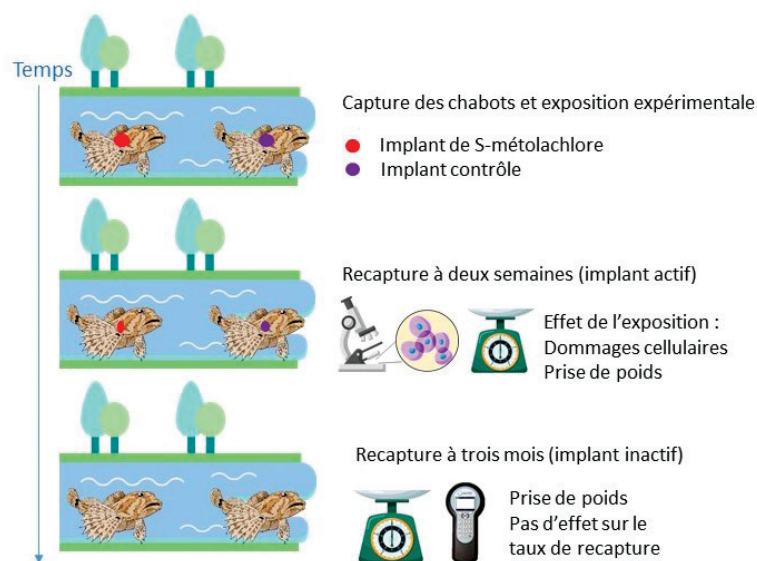
Schéma simplifié du processus de phagocytose. La première étape est la phase de reconnaissance et d'adhésion des microorganismes par les cellules (1), puis l'internalisation dans la cellule à l'aide des pseudopodes (2) à l'intérieur du phagosome (3) et enfin la destruction du microorganisme grâce aux lysosomes et à la production d'espèces réactives à l'oxygène et à l'azote au sein du phagolysosome (4).

### 3. Intégrer les effets écotoxicologiques de l'échelle cellulaire aux traits d'histoire de vie

Pour étudier les effets des pollutions environnementales chez les poissons, il existe plusieurs types d'approches expérimentales : l'encagement de poissons, dans le même esprit que les encagements de gammarès et de dreissènes, mais également les mésocosmes aquatiques qui permettent de créer des écosystèmes simplifiés, ou bien l'emploi d'implants. Cette dernière méthode a été récemment développée et consiste à injecter un polluant dans la cavité péritonéale des poissons, sous forme d'implant qui délivre à faibles doses la substance sur une période d'environ un mois. On peut ainsi suivre les effets de cette exposition en milieu naturel, pendant et après la période d'exposition, ce qui permet de tester si les effets persistent ou s'ils sont réversibles une fois que la pression chimique cesse. Dans le cadre du PIREN-Seine, cette méthode a été développée et déployée sur une population de chabots fluviatiles *Cottus perifretum* (Figure 20) dans le contexte très agricole du bassin versant de l'Orgeval. A l'exutoire de ce bassin versant, les pesticides sont suivis dans l'eau, notamment le S-métolachlore, un herbicide de plus en plus utilisé en raison de l'interdiction d'autres substances. Des pics de S-métolachlore sont détectés dans l'eau, au printemps, à des teneurs de l'ordre du  $\mu\text{g.L}^{-1}$ .

Les chabots sont pêchés dans le ru des Avenelles, identifiés grâce à une puce et sont repêchés régulièrement dans le cadre de programme à long terme de type capture-marquage-recapture. Le chabot est un organisme idéal pour ce type d'étude, car il a un bon de taux de recapture sur le terrain, en raison de sa très faible mobilité. L'implant de S-métolachlore simule une exposition plus longue et permet d'évaluer les effets en conditions naturelles en comparant les chabots traités aux chabots contrôles, qui reçoivent un implant sans cet herbicide.

Plusieurs effets ont été mesurés chez ces individus. Tout d'abord, des effets moléculaires en analysant des marqueurs de stress oxydant, des effets cellulaires en réalisant des frottis sanguins, et enfin des effets à l'échelle des individus, en suivant les variations de masse au cours du temps et les taux de recapture, 2 semaines et 3 mois après la pose d'implants. Ces travaux ont mis en évidence que le S-métolachlore provoquait des malformations au niveau des érythrocytes, des cellules sanguines et un changement de numération cellulaire, avec une augmentation du nombre de neutrophiles qui reflète un stress inflammatoire. De façon intéressante, ces effets s'expriment 2 semaines après la pose d'implant, donc quand les chabots sont exposés expérimentalement au S-métolachlore, mais disparaissent 3 mois après, lorsque l'implant ne délivre plus l'herbicide. Les effets cellulaires semblent donc réversibles.



**Figure 20 : Capture-marquage-recapture de chabots dans l'Orgeval et exposition expérimentale au S-métolachlore via un implant à diffusion lente (1 mois). Les chabots recapturés pendant la période de diffusion de l'implant souffrent de dommages cellulaires et ont pris du poids, comparés aux chabots du lot contrôle. Trois mois après la pose de l'implant, malgré qu'il ne diffuse plus d'herbicide, les chabots ont toujours un poids plus élevé, suggérant que le S-métolachlore est obésogène, sans que cela ne compromette le taux de recapture.**

À l'échelle de l'organisme, les chabots exposés au 5-métolachlore ont pris du poids, tandis que le poids des poissons contrôles est resté stable. Cette prise de poids suggère que le 5-métolachlore est obésogène, stimule l'acquisition et le stockage des réserves alimentaires ou dérègle le métabolisme, via par exemple une perturbation du système thyroïdien. Cette prise de poids est détectée à 2 semaines et 3 mois après la pose d'implant, ce qui suggère une persistance des effets. Il n'a pas été observé de différence dans les taux de recapture des deux groupes de chabots : implants de 5-métolachlore ou implants contrôles.

