

Elaboration d'une stratégie de biosurveillance des milieux aquatiques continentaux du bassin Seine-Normandie



© Ekaterina Pokrovsky et Anne-Sophie Allonier-Fernandes

Aurélie Puech

Mars 2024 - Août 2024

Maître de stage : Anne-Sophie Allonier-Fernandes

Tutrice universitaire : Fanny Colas (LEHNA)

Remerciements

Je remercie tout d'abord Anne-Sophie Allonier-Fernandes et Luc Pereira-Ramos de m'avoir fait confiance sur ce projet de fin d'études et de m'avoir guidée tout au long du stage. Je tiens aussi à les remercier pour l'opportunité de CDD pour la fin d'année 2024 qui me permettra de mettre à profit mes connaissances accumulées en biosurveillance écotoxique durant mon stage.

Merci à Laurine Marchand, stagiaire en biosurveillance au Service Littoral et Mer à la direction territoriale de Caen pour le partage des idées et l'entraide perpétuelle.

Je tiens aussi à remercier tous les acteurs de la biosurveillance écotoxique que nous avons pu rencontrer avec Laurine qui ont nourri nos réflexions sur l'utilisation des bioessais et biomarqueurs pour la surveillance des eaux de surface du bassin Seine-Normandie. A la fois les chercheurs, les agences de l'eau, les experts, les industriels et les prestataires nous ont permis d'élaborer finement nos stratégies à l'aide de précieux conseils.

Enfin, je remercie tous les membres du SCMA (Service Connaissance des Milieux Aquatiques) et du SPEP (Service Planification, Evaluation et Prospective) de la DCP (Direction de la Connaissance et de la Planification) à Courbevoie qui ont rendu l'environnement du stage très agréable.

Table des matières

Remerciements	2
Table des illustrations	4
I) Introduction	5
1) La surveillance du bassin Seine-Normandie dans le cadre de la DCE	5
2) Les limites de la surveillance DCE.....	7
II) Caractéristiques des outils d'écotoxicologie et les apports de leur utilisation pour de la biosurveillance	9
1) Les méthodes biologiques	9
a) Les différents bioessais	13
b) Les différents biomarqueurs	13
c) Les niveaux organisationnels ciblés.....	14
2) Les apports de la biosurveillance écotoxique	14
III) Méthode d'élaboration de la stratégie de biosurveillance	16
1) Les objectifs de la stratégie	16
2) Méthode de sélection de l'approche d'échantillonnage et des tests biologiques	17
3) Méthode de sélection du réseau d'échantillonnage et de la fréquence d'échantillonnage	19
IV) Définition de la stratégie de biosurveillance	20
1) Sélection des méthodes d'échantillonnage.....	20
2) Sélection des méthodes biologiques	22
a) Toxicité générale	22
b) Génotoxicité et mutagénicité	24
c) Perturbateurs endocriniens	24
d) Sélection finale	27
3) Sélection des stations et de la fréquence d'échantillonnage	27
V) Discussion.....	30
Conclusion.....	32
Références	33
Annexes.....	35
Résumés français, anglais et mots clés.....	55

Table des illustrations

Figure 1: Composantes de l'état chimique et écologique des masses d'eau de surface.....	6
Figure 2: Le bassin hydrographique Seine-Normandie	8
Figure 3 : Stratégies et principes d'échantillonnages pour réaliser des tests écotoxiques d'après Schuijt, 2021	11
Figure 4: Comparaison des approches laboratoire et terrain (adapté de V. Lecomte Ecotoxicologie.fr, 2022)	11
Figure 5: Catégorisation et principes des tests écotoxiques pour évaluer les réponses des écosystèmes aquatiques au stress chimique d'après (Schuijt, 2021)	15
Figure 6: Logigramme de sélection des bioessais et biomarqueurs en fonction de différents critères	18
Figure 7: Cartographie des stations sélectionnées pour le réseau de biosurveillance écotoxique sur les eaux continentales superficielles du bassin Seine-Normandie à l'échelle 1:1900000.....	29
Figure 8 : Calendrier prévisionnel des fréquences d'échantillonnage du réseau de biosurveillance sur les années 2025-2026.....	29
Tableau 1: Description des principaux réseaux de surveillance du bassin Seine-Normandie	8
Tableau 2: Comparaison des différentes méthodes d'échantillonnage.....	12
Tableau 3: Comparaison et sélection des méthodes d'échantillonnage	21
Tableau 4 : Bioessais de toxicité générale pour une évaluation de la qualité des eaux continentales superficielles.....	23
Tableau 5 : Bioessais de génotoxicité les plus robustes et application des différents critères de sélection.....	25
Tableau 6 : Les tests in vitro cibles de différents récepteurs nucléaires et les différents modèles disponibles (fourni par P. Balaguer, INSERM)	25
Tableau 7: Bioessais spécifiques de l'activité oestrogénique les plus robustes et application des critères de sélection.....	26
Tableau 8: Sélection finale des bioessais pour la stratégie de biosurveillance.....	28

I) Introduction

1) La surveillance du bassin Seine-Normandie dans le cadre de la DCE

Depuis la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) de 2000 et sa transposition à l'état français par la loi sur l'eau de 2004, les Etats membres ont l'obligation de surveiller l'état des masses d'eau et viser un objectif de « bon état » écologique et chimique des masses d'eau et la charge en revient aux agences de l'eau. La directive comprend une surveillance chimique et une surveillance écologique (Figure 1: Composantes de l'état chimique et écologique des masses d'eau de surface).

Dans le volet chimie, 53 substances ou familles de substances sont surveillées dans les eaux de surface. Les concentrations de ces substances sont mesurées puis comparées aux NQE (Norme de Qualité Environnementale) fixées à l'échelle communautaire. Ainsi, si la concentration est inférieure à la NQE, l'état chimique de la masse d'eau est qualifié de « bon » (couleur bleue), et sinon l'état est « mauvais » (couleur rouge). Pour le volet écologie, plusieurs paramètres sont évalués comme l'hydromorphologie, la physico-chimie et des éléments de qualité biologique. L'hydromorphologie est évaluée de façon binaire (très bon état ou moins que très bon état représenté par la couleur bleue ou verte). Pour la physico-chimie (température, pH, conductivité, taux d'oxygène dissous), cinq classes d'état sont prévues (très bon, bon, moyen, médiocre et mauvais). Pour la biologie, les indices qui permettent une évaluation de l'état des populations (IBMR : Indice Biologique Macrophytes en Rivière, I2M2 : Indice Invertébrés Multimétrique, IPR : Indice Poisson Rivière, IBD : Indice Biologique Diatomées) sont calculés et cinq classes d'état sont aussi définies de bon à mauvais état. Depuis 2015, l'état écologique comprend aussi l'évaluation de substances spécifiques (évaluées selon trois classes) et leur nombre varie selon le bassin (20 sur le bassin Seine-Normandie). Pour ces polluants spécifiques de l'état écologique (PSEE), les valeurs de NQE sont fixées au niveau national par l'INERIS et il n'existe donc pas de valeurs harmonisées entre les Etats membres.

Depuis la directive 2013/39/UE « Substances prioritaires », les Etats membres doivent compléter la surveillance chimique et écologique des eaux par une évaluation de la bioaccumulation de micropolluants dans le biote. Ainsi l'arrêté de surveillance du 7 août 2015 préconise d'organiser les contrôles sur biote en visant deux objectifs :

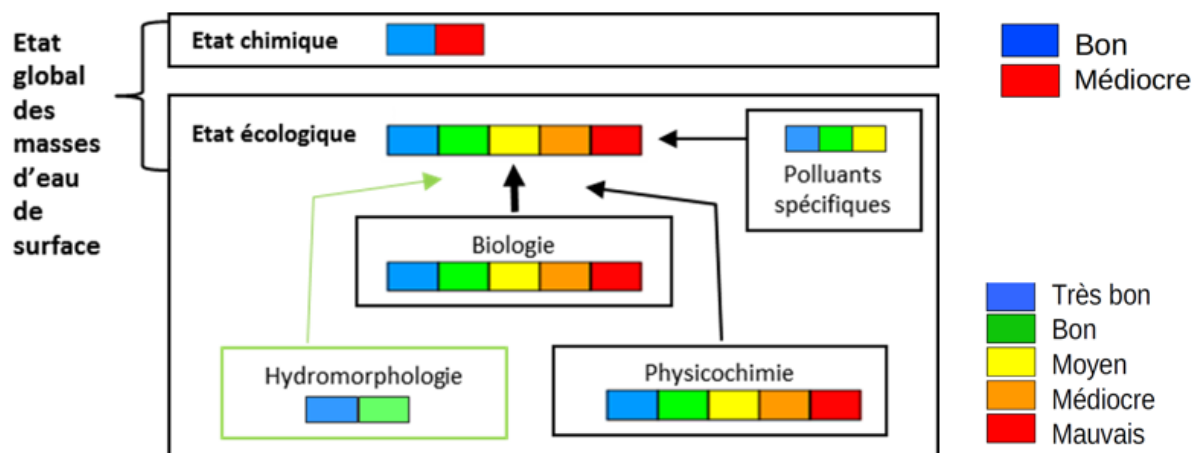


FIGURE 1: COMPOSANTES DE L'ETAT CHIMIQUE ET ECOLOGIQUE DES MASSES D'EAU DE SURFACE

l'évaluation de l'état chimique des milieux aquatiques (11 substances ou familles de substances) et l'évaluation des concentrations de substances potentiellement bioaccumulables (20 substances ou groupes de substances). Les mesures de bioaccumulation sur les gammarès se font sur 50 stations du bassin et sur 21 stations pour les poissons depuis 2020.

Le bassin Seine-Normandie est composé de la Seine, de ses trois affluents (l'Yonne, la Marne et l'Oise) et de petits fleuves normands. Avec 55 000 km de rivières, il s'étend sur 94 500 km² et occupe ainsi 18% du territoire français (voir Figure 1). Sur les 1651 masses d'eau cours d'eau du bassin et les 46 masses d'eau plans d'eau, l'Agence de l'eau Seine-Normandie (AESN) réalise des mesures de la qualité des eaux superficielles sur 881 stations à travers différents programmes de surveillance sur eau, sédiments ou biote à différentes fréquences. La surveillance de l'état des masses d'eau superficielles s'organise autour de différents réseaux décrits dans le Tableau 1. Les données obtenues à partir de ces analyses sont ensuite bancarisées sur le site Naiades (<https://naiades.eaufrance.fr/>) pour les eaux de surface, et accessibles publiquement. Ces données permettent notamment d'effectuer l'état des lieux (EDL) qui a lieu tous les 6 ans, en décalage de trois ans par rapport à l'établissement du SDAGE (Schéma Directeur d'Aménagement et de Gestion des Eaux). D'après l'EDL de 2019, 32% des cours d'eau sont en bon état écologique. Les déclassements sont principalement dus à l'I2M2 (29% des cas), au diflufenicanil (16 % des cas) et au métazachlore (14 % des cas), tous deux des herbicides. Pour l'état chimique, 32 % des cours d'eau sont en bon état avec ubiquistes¹ et 90 % sans ubiquistes. Des pressions hydromorphologiques sont aussi fortes sur les milieux aquatiques du bassin notamment dues à une artificialisation des berges, aux obstacles à l'écoulement et à l'imperméabilisation des sols.

2) Les limites de la surveillance DCE

Les exigences de la DCE en termes de surveillance ne permettent pas d'évaluer précisément l'impact des pressions sur les organismes aquatiques. En effet, la directive impose des obligations de mesure sur une fraction de contaminants, très faible par rapport à la quantité réelle de contaminants que l'on peut retrouver dans les milieux aquatiques. Sur les 100 000 substances sur le marché européen, seulement 500 ont un risque identifié, et pour près de 70 000 substances, les connaissances sur

¹ Polluants présents dans tous les compartiments environnementaux (l'air, l'eau et le sol) : HAP, PCB, métaux etc...



FIGURE 2: LE BASSIN HYDROGRAPHIQUE SEINE-NORMANDIE

TABLEAU 1: DESCRIPTION DES PRINCIPAUX RESEAUX DE SURVEILLANCE DU BASSIN SEINE-NORMANDIE

Nom du réseau	Objectif	Nombre de stations	Fréquence des relevés	Remarque
RCS (Réseau de Contrôle de Surveillance)	- Évaluer l'état général des masses d'eau - Observer l'évolution de l'état des masses d'eau sur le long terme	216	Suivis réguliers : une à plusieurs fois par an en fonction du groupe de paramètres	En place depuis 2007
RPR (Réseau de Référence Pérenne)	- Préciser les conditions de références naturelles pour le bon état écologique de la DCE - Prendre en compte l'évolution des conditions naturelles sur le long terme et d'alimenter la connaissance sur l'état général des eaux	40	Suivis réguliers : une à plusieurs fois par an en fonction du groupe de paramètres	En place depuis 2012
RCO (Réseau de Contrôle Opérationnel)	- Suivre l'évolution des stations en risque de non atteinte des objectifs environnementaux (RNAOE) - Évaluer les changements d'état des masses d'eau à la suite des actions de restauration mises en place	550	Suivis réguliers : une à plusieurs fois par an en fonction du groupe de paramètres	En place depuis 2007 Révisé à chaque cycle DCE (consultation des DT)
Réseau de Bouclage (RBOU)	Surveiller des points nodaux du bassin situés aux confluences importantes ou en aval d'unité hydrographique (UH) intéressante	27	Fréquence de suivi la plus forte (jusqu'à deux fois/mois pour certaines substances)	En place depuis 2008
Autres réseaux : le RNIT (Réseau Nitrates), le RCB (Réseau Complémentaire de Bassin), le RACQT (Réseau d'ACquisition Tournant) et le Réseau étude				

sur leurs risques sont très faibles (European Environment Agency, 2020). Ainsi, une grande partie des substances qui contribuent au risque chimique ne sont pas réglementées et donc pas évaluée dans le cadre de la DCE. De plus, la biodisponibilité² des contaminants n'est pas prise en compte. La toxicité « vue » par le vivant peut pourtant être très différente de la toxicité potentielle émise par l'Homme. Ensuite, par l'utilisation de NQE individuelle, les effets des mélanges sur les organismes ne sont pas pris en compte. Or, une molécule peut individuellement n'avoir aucun effet mais être toxique quand couplée à d'autres substances par effets synergiques ou additifs (Laurence Huc, 2021). Une autre limite des exigences de la DCE sont les bioindicateurs actuellement utilisés (IBMR, I2M2, IPR, IBD) qui ne permettent pas de mesurer la toxicité de façon précoce (constatation des dommages), mais seulement de mesurer des déséquilibres populationnels.

L'utilisation de la biosurveillance écotoxique pourrait permettre de lever certaines limites actuellement rencontrées dans la surveillance réglementaire. Le prochain chapitre s'attache à décrire les différents tests écotoxicologiques et les apports de la biosurveillance à travers l'utilisation de ces outils.

II) Caractéristiques des outils d'écotoxicologie et les apports de leur utilisation pour de la biosurveillance

1) Les méthodes biologiques

La biosurveillance écotoxique désigne l'usage de méthodes biologiques afin d'étudier les effets des substances chimiques sur les écosystèmes à différents niveaux d'organisation biologique, du niveau moléculaire et cellulaire jusqu'aux écosystèmes entiers (Connon, 2012). En écotoxicologie, on distingue l'approche par biomarqueurs, et l'approche par bioessais (Blaise, 2009). Une autre approche de modélisation existe aussi (mésocosmes) mais ne sera pas détaillée ici.

Le bioessai désigne un test réalisé en laboratoire où les cultures cellulaires ou les organismes sont mis en contact avec la matrice contaminée (sédiments, eau, échantillonneurs passifs – voir plus loin). Les biomarqueurs quant à eux désignent la réponse biologique observée sur les organismes après exposition au milieu

² La fraction biodisponible d'un contaminant désigne la fraction capable d'interagir avec l'organisme et pouvant causer des effets toxiques (Catherine Gourlay-Francé, 2010)

contaminé. Si les espèces sont prélevées directement dans le milieu contaminé, on parlera d'approche passive, et on parlera d'approche active lorsque des espèces sont engagées dans le milieu.

L'échantillonnage peut se faire directement en prélevant de l'eau ou des sédiments dans le milieu, ou via un échantillonneur passif. Les échantillonneurs passifs, ou EIP pour Echantillonnage Intégratif Passif, sont des membranes fixées dans le milieu pendant une durée déterminée. Les substances cibles vont alors se fixer à la membrane et s'accumuler. Au bout de la période d'exposition, les membranes sont récupérées, et les substances accumulées sont extraites de la surface de la membrane. L'échantillon peut ensuite être concentré par extraction en phase solide (chiffre 1 sur la Figure 3). A partir des échantillons d'eau ou issus d'EIP, les mesures peuvent s'effectuer à l'échelle sub-individuelle (bioessai in vitro - chiffre 2) ou au niveau de l'organisme entier (bioessai in vivo - chiffre 3). Une autre stratégie consiste à encager des organismes élevés en laboratoire dans le milieu pendant une durée déterminée, ou bien à prélever des organismes directement dans le milieu (chiffre 1). Si les mesures à l'échelle individuelle sont faites sur des organismes encagés, on parle de mesures de traits de vie (chiffre 3). Pour les organismes prélevés ou exposés, il est possible d'effectuer des biomarqueurs qui permettent une mesure des effets à l'échelle sub-individuelle (chiffre 4).