#### 4. Vers l'évaluation des effets à l'échelle des populations et des communautés

Depuis le début du PIREN-Seine, les actions de recherche menées ont permis d'améliorer les connaissances sur le transfert et le devenir d'un large panel de contaminants organiques et métalliques dans l'environnement, en particulier dans l'hydrosphère. Elles ont également permis l'essor d'approches destinées à caractériser la multicontamination des milieux aquatiques et le développement de biomarqueurs de toxicité chez différents organismes modèles (gammare, moules...). Forte de ces avancées, la dernière phase (Phase 8) a cependant soulevé de nouveaux enjeux concernant i) l'analyse globale de la contamination ii) la variabilité des effets à différentes échelles biologiques iii) et plus particulièrement, la difficile mise en relation entre pressions chimiques et marqueurs de toxicité.

Au cours de la future phase 9 du PIREN-Seine, l'accent sera alors mis sur l'établissement de liens entre expositions multiples, réponses multi-échelles et risques environnementaux/sanitaires. Il s'agira notamment de prendre en compte des montées en échelles temporelle, spatiale et biologique pour améliorer la caractérisation des contaminations multiples et leur toxicité globale sur l'environnement et l'humain, identifier des interactions (synchronismes/antagonismes) entre dynamiques chimiques et cycle du vivant, et cibler des fonctions globales comme outils génériques et robustes de diagnostic pour rendre compte de l'état des écosystèmes.

Dans cette phase 9, un axe sera ainsi consacré aux «contaminants : niveaux et effets sur l'environnement et la santé». Cet axe se structure autour d'actions complémentaires et interdisciplinaires qui visent à évaluer les effets des multicontaminations à différentes échelles d'organisation biologique, de la cellule à l'écosystème, motivée par une volonté d'intégrer une dimension écologique et fonctionnelle dans la réponse du vivant aux pressions chimiques. Pour une compréhension fine de ces relations pressions-réponses, les actions basées sur des expérimentations de terrain couplant de descripteurs interdisciplinaires (hydrologie, chimie environnementale, écologie...) à large échelle temporelle ont été privilégiées. Elles permettront de faire le lien entre contamination des milieux, niveaux de bioaccumulation et impacts à différents niveaux trophiques jusqu'à la santé animale et environnementale. Elles reposent sur des sites ateliers étudiés depuis plusieurs années et bien connus du PIREN-Seine pour présenter des signatures de multicontaminations différentes, inhérentes à leur typologie : le bassin de l'Orge en contexte urbain ou le bassin d'Orgeval en contexte agricole. En raison de son gradient de contamination d'origines anthropiques combinées, l'axe fluvial de la Seine (Marnay/Bougival/Triel/Poses et ses affluents majeurs) constitue également un objet d'étude intéressant pour le suivi des dynamiques, en particulier soumis à des conditions extrêmes et variations de charge sédimentaire. Ces actions ciblent un large panel d'organismes (dreissènes, gammare, macroinvertébrés, biofilms, poissons et leurs parasites...) présentant des besoins écologiques et régimes alimentaires différents. Ainsi, ce panel est représentatif des différentes voies d'exposition (dissoute/particulaire/trophique) susceptibles d'impacter la faune sauvage. In fine, l'utilisation d'organismes sentinelles et le suivi de communautés indigènes renseigneront sur leurs implications pour la biosurveillance de milieux soumis à des pressions anthropiques contrastées et complexes, et fourniront des éléments d'aide à la décision destinés à la préservation de la vie aquatique.

Lors des phases précédentes, de nombreux biomarqueurs aux échelles cellulaires et infra-individuelle ont été développés chez des espèces d'eau douce, basés sur des effets neurotoxiques, génotoxiques, reprotoxiques ou sur le stress cellulaire. Ces outils biologiques constituent des indicateurs précoces de toxicité en raison de l'échelle d'étude et offrent des perspectives intéressantes dans l'établissement de référentiels et valeurs seuils pour



l'évaluation de risques. Néanmoins, des questions demeurent autour de leur généralité vis-à-vis de la contamination globale, leur sensibilité aux fluctuations de l'éco-exposome (mélanges de contaminants) et notamment de leur représentativité écologique : quelles sont les répercussions de ces événements sublétaux sur les échelles supérieures à long terme à savoir sur la santé des individus, les dynamiques des populations jusqu'aux services fonctionnels rendus par les communautés ?

Ces constats ont motivé une montée en échelle biologique incluant une dimension écologique dans le cadre de la phase 9 pour identifier des impacts fonctionnels en cascade et ainsi, des réponses plus génériques à la contamination globale et intégrées dans le temps en raison de l'imprégnation de la biocénose aux pressions diffuses et chroniques. A ces fins, les déploiements simultanés d'indicateurs multiniveaux sur les sites ateliers du PIREN-Seine offrent des pistes intéressantes. L'utilisation de biomarqueurs ciblant des actions toxiques infra-individuelles constitue en effet une passerelle entre niveaux de bioaccumulation et perturbations à des niveaux supérieurs d'organisation biologique. A l'échelle de la population, le suivi de traits basés sur le comportement des animaux (alimentation, capacité de filtration, accouplement, mobilité...) constitue des réponses à l'interface entre les processus physiologiques et écologiques, dont la pertinence a été évaluée lors des phases précédentes du PIREN-Seine. Elles renseignent notamment sur les altérations de performances individuelles induites par des pressions chimiques, précédant des déclin de populations éventuels. A l'échelle des communautés, les multicontaminations peuvent induire des déplacements structuraux et fonctionnels (biofilms, macroinvertébrés), des perturbations dans les réseaux trophiques et les relations inter-espèces (hôte-parasite, hôte-microbiote, taux de prédation...), lesquelles sont susceptibles de générer d'importantes perturbations écologiques. Ces perturbations seront caractérisées en contexte périurbain (bassin de l'Orge) et agricole (bassin d'Orgeval). Des indices globaux seront calculés sur la base de la structure et la composition de la communauté des macroinvertébrés (exemple, abondance, richesse, diversité...), leur sensibilité aux pressions organiques et chimiques et leurs traits écologiques à la suite des prélèvements intégrés dans le temps (déploiements de sacs à litière pour piéger les macroinvertébrés) ou ponctuels, mais exhaustives de l'ensemble de la communauté (I2M2). A l'échelle de

l'écosystème, des fonctions écosystémiques (dégradation de la matière organique, régulation des nutriments et des contaminants, perte de biodiversité...) sont également ciblées pour traduire l'état de santé des écosystèmes. In fine, cet axe de la phase 9 devrait contribuer à relier des événements cellulaires à des répercussions écologiques, à travers des effets délétères en cascade le long de l'organisation biologique, pour une évaluation précoce des risques liés aux multicontaminations.