Ces approches ont chacune leurs apports et leurs limites, et sont ainsi complémentaires. La Figure 4: Comparaison des approches laboratoire et terrain permet d'illustrer la complémentarité des approches. Les approches de laboratoire sont souvent plus reproductibles et simples à mettre en œuvre, mais souffrent d'un manque de réalisme environnemental, au contraire des biomarqueurs qui sont plus représentatifs du milieu, mais aussi plus complexes à mettre en œuvre. Les figures Annexes 1 et 2 présentent plus en détail les intérêts et limites de chaque approche. Concernant les différentes méthodes d'échantillonnage, le tableau 2 permet de les comparer. Le prélèvement d'eau par échantillonnage direct est rapide, peu coûteux et simple à mettre en œuvre. Il est en revanche peu intégrateur de la contamination sur le long terme. Avec le prélèvement par échantillonnage passif, les contaminants sur plusieurs semaines peuvent être pris en compte et permet donc une approche plus intégrative de la contamination. Cette méthode a déjà démontré sa pertinence pour l'évaluation de la contamination chimique (Mathon, 2021) mais aussi pour la réalisation de bioessais et biomarqueurs (Selim Aït-Aïssa, 2012). Ces EIP

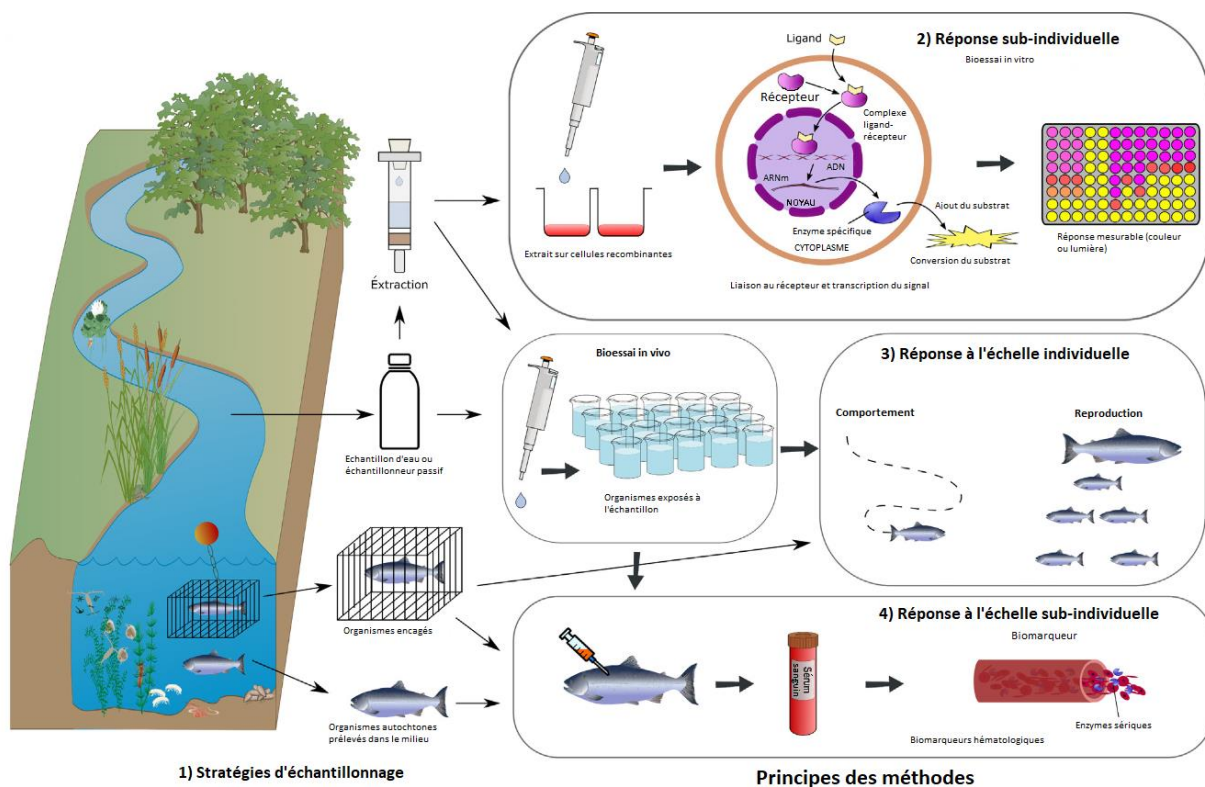


FIGURE 3 : STRATEGIES ET PRINCIPES D'ECHANTILLONNAGES POUR REALISER DES TESTS ECOTOXIQUES D'APRES SCHUIJT, 2021

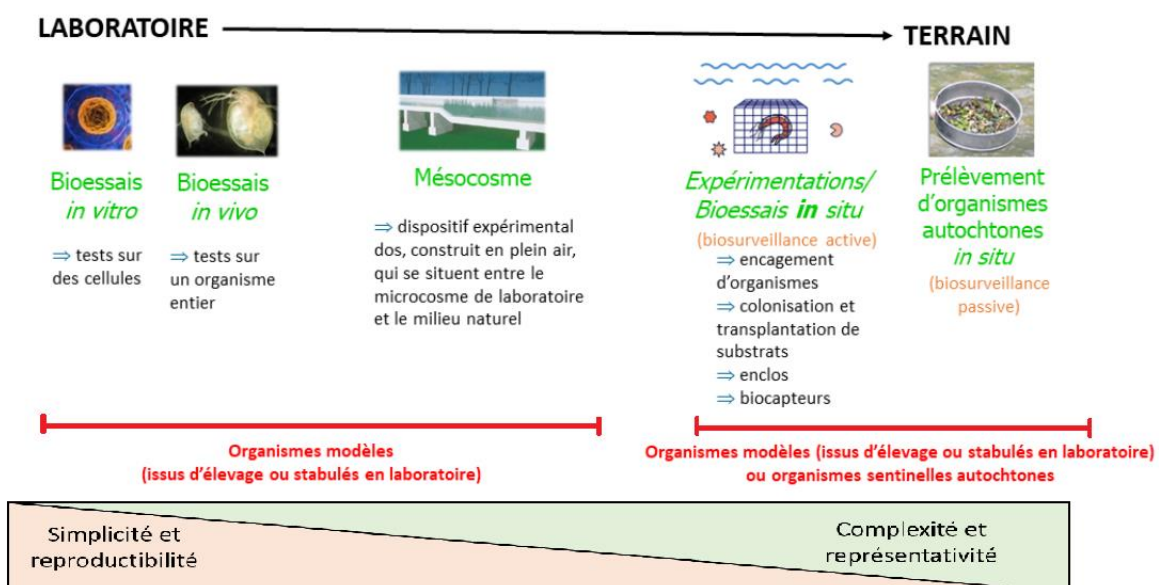


FIGURE 4 : COMPARAISON DES APPROCHES LABORATOIRE ET TERRAIN (ADAPTE DE V. LECOMTE ECOTOXICOLOGIE.FR, 2022)

TABLEAU 2: COMPARAISON DES DIFFERENTES METHODES D'ECHANTILLONNAGE

Type d'approche	Type de bioessais possible	Type d'échantillonnage	+	-
Approche laboratoire	Bioessais in vivo et in vitro	Eau – prélèvement direct	Rapide Nécessite qu'une visite de sites	Echantillonnage ponctuel
		Eau – échantillonneur passif (EIP)	Permet d'intégrer l'échantillonnage sur un temps long	Analyses qui suivent sont coûteuses Nécessite deux passages sur site
		Sédiment	Permet d'évaluer la présence de substances hydrophobes Permet de compléter les informations sur l'état de santé des espèces benthiques	Trop grande variabilité dans le temps Limites pratiques d'accès aux sédiments

nécessitent en revanche une mise en place plus complexe, deux passages sur le site, et les analyses qui suivent sont onéreuses. Enfin, le prélèvement de sédiment permet d'évaluer à la fois l'impact des substances dans l'eau, mais aussi l'impact des substances hydrophobes ce qui est particulièrement intéressant pour évaluer l'impact des substances chimiques sur les organismes benthiques. Cette technique est malheureusement limitée du fait de la présence de sédiments qui peut être très variable sur les stations du bassin.

a) Les différents bioessais

Dans le cadre de la réalisation de bioessais à partir d'eau, de sédiments, ou d'EIP, les organismes ou cellules sont exposés, en conditions contrôlées, à l'échantillon contaminé sous différentes concentrations. Après la durée d'exposition, les effets (ou *endpoints*) observés sont comparés aux organismes témoins, non soumis à l'échantillon toxique. On distingue généralement les *endpoints* de toxicité générale comme la reproduction, la croissance ou la mortalité, des *endpoints* de toxicité spécifique (activation métabolique, dommages à l'ADN etc) (Beate Escher, 2021). Pour les essais de toxicité générale, on distingue les essais de toxicité aiguë qui évaluent la toxicité d'une forte dose ou d'une substance fortement toxique sur un temps court des essais de toxicité chronique qui évaluent les effets dus à une exposition à une faible dose sur un temps long.