Cette montée d'échelle biologique est néanmoins confrontée à la complexité environnementale, à savoir des facteurs naturels (hydrologie, oxygène, température, ressource, nutriments...), biologiques (parasitisme...), anthropiques (aménagements) ou d'événements extrêmes en lien avec le changement climatique (crues, assècs), susceptibles de modifier les habitats, la dynamique de la biodiversité et la réponse du vivant. Pour une évaluation précise des risques, il convient de quantifier l'influence de ces facteurs confondants sur les réponses biologiques et écologiques ciblées et d'en établir leur contribution par rapport à celle inhérente aux pressions chimiques. A ces fins, les approches de biosurveillance active (engagement de gammare, de dreissenés ou de poissons) ou passive (échantillonnage de communautés autochtones de macroinvertébrés ou biofilms) seront privilégiées au cours de la phase 9 en raison de leur pertinence environnementale pour décrire des perturbations biologiques et écologiques en conditions réelles. Ces approches seront couplées à des suivis chimiques de différentes familles de contaminants sur les sites ateliers du PIREN-Seine et réalisées sur de larges échelles temporelles, à savoir des cycles hydrologiques complets, afin d'identifier des conflits entre dynamiques chimique et biologique/écologique et d'évaluer la sensibilité de biomarqueurs multiniveaux aux variations spatio-temporelles des multicontaminations et leur pertinence au regard de facteurs confondants.

## Conclusion

Le PIREN-Seine a contribué à évaluer les effets induits par la pollution environnementale grâce à une approche unique qui combine différentes espèces (dreissènes, gammares, chabots, chevesnes), différentes méthodologies (prélèvements *in situ*, encagement, mésocosmes, manipulation expérimentale de l'exposition des individus), une batterie de biomarqueurs et de bioindicateurs complémentaires. Ces travaux apportent une vision large

et intégrative des risques écologiques et écotoxicologiques liés à la pollution environnementale dans la Seine et ses affluents. A terme, il sera possible de dresser un diagnostic de l'état de santé environnementale. Un des futurs défis du PIREN-Seine consistera à changer d'échelle pour mieux appréhender et prédire les conséquences potentielles sur la biodiversité, mais également prendre en compte les multiples perturbations environnementales qui peuvent interagir avec les contaminants.





# Conclusion générale

**Les progrès de traitement des eaux usées et les actions visant à réduire l'utilisation et les rejets de substances toxiques ont contribué à limiter le rejet de certaines substances et pathogènes dans les environnements aquatiques, mais n'ont pas suffi à endiguer la pollution chimique du bassin de la Seine. A cela s'ajoute une contamination biologique par des virus, protozoaires, bactéries résistantes aux antibiotiques, qui soulève d'importants enjeux sanitaires et la nécessité d'inscrire les travaux dans une démarche *One health* / Une seule santé. La caractérisation de ces contaminants dans le biote reflète les usages et activités humaines, qu'elles soient agricoles, industrielles ou domestiques et permet la mise en place de mesures de biosurveillance. Bien qu'il soit encore difficile d'estimer l'éco-exposome, les travaux récents ont permis de quantifier le devenir des polluants dans les organismes à différents maillons du réseau trophique, et de mieux interpréter les liens entre exposition externe et interne en fonction des composantes environnementales et individuelles.**

Les conséquences de cette contamination multiple sur le biote ont également pu être appréhendées, via le déploiement de méthodes innovantes, qui combinent la robustesse des manipulations expérimentales à la complexité environnementale en milieux naturels (encagement, implants) ou semi-naturels (mésocosmes aquatiques). La combinaison de plusieurs biomarqueurs (immunotoxicité, génotoxicité, stress oxydant, perturbation endocrinienne), permet d'établir un diagnostic de l'état de santé général des organismes, de prédire les conséquences en termes de traits d'histoire de vie des individus, mais aussi de considérer le caractère réversible des effets lorsque la pression chimique ou biologique cesse. Toutefois, il est difficile de décortiquer les relations de causalité entre une substance ou mélange de substances chimiques et un ou des effets biologiques, en raison de la complexité

des interactions écologiques et environnementales. D'importantes avancées ont été menées grâce à la prise en compte des interactions biotiques, tels que les effets couplés entre pollution et parasitisme, mais également l'étude de la diversité des microbiotes intestinaux et cutanés, contribuant ainsi à alimenter la discussion autour de la notion d'« une seule santé ». Un changement d'échelle fera l'objet de futurs axes de recherche, avec l'étude des communautés et des traits fonctionnels afin de renforcer la pertinence écologique des travaux menés. Enfin, l'observation à long terme qui définit le PIREN-Seine est un atout majeur pour la considération des processus évolutifs, notamment les mécanismes de tolérance, résistance et résilience face aux pollutions historiques à l'échelle du bassin versant.