b) Les différents biomarqueurs

On peut distinguer au sein des biomarqueurs, les biomarqueurs d'exposition et les biomarqueurs d'effet. Un biomarqueur d'exposition désigne un test qui déclenche dans l'organisme l'activation d'une activité métabolique (activation d'une protéine par exemple). Ces biomarqueurs témoignent ainsi d'une simple exposition de l'organisme à la substance toxique. On les distingue des biomarqueurs d'effet qui permettent de mesurer des effets au niveau de l'organisme, du tissu ou de la cellule (mort, reproduction par exemple). Ces biomarqueurs permettent de mesurer les effets des substances toxiques qui surpassent les forces de mécanisme de défense de l'individu exposé (Jeanne Garric, 2010). Les biomarqueurs d'effet, comme le test de reproduction sur gammarès sont ainsi plus intégrateurs que les biomarqueurs d'exposition car ils évaluent la toxicité sur plusieurs niveaux de réponse là où les biomarqueurs d'exposition constituent une première réponse biologique des

organismes. Les biomarqueurs d'exposition sont en revanche plus sensibles, et sont donc souvent préconisés si un seul type de biomarqueur devait être mis en place.

c) Les niveaux organisationnels ciblés

Les tests écotoxiques peuvent être catégorisés en fonction du niveau organisationnel biologique où se fait la mesure : au niveau sub-individuel, au niveau de l'organisme entier ou à l'échelle de la population/communauté (voir Figure 5). Les bioessais in vitro et biomarqueurs permettent des mesures d'effet à l'échelle sub-individuelle, et ciblent des *endpoints* ou types de toxicité spécifique (génotoxicité par exemple). Les réponses à l'échelle de l'organisme entier ou de la population sont principalement mesurables après la réalisation de tests in vivo et permettent de viser des *endpoints* de toxicité générale tels que la croissance.

2) Les apports de la biosurveillance écotoxique

Les apports de l'écotoxicologie dans la surveillance des eaux sont nombreux : prise en compte de l'effet cocktail, évaluation de l'effet de substances non suivies, prise en compte de la fraction biodisponible des toxiques etc. Les bioessais sont aussi particulièrement un atout par rapport aux analyses chimiques pour les perturbateurs endocriniens (PE) et notamment les hormones stéroïdiennes. En effet, pour des substances comme le 17- β estradiol ou l'éthinyl estradiol, les NQE sont très basses (400 pg/L et 0,35 pg/L respectivement). Il est donc compliqué de mesurer analytiquement des concentrations en-dessous de ces valeurs et rend donc impossible la quantification de ces substances, contrairement aux bioessais qui peuvent présenter des sensibilités beaucoup plus fortes (Aït-Aïssa S. , 2018). Les substances PE sont aussi très variées, et donc difficiles à cibler avec les analyses chimiques.

De nombreux bioessais et biomarqueurs ont ainsi été utilisés pour différents projets de biosurveillance afin d'évaluer l'état des eaux de façon complémentaire aux analyses chimiques et écologiques. Une cartographie des projets de biosurveillance qui ont été menés sur le bassin et ailleurs est présentée en Annexes. Ces projets ont renforcé la volonté de mettre en place une stratégie de biosurveillance au sein de l'AESN et ont servi d'inspiration dans l'élaboration de la méthodologie de la stratégie, décrite dans le prochain chapitre.

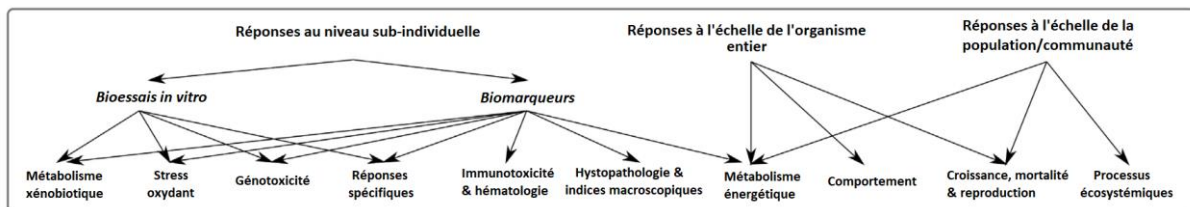


FIGURE 5: CATEGORISATION ET PRINCIPES DES TESTS ECOTOXIQUES POUR EVALUER LES REPNSES DES ECOSYSTEMES AQUATIQUES AU STRESS CHIMIQUE D'APRES (SCHUIJT, 2021)

III) Méthode d'élaboration de la stratégie de biosurveillance

1) Les objectifs de la stratégie

Pour l'évaluation du risque chimique sur les écosystèmes, il est préconisé de mettre en place une batterie de bioessais et non un unique bioessai car les espèces ont des sensibilités différentes à la matrice contaminée ((INERIS), 2022). Il est aussi conseillé de sélectionner des organismes représentatifs de différents niveaux trophiques, d'intégrer plusieurs critères d'effet de toxicité générale (mortalité, reproduction, croissance, etc.), de prendre en compte la sensibilité des organismes aux différents polluants, et enfin d'utiliser des bioessais normalisés (pour assurer la reproductibilité des données obtenues). En plus des effets de toxicité générale sur organismes entiers, la batterie de bioessais doit aussi couvrir un large éventail de modes d'action pertinents pour l'environnement, comme les essais d'activation de récepteurs nucléaires du système endocrinien et la mesure de dommages à l'ADN (génotoxicité) (Peta A Neale, 2017). Parmi les tests de toxicité générale, les crustacés, poissons, bactéries sont des organismes largement utilisés et préconisés. Les tests sur algues et plantes aquatiques sont en revanche beaucoup moins courants. Pourtant, les organismes végétaux jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des écosystèmes d'eau douce et leur utilisation dans les tests d'écotoxicité apporte un complément précieux aux tests sur animaux et bactéries (Ceschin, 2021). Les tests sur algues sont en effet souvent très sensibles aux métaux, et peuvent aussi permettre d'évaluer l'impact de certains herbicides ce qui est particulièrement intéressant pour l'AESN puisqu'un tiers des déclassements de l'état chimique des cours d'eau est dû à deux herbicides. Les tests sur algues seront donc aussi envisagés dans la stratégie. L'objectif de la stratégie décrite dans ce rapport est de mettre en place une batterie de bioessais et biomarqueurs, en suivant les différents volets :

- volet 1 : déterminer la **toxicité générale** sur différents organismes (crustacés, poissons, bactérie, algues) sur une batterie de bioessais in vivo/in vitro
- volet 2 : évaluer le **potentiel génotoxique** des eaux (toxicité spécifique)
- volet 3 : évaluer la **perturbation endocrinienne** (toxicité spécifique)

Ainsi, l'objectif est de développer une batterie répondant à ces différents objectifs, dans le but de compléter les données de la surveillance générale des cours d'eau et

notamment d'identifier les causes de non atteinte du bon état écologique lorsque l'état chimique est bon. Ce cas est en effet très fréquent sur le bassin et complique le passage à l'action pour l'amélioration de la qualité des cours d'eau.

2) Méthode de sélection de l'approche d'échantillonnage et des tests biologiques

La sélection des approches d'échantillonnage s'est effectuée sur les critères suivants : coût, rapidité, simplicité. Ces trois critères ont été choisis car permettent de sélectionner l'approche la plus adaptée pour de la surveillance en routine à grande échelle.

Pour la sélection des méthodes biologiques, la première étape a été de constituer un inventaire des bioessais et biomarqueurs le plus complet possible. Pour ce faire, les bioessais listés dans l'inventaire du GT Bioessai - groupe de travail national piloté par le ministère en charge de l'écologie - ont été considérés (N. Manier, 2023). Pour les biomarqueurs, ceux de la base de données BMK issue du projet Biomarqueurs et Biodiversité (Delphine Delaunay D. B., 2020) ainsi que les méthodes biologiques indiquées dans le guide technique mandaté par la Common Implementation Strategy (CIS) (Carere, 2021) ont été pris en compte.

Les bioessais et biomarqueurs recensés ont ensuite été discriminés en fonction des critères de la Figure 6: Logigramme de sélection des bioessais et biomarqueurs. Le critère n°1 de robustesse permet de sélectionner les bioessais et biomarqueurs qui ont prouvé leur opérationnalité à travers des projets de surveillance. Parmi les biotests répertoriés dans le rapport du GT Bioessai, seulement les tests les mieux notés pour le scénario 2 – surveillance générale des masses d'eau - ont été retenus (note supérieure à 0,8 pour la toxicité générale et la génotoxicité, et 0,75 pour la perturbation endocrinienne). Le critère n°2 de disponibilité a permis de trier les biotests sur la base de la réalisation d'un inventaire des méthodes disponibles pour une application en routine dans des laboratoires français ou européens (présenté en Annexes). Cet inventaire a été réalisé grâce à l'interrogation d'experts et à la consultation des sites des prestataires. Les experts consultés sont des chercheurs, des prestataires ou encore des utilisateurs des biotests. La liste complète des acteurs consultés est fournie en Annexes. La sélection des méthodes sur les critères n°3, n°4 et n°5 a été faite à partir des entretiens réalisés avec les experts en écotoxicologie.