# Références



- Allam, B., Raftos, D. (2015). Immune responses to infectious diseases in bivalves. *Journal of Invertebrate Pathology* 131, 121–136. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.005>
- Anderson, J. K., Brecher R. W., Cousins I. T., DeWitt J., Fiedler H., Kannan K., Kirman C. R., Lipscomb J., Priestly B., Schoeny R., Seed J., Verner M., Hays S.M. (2022). Grouping of PFAS for human health risk assessment: Findings from an independent panel of experts. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 134: 105226. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105226>.
- ANSES. (2020). AVIS et RAPPORT de l'Anses relatif à l'actualisation de l'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, les eaux de loisirs et les eaux destinées aux activités de pêche professionnelle. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2015SA0207Ra.pdf>
- ANSES. (2020). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Giardia duodenalis*. Saisine n° 2016-SA-0078. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0078Fi.pdf>
- ANSES. (2019). Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : *Cryptosporidium spp.* Saisine n° 2016-SA-0077. <https://www.anses.fr/fr/system/files/BIORISK2016SA0077Fi.pdf>
- Barjhoux, I., Rioult, D., Geffard, A. & Palos Ladeiro, M. (2020). A new protocol for the simultaneous flow cytometric analysis of cytotoxicity and immunotoxicity on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) hemocytes. *Fish Shellfish Immunol.* 98, 224–235. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.12.092>
- Barjhoux, I., Fechner, L.C., Lebrun, J. D., Anzil, A., Ayrault, S., Budzinski, H., Cachot, J., Charron, L., Chaumot, A., Clérandeau, C., Dedourge-Geffard, O., Faburé, J., François, A., Geffard, O., George, I., Labadie, P., Lévi, Y., Munoz, G., Noury, P., Oziol, L., Quéau, H., Servais, P., Uher, E., Urien, N., and Geffard, A. (2018). Application of a multidisciplinary and integrative weight-of-evidence approach to a 1-year monitoring survey of the Seine River. *Environmental Science and Pollution Research* 25:23404-23429. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6993-6>
- Binelli, A., C. Della Torre, S. Magni, and M. Parolini, M. (2015). Does zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review. *Environmental Pollution* 196, 386–403. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.10.023>
- Bolognesi, C., Cirillo, S., & Chipman, J.K. (2019). Minireview – Comet assay in ecogenotoxicology: Applications in *Mytilus sp.* *Mutat. Res. Gen. Tox. Env.*, 842, 50-59. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2019.05.004>
- Bonnard, M., Barjhoux, I., Dedourge-Geffard, O., Goutte, A., Oziol, L., Palos-Ladeiro, M. et Geffard, A. (2020). Experience Gained from Ecotoxicological Studies in the Seine River and Its Drainage Basin Over the Last Decade: Applicative Examples and Research Perspectives. In: Flipo N., Labadie P., Lestel L. (eds) *The Seine River Basin. The Handbook of Environmental Chemistry*, vol 90. Springer, Cham. [http://dx.doi.org/10.1007/698\\_2019\\_384](http://dx.doi.org/10.1007/698_2019_384)
- Bosch, A., Lucena, F., Gironés, R., & Jofre, J. (2016). Survey of viral pollution in Besós River (Barcelona). *Journal of Water Pollution Control Federation*, 87-91.
- Buck R.C., Franklin J., Berger U., Conder J.M., Cousins I.T., de Voogt P., Jensen A.A., Kannan K., Mabury S.A. & van Leeuwen S.P.J. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management* 7, no 4 (2011) : 513-41. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>.

- Capizzi-Banas, S., Palos Ladeiro, M., Bastien, F., Bonnard, I., Boudaud, N., Gantzer, C., & Geffard, A. (2021). The Utility of *Dreissena polymorpha* for Assessing the Viral Contamination of Rivers by Measuring the Accumulation of F-Specific RNA Bacteriophages. *Water*, 13(7), 904. <https://doi.org/10.3390/w13070904>
- Catteau A., Le Guernic A., Palos Ladeiro M., Dedourge-Geffard O., Bonnard M., Bonnard I., Delahaut L., Bado-Nilles A., Porcher J-M., Lopes C., Geffard O., & Geffard A., (2023). Integrative biomarker response - Threshold (IBR-T): Refinement of IBRV2 to consider the reference and threshold values of biomarkers. *Journal of Environmental Management*, 341, pp.118049 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118049>
- Chatel, A., Faucet-Marquis, V., Gourlay-Francé, C., Pfohl-Leszkwicz, A., & Vincent-Hubert, F. (2015). Genotoxicity and activation of cellular defenses in transplanted zebra mussels *Dreissena polymorpha* along the Seine River. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 114, 241-249. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.03.023>
- Colin, Y., Berthe, T., Molbert, N., Guigon E., Vivant A.L., Alliot F., Collin S., Goutte A., and Petit F. (2021). Urbanization Constrains Skin Bacterial Phylogenetic Diversity in Wild Fish Populations and Correlates with the Proliferation of Aeromonads. *Microb Ecol* 82, 523–536). <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01650-2>
- Condoleo, R., Rinaldi, L., Sette, S., Mezher, Z. (2018). Risk Assessment of Human Toxoplasmosis Associated with the Consumption of Pork Meat in Italy. *Risk Analysis* 38, 1202–1222. <https://doi.org/10.1111/risa.12934>
- de Lapuente, J., Lourenço, J., Mendo, S.A., Borràs, M., Martins, M.G., Costa, P.M., & Pacheco, M. (2015). The Comet Assay and its applications in the field of ecotoxicology: a mature tool that continues to expand its perspectives. *Front. Genet.*, 6, 180. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00180>
- Destoumieux-Garzón, D, Mavingui P, Boetsch G, Boissier J, Darriet F, Duboz F, Fritsch C., Giraudoux P., Le Roux F., Morand S., Paillard C., Pontier D., Sueur C. and Voituron Y. (2018). The One Health Concept: 10 Years Old and a Long Road Ahead. *Frontiers in Veterinary Science* 5: 14. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00014>
- Diamond M.L., Fantke P., Hasselöv M., MacLeod M., Ryberg M.W., Jorgensen P.S., Villarubia-Gomez P., Wang Z. and Hauschild M.Z. PIREN-Seine – Rapport de fin de phase VIII – Vol. 09 – Dynamique des contaminants à l'échelle du bassin de la Seine. rapport\_piren\_ph8\_vol09\_axe\_seine\_vf\_1.pdf (piren-seine.fr). <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c04158>
- Dinh, Q.T., Moreau-Guigon, E., Labadie, P., Alliot, F., Teil, M.-J., Blanchard, M., and Chevreuil, M. (2017). Occurrence of antibiotics in rural catchments. *Chemosphere*, PMID: 27863369. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.106>
- Donaghy L, Lambert C, Choi K, Soudant P. (2009). Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): Current knowledge and future prospects. *Aquac.* 297: 10–24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.09.003>
- Doré, W. J., & Lees, D. N. (1995). Behavior of *Escherichia coli* and male-specific bacteriophage in environmentally contaminated bivalve molluscs before and after depuration. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8), 2830-2834. <https://doi.org/10.1128/aem.61.8.2830-2834.1995>
- Dubey, J.P. (1988). *Toxoplasmosis of animals and man*. CRC Press, Inc., Boca Raton USA. 232 p.
- European Food Safety Authority (EFSA), Aerts M., Battisti A., Hendriksen R., Kempf I., Teale C., Tenhagen B-A., Veldman K., Wasyl D., Guerra B., Liébana E., Thomas-López D. and Belœil P-A. (2019). Technical specifications on harmonized monitoring of antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from food-producing animals and food. *EFSA J.* 17. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5709>
- Evich M.G., Davis M.J.B., McCord J.P., Acrey B., Awkerman J.A., Knappe D.R.U., Lindstrom A.B., Speth T.F., Tebes-Stevens C., Strynar M.J., Wang Z., Weber E.J., Henderson W.M. and Washington J.W. (2022). Per- and polyfluoroalkyl substances in the environment ». *Science* (New York, N.Y.) 375, no 6580. <https://doi.org/10.1126/science.abg9065>
- FAO. (2021). *The FAO action plan on antimicrobial resistance 2021–2025*. Rome.

- Fauvel, B., Cauchie, H.-M., Gantzer, C., & Ogorzaly, L. (2016). Contribution of hydrological data to the understanding of the spatio-temporal dynamics of F-specific RNA bacteriophages in river water during rainfall-runoff events. *Water Research*, 94, 328-340. <https://doi.org/10.4060/cb5545en>. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.02.057>
- Fauvel, B., Gantzer, C., Cauchie, H.-M., & Ogorzaly, L. (2017). In situ dynamics of F-specific RNA bacteriophages in a small river: New way to assess viral propagation in water quality studies. *Food and environmental virology*, 9(1), 89-102.
- Fayer, R., Dubey, J.P., Lindsay, D.S. (2004). Zoonotic protozoa: from land to sea. *Trends in Parasitology* 20, 531-536. <https://doi.org/10.1007/s12560-016-9266-0>
- Flannery, J., Keaveney, S., & Dore, W. (2009). Use of FRNA bacteriophages to indicate the risk of norovirus contamination in Irish oysters. *Journal of food protection*, 72(11), 2358-2362. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-72.11.2358>
- Furuya, E. Y., and Lowy, F. D. (2006). Antimicrobial-resistant bacteria in the community setting. *Nature Reviews Microbiology* 4, 36-45. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1325>
- Giesy, J.P., & Kannan K. (2001). Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environmental Science & Technology* 35, no 7 (1 avril 2001): 1339-42. <https://doi.org/10.1021/es001834k>.
- Girón-Pérez, M.I. (2010). Relationships between innate immunity in bivalve molluscs and environmental pollution. *ISJ- Invertebrate Survival Journal* 7: 149-156.
- Gourlay-Francé, C., Vincent-Hubert, F., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Sanchez, W., Geffard, A., Lévi, Y., Oziol, L., Labadie, P., Mouchel, J.-M., Raguét, M., Théry, S. (2011). Le risque écotoxicologique dans le bassin de la Seine. 53 pp. [https://www.piren-seine.fr/sites/default/files/piren\\_documents/fascicules/Collection\\_AESN\\_PIREN-Seine\\_12\\_-\\_Le\\_risque\\_ecotoxicologique.pdf](https://www.piren-seine.fr/sites/default/files/piren_documents/fascicules/Collection_AESN_PIREN-Seine_12_-_Le_risque_ecotoxicologique.pdf)
- Goutte, A., & Molbert, N. (2022). Benefits of parasitism in polluted environments: a review and perspectives. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 847869. <https://doi.org/10.3389/fevo.2022.847869>
- Haenni M., Dagot C., Chesneau O., Bibbal D., Labanowski J., Vialette M., Bouchard D., Martin-Laurent F., Calsat L., Nazaret S., Petit F., Pourcher A.-M., Togola A., Bachelot M., Topp E., and Hocquet D. (2022). Environmental contamination in a high-income country (France) by antibiotics, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes: status and possible causes. *Environ. Int.* 159. doi:10.1016/j.envint.2021.107047. PMID: 34923370.
- Hartard, C., Banas, S., Loutreul, J., Rincé, A., Benoit, F., Boudaud, N., & Gantzer, C. (2016). Relevance of F-specific RNA bacteriophages in assessing human norovirus risk in shellfish and environmental waters. *Applied and environmental microbiology*, 82(18), 5709-5719. doi: 10.1128/AEM.01528-16.
- Hartard, C., Rivet, R., Banas, S., & Gantzer, C. (2015). Occurrence of and Sequence Variation among F- Specific RNA Bacteriophage Subgroups in Feces and Wastewater of Urban and Animal Origins. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(18), 6505-6515. <https://doi.org/10.1128/AEM.01905-15>
- Janda, J.M., and Abbott, S.L. (2021). The changing face of the family Enterobacteriaceae (order: "Enterobacterales"): new members, taxonomic issues, geographic expansion, and new diseases and disease syndromes. *Clin. Microbiol. Rev.* 34: e00174-e00120. doi:10.1128/CMR.00174-20. PMID: 33627443.
- Kannan K., Corsolini S., Falandysz J., Fillmann G., Senthil Kumar K., Loganathan B.G., Ali Mohd M., Olivero J., Van Wouwe N., Ho Yang J. and Aldous K.M. (2004). Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Human Blood from Several Countries. *Environ. Sci. Technol.* 38, 17, 4489-4495. <https://doi.org/10.1021/es0493446>
- Kraemer, S. A., Barbosa Da Costa, N., Oliva, A., Huot, Y., and Walsh, D. A. (2022). A resistome survey across hundreds of freshwater bacterial communities reveals the impacts of veterinary and human antibiotics use. *Front. Microbiol.* 13, 995418. doi: 10.3389/fmicb.2022.995418