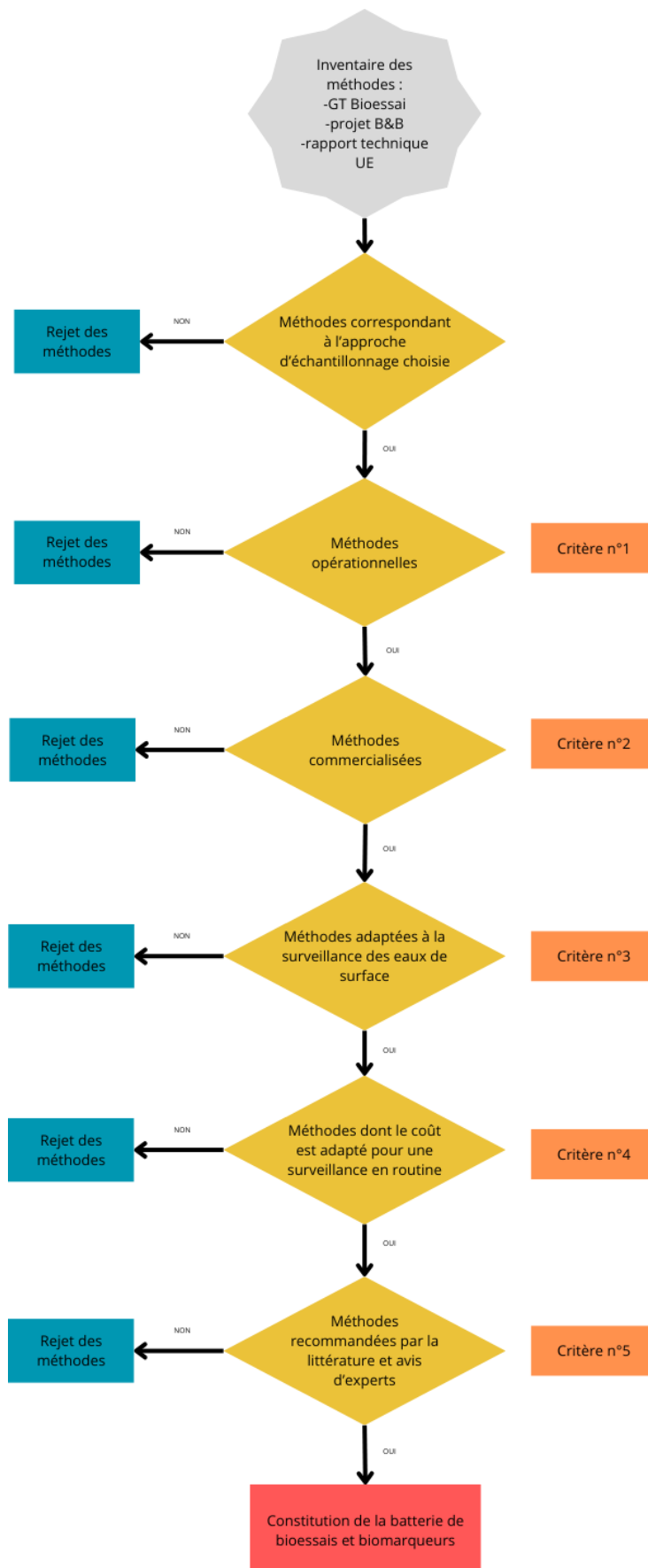


FIGURE 6: LOGIGRAMME DE SELECTION DES BIOESSAIS ET BIOMARQUEURS EN FONCTION DE DIFFERENTS CRITERES

Un exemple de questions types posées lors d'entretiens réalisés avec les prestataires est disponible en Annexes.

3) Méthode de sélection du réseau d'échantillonnage et de la fréquence d'échantillonnage

La sélection des stations pour la stratégie de biosurveillance s'est faite sur une première sélection de stations d'intérêt :

- les stations de suivi de **bioaccumulation** chez le gammare
- les stations de **bouclage** qui sont représentatives de la contamination du bassin sur lequel elles se trouvent
- une **station particulièrement polluée : la Seine à Poses**
- des stations de comparaison en amont et en aval de Paris pour évaluer **l'impact de l'agglomération parisienne**
- les stations du **projet DLES-Normandie**

Le projet DLES-Normandie (mené par l'université du Havre et financé par l'AESN) vise à évaluer la présence de composés à activité estrogénique dans l'estuaire de la Seine en testant la toxicité des échantillons d'eau de 16 stations sur des cellules de bar commun *Dicentrarchus labrax* (Slaby, 2024) à l'aide du test DLES (*D. labrax* estrogen screen). Il sera ainsi intéressant de comparer les résultats de ce projet avec ceux de la future stratégie de biosurveillance.

Ensuite, la première sélection de stations a été affinée de sorte que la sélection couvre des stations où les suivis physico-chimiques, chimiques et écologiques soient fréquents (RCS, RCO, RRP ou RBOU). Les stations doivent aussi être réparties sur le territoire de sorte à avoir une image représentative du bassin en couvrant des situations différentes en termes de pressions et tailles de bassins versants. Pour s'assurer de sélectionner des stations avec des pressions différentes, les données de l'état des lieux de 2019 qui ont permis de définir les enjeux majoritaires de chaque station du RCO ont été étudiées. Ces enjeux peuvent être liés à l'érosion, à l'hydromorphologie, aux micropolluants ou macropolluants. Pour la sélection des stations, les enjeux en micropolluants et macropolluants, ponctuels ou diffus ont été reliés aux pressions agricoles, urbaines et industrielles. Pour la sélection des stations, les données sur la quantification des perturbateurs endocriniens (PE) sur les stations et sur l'état des lieux (état chimique – EC et état écologique – EE) ont aussi été prises en compte.

Ainsi, il a été visé de sélectionner par direction territoriale au moins :

- Une **station de référence** avec pas ou très peu d'enjeu en micropolluants et macropolluants, peu de PE quantifiés, un EC bon et un EE bon ou moyen
- Une **station détériorée** avec un maximum d'enjeux identifiés, un maximum de PE quantifiés, un EC mauvais et un EE de moyen à mauvais
- Une **station d'intérêt** avec un EC bon mais un EE de moyen à mauvais pour investiguer les différences observées entre état chimique et état écologique
- Une station en **pression agricole**
- Une station en **pression urbaine**
- Une station en **pression industrielle**

Le choix des stations a aussi été fait pour inclure des stations situées sur des masses d'eau de tailles différentes, de très petites à très grandes.

Pour satisfaire ces conditions, des stations issues du RCS, RCO ou RRP ont été ajoutées à la sélection lorsque la première sélection de stations ne suffisait pas. La cartographie des stations sélectionnées a été effectuée sous QGIS. Le détail des couches utilisées est présenté en Annexes.

Le prochain chapitre présente l'approche choisie pour la stratégie de biosurveillance : les méthodes sélectionnées ainsi que le réseau d'échantillonnage établi sont présentés.

IV) Définition de la stratégie de biosurveillance

1) Sélection des méthodes d'échantillonnage

A partir des objectifs définis pour la stratégie et des recommandations récoltées auprès des experts de la biosurveillance écotoxique, il a pu être possible de choisir les méthodes d'échantillonnage. En reprenant le schéma de la Figure 3 : Stratégies et principes d'échantillonnages pour réaliser des tests écotoxiques d'après Schuijt, 2021, plusieurs possibilités d'échantillonnage sont donc possibles. Le tableau 4 permet de classer les approches d'échantillonnage selon les critères de coût, rapidité, simplicité et de préciser les objectifs de chacune des méthodes. Ainsi, la méthode par prélèvement d'eau pour la réalisation de bioessais in vivo et in vitro est la plus adéquate pour de la biosurveillance en routine à l'échelle du bassin. Les approches terrain, l'utilisation d'échantillonneur passif ou le prélèvement de sédiments ne sont donc pas choisis pour une première approche.

TABEAU 3: COMPARAISON ET SELECTION DES METHODES D'ECHANTILLONNAGE

	Méthode d'échantillonnage	Coût faible	Simplicité	Rapidité	Objectif	Sélection	Commentaires
Approche terrain	Encagement	Non	Non	Non	Préciser les liens entre pressions et effets	Non	Contraintes de terrain élevées, long à mettre en œuvre
	Prélèvement d'espèces	Non	Non	Oui	Évaluer l'état de santé des organismes autochtones	Non	Probabilité élevée d'absences d'espèces et contraintes sur le terrain trop fortes
Approche laboratoire	Eau – prélèvement direct	Oui	Oui	Oui	Préciser les liens entre pressions et effets	Oui	Rapide, peu coûteux, simple à mettre en œuvre
	Eau – échantillonneur passif	Non	Non	Non	Préciser les liens entre pressions et effets	Non	Coûts d'analyses trop importants, contraintes de terrain élevées, long à mettre en œuvre
	Sédiment	Oui	Non	Oui	Préciser les liens entre pressions et effets des substances hydrophobes	Non	Trop grande variabilité spatio-temporelle de la présence de sédiments

2) Sélection des méthodes biologiques

a) Toxicité générale

Les bioessais in vivo et in vitro pour l'évaluation de la toxicité générale qui ressortent de la sélection après l'application des différents critères de sélection présentés dans la partie Méthode de sélection de l'approche d'échantillonnage et des tests biologiques sont présentées dans le Tableau 4 : Bioessais de toxicité générale pour une évaluation de la qualité des eaux continentales superficielles. Pour chaque catégorie d'organisme, la méthode la plus pertinente a ensuite été retenue.