- Kunz, P. Y., Kienle, C., and Gerhardt, A. (2010). Gammarus spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests. *Reviews of Environment Contamination and Toxicology* 205:1-76. [https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-5623-1_1)
- Labadie P., Alligant S., Berthe T., Budzinski H., Bigot-Clivot A., Collard F., Dris R., Gasperi J., Guigon E., Petit F., Rocher V., Tassin B., Tramoy R. and Treilles R. (2021). Contaminants of Emerging Concern in the Seine River Basin: Overview of Recent Research. 26. [http://dx.doi.org/10.1007/698\\_2019\\_381](http://dx.doi.org/10.1007/698_2019_381)
- Lamy I, Faburé J, Mougin C, Morin S, Coutellec M-A, Denaix L, Martin-Laurent F (2022) L'écotoxicologie en questions, 72 p., Éditions Quæ. <http://doi.org/10.35690/978-2-7592-3455-4>
- Lance, E., Neffling, M.R., Gérard, C., Meriluoto, J., Bormans, M. (2010). Accumulation of free and covalently bound microcystins in tissues of *Lymnaea stagnalis* (Gastropoda) following toxic cyanobacteria or dissolved microcystin-LR exposure. *Environmental Pollution* 158, 674-680. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.10.025>
- Larsson, D. G. J., and Flach, C.-F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nat Rev Microbiol* 20, 257–269. doi: 10.1038/s41579-021-00649-x
- Lebrun, J. D., Uher, E., Urien, N., and Tales, E. (2020). Ecological factors governing distribution of gammarid species and their metal bioaccumulation abilities at the Seine basin scale. *Ecological Indicators* 118:106726. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106726>
- Lepoutre, A., Milliote, N., Bonnard, M., Palos-Ladeiro, M., Rioult, D., Bonnard, I., Bastien, F., Faassen, E., Geffard, A., Lance E. (2018). Genotoxic and cytotoxic effects on the immune cells of the freshwater bivalve *Dreissena polymorpha* exposed to the environmental neurotoxin BMAA. *Toxins* 10(3), 106; doi:10.3390/toxins10030106.
- Leprêtre M., Geffard A., Palos Ladeiro M., Dedourge-Geffard O., David E., Delahaut L., Bonnard I., Barjhoux I., Nicolai M., Noury P., Espeyte A., Chaumot A., Degli-Esposti D., Geffard O. & Lopes C. (2022). Determination of biomarkers threshold values and illustration of their use for the diagnostic in large-scale freshwater biomonitoring surveys. *Environ Sci Eur* 34, 115. <https://doi.org/10.1186/s12302-022-00692-2>
- Manning, S. R., Nobles, D.R. (2017). Impact of Global Warming on Water Toxicity: Cyanotoxins. *Current Opinion in Food Science* 18, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.09.013>
- Marchand, E., Petit, F., Alliot, F., Blanchoud, H., Costantini, D., Guigon E., Martin N., Traore S. and Goutte A. (2024). Contrasted Antibiotics and Pesticides Occurrence in Fish Exposed In Situ to Urban Effluents: A 20-day Caging Experiment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 43(4), 701-711.
- Martins, M., & Costa, P.M. (2017). The comet assay in (eco)genotoxicology using non-conventional model organisms: Relevance, constraints and prospects. In *Ecotoxicology and Genotoxicology: nontraditional aquatic models*, Edition: 1st Edition, Chapter: 1, Publisher: Royal Society of Chemistry, Editors: M.L. Larramendy, 3-32. <https://doi.org/10.1039/9781782629887-00001>
- Michel, C., Bourgeault, A., Gourlay-Francé, C., Palais, F., Geffard, A., & Vincent-Hubert, F. (2013). Seasonal and PAH impact on DNA strand break levels in gills of transplanted zebra mussels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 92, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.01.018>
- Molbert, N., Alliot, F., Leroux-Coyau, M., Médoc, V., Biard, C., Meylan S., Jacquin L., Santos R. & Goutte A. (2020). Potential benefits of acanthocephalan parasites for chub hosts in polluted environments. *Environmental science & technology*, 54(9), 5540-5549. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c00177>
- Munoz, G., L.C. Fechner, E. Geneste, P. Pardon, H. Budzinski, et P. Labadie. (2018). Spatio-temporal dynamics of per and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine. *Environmental Science and Pollution Research* 25, n° 24 (2018): 23574-82. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-8051-9>.

- Murray, C.J., Ikuta, K.S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*, 399: 629–655. doi:10. 1016/S0140-6736(21)02724-0. PMID: 35065702.
- O Neil, J. (2014). Tackling a crisis for the health and wealth nations. Review on Microbial resistance. [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations\\_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf)
- Ohe T., Watanabe T., Wakabayashi K. (2004). Mutagens in surface waters: a review. *Mutat Res* 567:109–149. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2004.08.003>
- Ottoson, J., Hansen, A., Westrell, T., Johansen, K., Norder, H., Stenström, T.A. (2006). Removal of noro- and enteroviruses, *Giardia* cysts, *Cryptosporidium* oocysts, and fecal indicators at four secondary wastewater treatment plants in Sweden. *Water Environment Research* 78, 828–834. <https://doi.org/10.2175/106143006X101719>
- Palos-Ladeiro, M., et al. (2017). Mussel as a Tool to Define Continental Watershed Quality, Organismal and Molecular Malacology, Sajal Ray, *IntechOpen*, DOI: 10.5772/67995.
- Pesce, S., Mamy, L., Sanchez, W., ..., and Leenhardt, S. (2023). Main conclusions and perspectives from the collective scientific assessment of the effects of plant protection products on biodiversity and ecosystem services along the land-sea continuum in France and French overseas territories. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Persson, L., Carney Almroth, B. M., Collins, C. D., Cornell, S., De Wit, C. A., Diamond, M. L., ... & Hauschild, M. Z. (2022). Outside the safe operating space of the planetary boundary for novel entities. *Environmental science & technology*, 56(3), 1510-1521. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26952-z>
- Renner, R. (2001). Growing Concern Over Perfluorinated Chemicals. *Environ. Sci. Technol.* 35, 7, 154A160A : 154A-160A. <https://doi.org/10.1021/es012317k>.
- 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. and von Bergen M. (2022). The Eco-Exposome Concept: Supporting an Integrated Assessment of Mixtures of Environmental Chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 41, n° 1: 30-45. <https://doi.org/10.1002/etc.5242>.
- Servais, P., and Passerat, J. (2009). Antimicrobial resistance of fecal bacteria in waters of the Seine River Watershed (France). *Sci. Total Environ.* 408 : 365–372. doi:10.1016/j.scitotenv.2009.09.042. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.09.042>
- Singer, A. C., Shaw, H., Rhodes, V., and Hart, A. (2016). Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators. *Frontiers in Microbiology* 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.01728
- Strilić, B., Kucera, T. & Lammert, E. (2010). Formation of cardiovascular tubes in invertebrates and vertebrates. *Cell. Mol. Life Sci.* 67, 3209–3218. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0400-0>
- Svircev, Z., Drobac, D., Tokodi, N., Mijovic B., Cood G.A. and Meriluoto J. (2017). Toxicology of microcystins with reference to cases of human intoxications and epidemiological investigations of exposures to cyanobacteria and cyanotoxins. *Arch Toxicol* 91, 621–650 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00204-016-1921-6>
- Thibodeau, A. J., Barret, M., Mouchet, F., Nguyen, V. X., and Pinelli, E. (2024). The potential contribution of aquatic wildlife to antibiotic resistance dissemination in freshwater ecosystems: A review. *Environmental Pollution* 350, 123894. doi: 10.1016/j.envpol.2024.123894
- UNEP. (2009). Recommendations of the Persistent Organic Pollutants Review Committee of Stockholm Convention to Amend Annexes A, B or C of the Convention. <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/TheNewPOPs/tabid/2511/Default.aspx>

- Vivant, A.-L., Marchand, E., Janvier, B., Berthe, T., Guigon, E., Grall, N., Alliot F., Goutte A., and Petit F. (2024). Wild fish from a highly urbanized river (Orge, France) as vectors of culturable Enterobacterales resistant to antibiotics. *Can. J. Microbiol.* 70, 63–69. doi: 10.1139/cjm-2023-0121
- Vlisidou, I. & Wood, W. (2015). Drosophila blood cells and their role in immune responses. *FEBS J.* 282, 1368–1382. <https://doi.org/10.1111/febs.13235>
- Wang, Z., Walker, G. W., Muir, D. C., & Nagatani-Yoshida, K. (2020). Toward a global understanding of chemical pollution: a first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories. *Environmental science & technology*, 54(5), 2575-2584. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06379>
- Wild, C P. (2012). The Exposome: From Concept to Utility. *International Journal of Epidemiology* 41, n° 1: 24-32. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr236>.
- Wild, C. P. (2005). Complementing the Genome with an Exposome: The Outstanding Challenge of Environmental Exposure Measurement in Molecular Epidemiology. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 14, n° 8 : 1847-50. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0456>.
- Wood R. (2016). Acute animal and human poisonings from cyanotoxin exposure - A review of the literature. *Environ Int.* (2016). May;91:276-82. doi: 10.1016/j.envint.2016.02.026. Epub 2016 Mar 17. PMID: 26995270.

# Glossaire



- › **Adduit** : espèce chimique produite d'une réaction d'addition entre deux unités moléculaires distinctes.
- › **Bioaccumulation** : processus par lequel les contaminants sont accumulés dans les organismes vivants. Il y a bioaccumulation si le taux d'exposition est supérieur au taux d'élimination des substances à l'échelle de l'individu .
- › **Bioamplification** : processus par lequel les teneurs en contaminants augmentent, à chaque maillon du réseau trophique.
- › **Biodilution** : processus par lequel les teneurs en contaminants diminuent, à chaque maillon du réseau trophique.
- › **Biomarqueur** : traits biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux, mesurés dans tout ou partie d'un organisme, pour mettre en évidence l'exposition ou les effets, d'un ou un mélange de contaminants.
- › **Biosurveillance** : utilisation d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes, à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) pour évaluer une altération de l'environnement.
- › **Biote** : ensemble des organismes vivants (faune, flore, microorganismes) présents dans un biotope à un temps donné.
- › **Espèce bio-indicatrice** : espèce utilisée pour évaluer l'altération de la qualité du milieu, en mesurant l'exposition et les niveaux de contamination au sein des organismes et/ou les effets via des biomarqueurs écotoxicologiques.
- › **Espèce sentinelle** : espèce qui réagit rapidement à une dégradation du milieu, et qui, par sa présence ou absence, ou son abondance, permet d'évaluer le degré de contamination environnementale.
- › **GRA** : gènes conférant la résistance aux antibiotiques.
- › **Intégron** : support génétique impliqué dans la dissémination de la multirésistance aux antibiotiques.
- › **Lipophilie** : affinité chimique d'une molécule pour les graisses et composés lipidiques.
- › **Mésocosme** : dispositif expérimental clos, de taille moyenne, destiné à étudier les effets des polluants sur le milieu. Les mésocosmes présentent un intérêt expérimental évident, car ils se situent à une échelle beaucoup plus réaliste et représentative des conditions écologiques réelles que les microcosmes utilisés dans les expérimentations de laboratoire sur les polluants.
- › **Métabolisation** : processus de transformation de substances chimiques dans l'organisme vivant.
- › **Microbiote** : ensemble des microorganismes vivants dans un environnement spécifique d'un organisme hôte.
- › **Microcystine** : désigne une famille de toxines produites par différents genres de cyanobactéries.
- › **Niveau trophique** : positionnement d'un organisme au sein du réseau trophique.
- › **Obésogène** : se dit d'une substance, d'un comportement, d'un environnement qui favorise l'apparition et/ou le développement de l'obésité.
- › **Organotropisme** : distribution préférentielle de polluants entre les tissus et organes.
- › **Réseau trophique** : ensemble des chaînes alimentaires.