Pour les tests sur bactérie, un seul test valide tous les critères donc celui-ci est sélectionné (**test Microtox ISO 11348**). De la même manière pour les tests sur poissons, le test **ISO 15088/21115** est sélectionné.

Pour les invertébrés, trois tests sont envisageables. Pour choisir parmi ces tests, ceux de toxicité chronique ont été privilégiés. Ces tests sont en effet plus pertinents pour une évaluation des eaux de surface que les tests de toxicité aiguë car les concentrations en substances toxiques dans les eaux superficielles sont relativement faibles et l'intérêt est donc d'évaluer la toxicité d'une exposition à une faible dose sur un temps long comme recommandé par (N. Manier, 2023). Les tests de reproduction sur Cériodaphnie et Daphnie sont donc envisageables. Les Cériodaphnies se reproduisent plus rapidement que les Daphnie ce qui rend le test moins chronophage et donc moins coûteux (Connors, 2021). Le test sur Cériodaphnie a aussi démontré une plus grande sensibilité pour l'évaluation de la toxicité d'effluents industriels notamment (Ferrari, 1997). Le test retenu pour invertébrés est donc **le test de toxicité chronique sur *Ceriodaphnia dubia***.

Pour la toxicité générale sur algues et plantes aquatiques, les trois tests qui valident les critères de sélection sont des tests de croissance, deux sur lentilles d'eau et un sur algues vertes unicellulaires. Les microalgues sont plus sensibles aux contaminants des eaux domestiques et industrielles que les tests sur plantes et sont donc plus utilisées comme modèles de référence pour les tests phytotoxiques (Ceschin, 2021). Le test sur microalgue a aussi l'avantage économique de permettre d'analyser un grand nombre d'échantillons d'eau à des coûts réduits, tout en nécessitant de faibles volumes d'échantillons. Enfin, il permet d'évaluer les effets des herbicides ciblant la croissance et la division cellulaire (présentés en Annexes). **Le test sur algues vertes unicellulaires** est donc sélectionné.

**TABEAU 4 : BIOESSAIS DE TOXICITE GENERALE POUR UNE EVALUATION DE LA QUALITE DES EAUX CONTINENTALES
SUPERFICIELLES**

Organisme	Méthode	Norme	Toxicité chronique (c)/aigue (a)	Temps d'exposition	Prestataire
Invertébrés	Détermination de l'inhibition de la mobilité de Daphnia magna Straus (Cladocera, Crustacea)	NF EN ISO 6341:2012	a	48 h	CARSO/Tame-water/SGS
	Test de reproduction sur Daphnia magna	OECD 211:2012	c	21 j	CARSO
	Détermination de la toxicité chronique sur Ceriodaphnia dubia	NF ISO 20665:2008	c	7 – 8 j	CARSO/SGS
Vertébrés	Détermination de la toxicité aiguë d'échantillons d'eau et de produits chimiques vis-à-vis de la lignée cellulaire de branchies de poissons (RTgill-W1)	ISO 21115:2019 OECD 249: 2021/ISO 15088	a	24 h	Toxem
Bactérie	Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de Vibrio fischeri (Essai de bactéries luminescentes)	NF EN ISO 11348-1,2&3:2009	a	30 min	Toxem (sous-traitance) / CARSO/Tame-water/SGS
Algues et plantes aquatiques	Essai d'inhibition de la croissance des algues d'eau douce avec des algues vertes unicellulaires	NF EN ISO 8692:2012	c	72 h	CARSO/Tame-water/SGS
	Détermination de l'effet toxique des constituants de l'eau et des eaux résiduaires vis-à-vis des lentilles d'eau (Lemna minor)	NF EN ISO 20079:2006]	c	7 j	CARSO
	Test d'inhibition de la croissance sur lentilles d'eau (Lemna minor ou Lemna gibba)	OECD 221:2002	c	7 j	CARSO

b) Génotoxicité et mutagénicité

Pour la génotoxicité et la mutagénicité, il existe un nombre plus restreint de biotests : le test in vitro des micronoyaux sur cellules de poisson, le test Umu (ISO 13829 :2000), le SOS Chromotest et l'essai d'Ames fluctuation (NF ISO 11350 :2012). Les tests de génotoxicité cités par le guide technique (Carere, 2021) ont aussi été considérés : l'essai d'Ames (ISO 16240 :2005), l'essai d'Ames fluctuation (ISO 11350 :2012), le test de micronoyaux sur larves d'amphibiens (ISO 21427-1 :2006) et le test Comet (in vitro sur cellules de poissons). Ces tests et l'application des critères de sélection sont présentés dans le Tableau 5 : Bioessais de génotoxicité les plus robustes et application des différents critères de sélection. Cette classification des différents tests génotoxiques fait ressortir deux tests : le test SOS et l'essai d'Ames. **Le SOS Chromotest** qui présente une bonne sensibilité, un coût bas et une compatibilité avec des matrices complexes (nombre de substances élevé par volume d'eau) constitue un bon compromis en première approche. En fonction du budget et de la complexité des matrices étudiées, l'essai d'Ames pourra être envisagé dans une future optimisation de l'approche.

c) Perturbateurs endocriniens

A partir des recommandations effectuées par les acteurs de la biosurveillance et de la littérature, les récepteurs cibles pour une batterie complète de surveillance de la perturbation endocrinienne identifiés sont les suivants : récepteur ER (effets agonistes), récepteur AR (effets antagonistes), récepteur AhR (dioxines) sur les sédiments et le récepteur PXR (pregnanes) (voir Tableau 6). Toutefois, la volonté de suivre spécifiquement les concentrations des substances stéroïdiennes à activité oestrogénique dans l'eau est grandissante et s'est affirmée par l'inclusion de l'œstradiol (E2), l'estrone (E1) et l'éthinyl-œstradiol (EE2) dans la liste de vigilance (watch-list) de la directive fille de la DCE (2013/39/EU). L'usage des bioessais in vitro pour détecter la présence de substances à activité oestrogénique apparaît donc intéressant dans ce contexte. Le récepteur ER sera donc le seul intégré dans la sélection des bioessais pour une première stratégie. L'application des différents critères de sélection sur les tests d'activité oestrogénique est présentée dans le Tableau 7: Bioessais spécifiques de l'activité oestrogénique les plus robustes et application des critères de sélection. Les méthodes qui sont les plus adéquates sont

TABEAU 5 : BIOESSAIS DE GENOTOXICITE LES PLUS ROBUSTES ET APPLICATION DES DIFFERENTS CRITERES DE SELECTION

Outil bio-analytique	Espèces	Norme	Type d'approche	Critère n°1 - Opérationalité	Critère n°2 - Disponibilité	Critère n°3 - Sensibilité	Critère n°4 - Cout	Critère n°5 - Recommandation
SOS Chromotest	E. coli	/	Bioessai in vivo	Oui	Toxem/CARSO/Tame-water (équivalent)	Bonne	Bas	Adapté pour matrices complexes
Test Umu	S. typhimurium TA1535/pSK1002	ISO 13829 :2000	Bioessai in vivo	Oui	/	/	/	/
Ames-fluctuation	S. typhimurium (TA98/TA100)	NF ISO 11350 :2012	Bioessai in vitro	Oui	/	/	/	/
Numération de micronoyaux	Cellules de mammifères	OCDE 487	Bioessai in vitro	Oui	Toxem	Basse	Élevé	/
Numération des micronoyaux	Larves d'amphibiens	NF ISO 21427-1:2006	Biomarqueur	Oui	Toxem	/	/	/
Test des Comètes	Cellules de mammifères	Adapté OCDE 489	Bioessai in vitro	Oui	Toxem/BI OMAE	Bonne	Élevé	Pas de référence inter-labo
Test d'Ames	S. typhimurium (TA98/TA100)	ISO 16240 :2005	Bioessai in vitro	Oui	Toxem	Forte	Élevé	Pas approprié pour matrices complexes

Eléments recueillis à partir de la littérature et d'entretien (Jérôme Couteau, Toxem)

TABEAU 6 : LES TESTS IN VITRO CIBLES DE DIFFERENTS RECEPTEURS NUCLEAIRES ET LES DIFFERENTS MODELES DISPONIBLES (FOURNI PAR P. BALAGUER, INSERM)

Cibles		Difference inter espèces	Lignée cellulaire récepteur humain	Lignée cellulaire récepteur poisson	Poisson-zebre
Récepteur des estrogènes	ERa	Modérée	BDS, INERIS, INSERM, TOXEM, TAME WATER	INSERM	INERIS, WATCHFROG
Récepteur des androgènes	AR	Tres faible	BDS, INSERM, TOXEM, TAME WATER	INSERM	WATCHFROG
Récepteur des progestatifs	PR	Importante	BDS, INSERM, TAME WATER	INSERM	
Récepteur des minéralocorticoïdes	MR	Importante	INSERM	INSERM	
Récepteur des glucocorticoïdes	GR	Tres faible	BDS, INSERM, TAME WATER	INSERM	
Récepteur des xénobiotiques	PXR	Importante	BDS, INERIS, INSERM	INSERM	INERIS
Récepteur de la dioxine	AhR	Modérée	BDS, INERIS, INSERM, TAME WATER	INSERM	
Recepteur des hormones thyroïdiennes	TRa	Tres faible	INSERM		WATCHFROG