# Sigles



- › **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- › **ANSES** : Agence Nationale de Sécurité Sanitaire Alimentaire
- › **ARN** : Acide ribonucléique
- › **BHF** : Facteur de bioaccumulation
- › **BRA** : Bactéries résistantes aux antibiotiques
- › **BSAFMES** : Facteur d'accumulation biote-sédiment
- › **DCE** : Directive-cadre sur l'eau
- › **EDCH** : Eaux destinées à la consommation humaine
- › **EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- › **FAO** : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture
- › **FRNAPH** : Bacteriophages ARN F
- › **GIEC** : Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat
- › **GRA** : Gènes confirmant la résistance aux antibiotiques
- › **HAP** : Hydrocarbure aromatique polycyclique
- › **IPBES** : Plateforme intergouvernementale scientifique et politique sur la biodiversité et les services écosystémiques
- › **IPCP** : Panel international sur la pollution chimique
- › **MES** : Microparticules en suspension
- › **NQE** : Norme de qualité environnementale
- › **OCDE** : Organisation de coopération et de développement économiques
- › **OIE** : Office International des Épizooties
- › **OMS** : Organisation mondiale de la Santé
- › **PCB** : Polychlorobiphényles
- › **PEC** : de l'anglais « predicted environmental concentration »
- › **PFAA** : Acides fluoroalkylés
- › **PFAS** : Per- et polyfluoroalkylés
- › **PFOS** : Sulfonate de perfluorooctane
- › **PNEC** : de l'anglais « predicted no effect concentration »
- › **POP** : Polluant organique persistant
- › **PVC** : Chlorure de polyvinyle
- › **STEU**s : Station de Traitements des Eaux Usées
- › **TMF** : de l'anglais « Trophic Magnification Factor »
- › **TOP** : de l'anglais « Total Oxidisable Precursor assay »







### Pour citer cet ouvrage :

Aurélie Goutte et Marc Bonnard (2024), *Le rôle du biote comme témoin de la qualité de l'eau de la Seine*,  
Fascicule #24 du PIREN-Seine, ISBN : 978-2-490463-38-1, ARCEAU-IdF, 64 p.

Cet ouvrage est édité par la cellule transfert des connaissances du PIREN-Seine, et son contenu est issu des recherches menées au sein du programme. Sauf mention contraire, les productions du PIREN-Seine sont régies par licence Creative Commons CC-BY-NC-SA v4.0 ou ultérieure (pas d'utilisation commerciale, partage des conditions initiales à l'identique).



### Editeur :

ARCEAU-IdF 2024  
[www.arceau-idf.fr](http://www.arceau-idf.fr)

### Création graphique et impression :

 [www.idbleue.com](http://www.idbleue.com)



PEFC/10-31-1510



IMPRIM'VERT®

### Crédits photos :

Page de couverture : CC Holger Krisp / p. 3, 21 : Hélène Blanchoud / pp. 6, 20 : François Mercier /  
p. 7, 51 : Audrey Catteau / pp. 22/23 : Rostislav / pp. 8-9, 18, 39, 40-41, 49 : Aurélie Goutte



Le **PIREN-Seine** est un programme de recherche interdisciplinaire en environnement dont l'objectif est de développer une vision d'ensemble du fonctionnement du bassin versant de la Seine et de la société humaine qui l'investit, pour permettre une meilleure gestion qualitative et quantitative de la ressource en eau. Il est l'un des programmes composant la Zone Atelier Seine du CNRS.

La *cellule transfert des connaissances* a pour but de valoriser les productions de savoirs scientifiques issues des recherches du **PIREN-Seine**, et de favoriser la mise à disposition de ces informations à un large public, des professionnels de la gestion de l'eau aux élus en passant par les usagers. Soutenue par l'Agence de l'eau Seine-Normandie et l'EPTB Seine Grands Lacs, et animée depuis octobre 2016 par l'association ARCEAU-IdF, cette cellule répond à une forte volonté de la part des chercheurs de participer au transfert des savoirs scientifiques et techniques vers la société civile. Elle est ainsi chargée de la rédaction et de l'édition de documents thématiques, de la mise en ligne de contenus scientifiques adaptés à la fois aux professionnels et au grand public, et de la mise en place d'ateliers de co-réflexion du programme.

La collection des fascicules du **PIREN-Seine** analyse différents aspects du fonctionnement du bassin de la Seine, correspondant aux multiples domaines de recherche du programme. Ils s'adressent à tous les publics concernés par l'analyse et la gestion du bassin versant de la Seine et des problématiques environnementales et humaines qui y sont liées. Tous ces fascicules sont disponibles en téléchargement gratuit au format PDF sur le site du programme. Une première série de neuf fascicules a été publiée en 2009. En 2011, six nouveaux titres sont venus enrichir la collection. En 2017, la production des fascicules reprend avec une nouvelle collection, pour permettre aux acteurs du domaine de l'eau et de l'environnement de rester informés des dernières recherches scientifiques menées par le **PIREN-Seine**.

Pour plus d'informations,  
retrouvez-nous sur :  
[www.piren-seine.fr](http://www.piren-seine.fr)

ISBN 978-2-490463-38-1



9 782490 463381



#### Les partenaires opérationnels de la phase 8 du PIREN-Seine



#### Les partenaires scientifiques de la phase 8 du PIREN-Seine