En vert : tests conseillés par l'INERIS et l'INSERM

TABEAU 7: BIOESSAIS SPECIFIQUES DE L'ACTIVITE OESTROGENIQUE LES PLUS ROBUSTES ET APPLICATION DES CRITERES DE SELECTION

Nom du test	Récepteur	Norme	Critère n°1 - Opérationnalité	Critère n°2 - Disponibilité	Critère n°3 - Sensibilité	Critère n°4 – Cout € : 0-200€ €€ : 200-400€ €€€ : >400€	Critère n°5 - Recommandation
YES*	ER	ISO 19040-1 :2018	Oui	Toxem	Basse (Leusch, 2010)	€	/
ER-CALUX* (T47D)	ER	ISO 19040-3 :2018	Oui	BDS	Modérée (Aït-Aïssa S. , 2018)	€	Testé pour l'alimentaire
HERα-HeLa-9904	ER	ISO 19040-3/OECD TG455	Oui	Toxem	Forte	€€	Recommandé en première approche
VM7Luc-4E2 (BG1Luc)	ER	OECD 455 :2016	Oui	/	/	/	/
ERα-CALUX	ER	ISO 19040-3/OECD TG455	Oui	BDS	Forte (Leusch, 2010) et (Aït-Aïssa S. , 2018)	€	Recommandé en première approche
MELN	ER	ISO 19040-3 :2018	Oui	/	/	/	/
EASZY	ER	OECD 250: 2021	Oui	/	/	/	/
REACTIV	ER	OCDE 229, 230 et 234	Oui	Watchfrog	Forte	€€€	Recommandé en complément de tests in vitro en seconde approche si le budget le permet

*méthodes ayant obtenues une note supérieure à 0,8

Les prix indiqués correspondent au prix du test seul et ne prennent pas en compte les couts d'échantillonnage, d'extraction et de culture cellulaire.

donc **le test ER α - CALUX (BDS) et le test hER α -HeLa-9904 (Toxem)**. Ces deux tests ont la même sensibilité (Tableau III.11 (Carere, 2021)) et peuvent donc être appliqués de manière équivalente. Le choix final s'effectuera en fonction du laboratoire et du coût du test.

d) Sélection finale

Le tableau 8 recense les différents bioessais sélectionnés pour la stratégie. La batterie de bioessais se compose ainsi de **4 tests de toxicité générale** sur niveaux trophiques différents (crustacés, algues, poissons, bactérie), **1 test de génotoxicité** sur bactérie et **1 test d'activité oestrogénique sur cellules humaines**. Parmi les tests sélectionnés, seul le test de génotoxicité n'est pas normalisé.

Des fiches descriptives des différents tests retenus sont présentées en Annexes.

3) Sélection des stations et de la fréquence d'échantillonnage

La sélection des stations est représentée sur la Figure 7: Cartographie des stations sélectionnées pour le réseau de biosurveillance écotoxique sur les eaux continentales superficielles du bassin Seine-Normandie. Le réseau d'échantillonnage comprend ainsi :

- **20 stations de bouclage** (dont trois stations du projet DLES-Normandie)
- **30 stations de gammare** (dont 10 de bouclage et 5 du projet DLES-Normandie)
- **8 stations du projet DLES-Normandie**
- **18 stations complémentaires** du RCS et/ou RCO

Cela fait un total de **60 stations** pour la surveillance écotoxique des milieux aquatiques continentaux. La liste complète des stations sélectionnées est disponible en Annexes. La fréquence d'échantillonnage visée est de 6 par an pour toutes les stations sauf pour les stations gammare qui seront effectuées 3 fois par an, tous les deux ans. La Figure 8 : Calendrier prévisionnel des fréquences d'échantillonnage du réseau de biosurveillance sur les années 2025-2026 permet d'illustrer les fréquences d'échantillonnage choisies pour les stations.

TABEAU 8: SELECTION FINALE DES BIOESSAIS POUR LA STRATEGIE DE BIOSURVEILLANCE

Toxicité ciblée	Catégorie d'espèces	Test	Norme	Chronique/Aigue	Catégorie de test	Prestataire	Prix (approximatif) € : 0-200€ €€ : 200-400€ €€€ : >400€
Toxicité générale	Crustacés	Détermination de la toxicité chronique sur <i>Ceriodaphnia dubia</i> en 7 jours – Test d'inhibition de la croissance de la population	NF ISO 20665	Chronique	Bioessai in vivo	CARSO/SGS/Eurofins	€
	Algues/plantes aquatiques	Test d'inhibition de la croissance sur algue d'eau douce <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> = <i>Raphidocelis subcapitata</i>)	OECD 201 / NF EN ISO 8692	Chronique	Bioessai in vivo	SGS/CARSO/Tamewater/Eurofins	€
	Oufs de poisson	Test de toxicité sur embryons et larves de poissons d'eau douce (<i>Danio rerio</i>)	ISO 12890	Chronique	Bioessai in vivo	SGS	€€ - €€€
	Bactérie	<i>Vibrio fischeri</i> (MICROTOX)	NF EN ISO 11348-1,2&3:2009	Aigue	Bioessai in vivo	Toxem (sous-traitance) / CARSO/Tamewater/SGS	€
Génotoxicité	Bactéries	SOS-Chromotest	/	Chronique	Bioessai in vivo	TOXEM	€
Activité oestrogénique	Cellules humaines (même sensibilité - > décider en fonction du coût et de la praticité)	ERa CALUX (cellules humaines d'os)	ISO 19040-3	/	Bioessai in vitro	BDS	€€
		HeLa9903 (cellules humaines mammaires)	ISO 19040-3/OCDE 455	/	Bioessai in vitro	TOXEM	€€

Une couleur a été attribuée à chaque type d'organisme support (colonne 'Catégorie d'espèces'). Les couleurs permettent aussi de visualiser les essais de toxicité chronique (couleur bleue) et de toxicité aigüe (couleur orange), et de différencier dans une autre colonne les bioessais in vivo (couleur bleue) et les bioessais in vitro (couleur orange). Les couleurs permettent ainsi de visualiser une répartition sur les différents types d'organismes, les types de toxicité intégrés et les niveaux organisationnels ciblés.

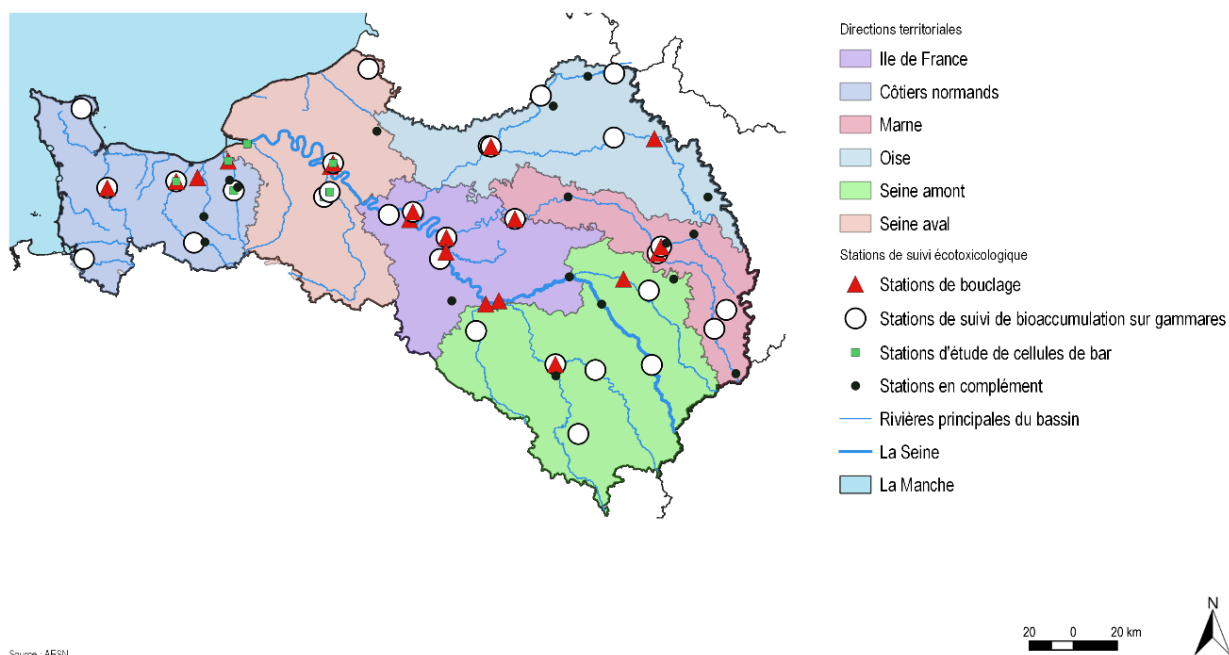


FIGURE 7 : CARTOGRAPHIE DES STATIONS SELECTIONNEES POUR LE RESEAU DE BIOSURVEILLANCE ECOTOXIQUE SUR LES EAUX CONTINENTALES SUPERFICIELLES DU BASSIN SEINE-NORMANDIE A L'ECHELLE 1:1900000

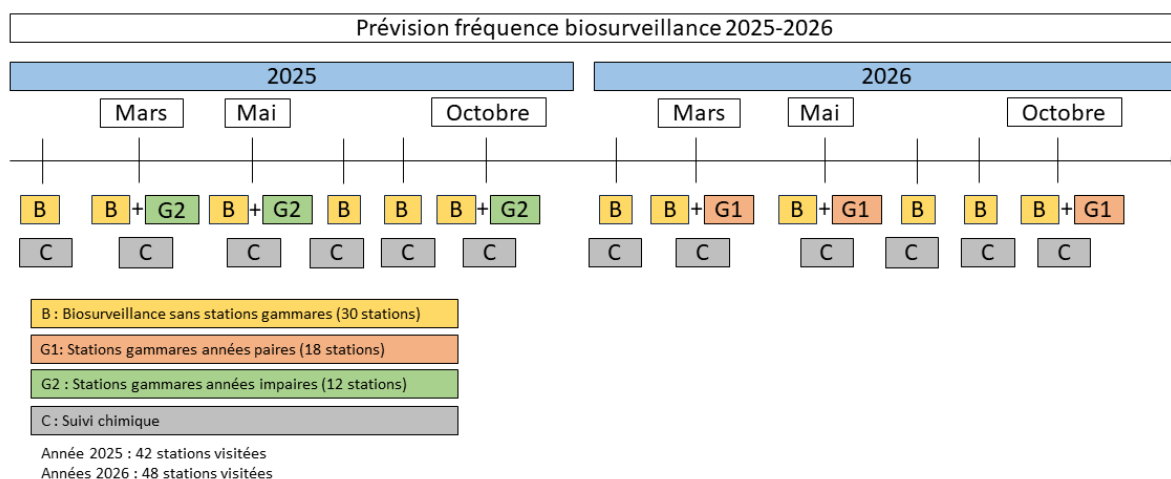


FIGURE 8 : CALENDRIER PREVISIONNEL DES FREQUENCES D'ECHANTILLONNAGE DU RESEAU DE BIOSURVEILLANCE SUR LES ANNEES 2025-2026

V) Discussion

L'approche envisagée pour la stratégie de biosurveillance comporte plusieurs limites, tout d'abord au niveau de l'approche d'échantillonnage qui a été choisie. En effet, le déploiement d'une approche biomarqueur avec prélèvement d'organismes in situ n'a pas été envisagée du fait de la complexité pratique que cela engendre (demande d'accès aux sites, possibilité d'absence de poissons sur un grand nombre de sites, dissection des organismes etc). Pourtant, comme cela a été souligné, les mesures effectuées sur organismes issus du milieu permettent de maximiser les chances de détection de substances écotoxicologiques. Les organismes sont en effet exposés à toutes les conditions environnementales et cela permet de voir s'il y a eu des phénomènes d'adaptation par exemple. Cette approche permet ainsi de faire un lien direct entre exposition aux substances et conséquences néfastes sur les organismes. Cette approche est donc à garder en tête pour une future optimisation de la stratégie, si le budget le permet et si les limites pratiques sont maîtrisées.

Une autre limite est aussi à souligner concernant le choix des bioessais. Pour la toxicité générale, le test sur embryons de poissons est intéressant, car peut ensuite être couplé à des réponses de toxicité spécifique avec le modèle poisson (test EASZY pour les œstrogènes et test EROD pour les dioxines par exemple) d'après Selim Aït-Aïssa (INERIS). Pour cette première approche, l'effet des œstrogènes sera évalué avec un récepteur humain, ce qui ne permet pas la comparaison avec la toxicité générale sur le modèle poisson. Il pourra être choisi d'effectuer des tests oestrogéniques sur cellules de poisson dans un second temps. Concernant le test sur algues, celui-ci est particulièrement intéressant car il permet d'évaluer la toxicité des herbicides qui agissent sur la division cellulaire et la croissance des algues et plantes. En revanche, avec le test choisi de croissance algale, les herbicides parmi les plus présents sur le bassin comme le prosulfocarbe, le glyphosate, le chlorotoluron ou le s-métolachlore ne sont donc pas ciblés. Le métazachlore et le diflufénicanil qui sont les herbicides les plus déclassants (EDL 2019) ne sont pas non plus ciblés par ce test. Le test d'évaluation de la présence d'herbicides inhibiteurs du photosystème II (PSII), couplé au test de croissance permettrait de préciser le lien substance – effet, et permettrait de cibler davantage d'herbicides (voir liste en Annexes) comme le chlortoluron, le métamitron qui sont fortement présents sur le bassin. Le test PSII est en cours de développement au sein de l'INERIS et se fait déjà au Centre Ecotox Suisse mais n'est

pas encore développé dans les laboratoires français. Enfin, le test Microtox est très intéressant à appliquer car il est intégré dans la réglementation de contrôle de la toxicité de rejets d'effluents industriels (MTD4) et fait donc foi auprès de nombreux utilisateurs. Il est aussi rapide et peu onéreux. En revanche, sa sensibilité n'est pas très forte même sur certains rejets industriels très concentrés ce qui peut laisser penser que des réponses en eaux peu concentrées ne seront pas forcément obtenues (N. Manier, INERIS).

Pour l'évaluation de l'activité oestrogénique, il est conseillé de comparer les résultats des essais in vivo et in vitro (Brion, 2019). Pour ce faire, opter pour une approche graduelle est optimale : effectuer des tests in vitro, et ensuite effectuer des tests in vivo seulement sur les hotspots (là où les essais in vitro révèlent une toxicité). Pour une amélioration de la stratégie, l'utilisation des tests in vivo sur les hotspots pourrait ainsi être envisageable en fonction du budget. La batterie de PE pourrait aussi être complétée par des tests sur récepteurs AR, AhR et PXR comme préconisé par certains experts.

D'autres limites de la stratégie sont à souligner, comme l'absence d'outils d'interprétation des données d'écotoxicologie. Ces valeurs d'interprétation ou EBT (Effect-Based Trigger values) permettent d'évaluer des seuils d'effet acceptables et non acceptables pour l'environnement (Peta A. Neale, 2023). Pour un certain nombre de bioessais, des valeurs seuils ont été proposées. Cela concerne principalement les tests in vitro à gène rapporteur (perturbation endocrinienne), mais certains tests in vivo sont aussi concernés (voir liste en Annexes). Cependant, pour un très grand nombre de bioessais et biomarqueurs, les valeurs d'effet sont discutées et leur prise en main par les gestionnaires est donc limitée.

On peut aussi noter que très peu de biotests permettent de mettre en évidence des effets spécifiques d'une substance ou famille de substances. En effet, beaucoup de tests permettent d'évaluer une toxicité générale et ne sont pas spécifiques d'un mode d'action d'une substance ou famille de substances (sauf le cas des activités oestrogéniques par exemple). Il est donc difficile pour la plupart des tests d'établir un lien entre les effets observés et les substances en cause et donc, finalement, les actions opérationnelles à entreprendre. L'approche EDA (Effect-Directed Analysis) se développe dans ce but mais n'est pas encore applicable en routine (Hecker, 2009).

Enfin, l'utilisation d'un outil d'intégration des données serait une amélioration de la stratégie fortement souhaitable. Ce type d'outil, développé notamment par (Iris

Barjhoux, 2016) permettrait d'établir un score unique en agréant les données issues des différents tests de la stratégie proposée ainsi que celles de bioaccumulation et de chimie. Ce type d'outil constitue un fort atout pour les gestionnaires de l'eau mais n'est pas encore assez robuste.

Conclusion

La stratégie proposée ici permettra de compléter les données collectées par l'Agence de l'eau : les données de chimie, les données d'écologie et les données de bioaccumulation et d'alimentation chez les gammarus sur l'ensemble du bassin. Cependant, l'interprétation des données d'écotoxicologie n'est pas simple notamment pour les tests de toxicité générale sur crustacés et œufs de poissons, et pour le test de génotoxicité car des valeurs seuils d'effets non acceptables pour l'environnement ne sont pas définies. Par ailleurs, ces valeurs seuils sont aussi peu définies pour la chimie, ce qui met en perspective cette limite sur l'écotoxicologie. Ainsi, une incitation réglementaire au niveau communautaire sur l'utilisation des outils d'écotoxicologie dans le cadre de la DCE permettrait de pousser les recherches sur le déploiement de lignes de base et faciliterait l'interprétation des données de biosurveillance. Une incitation réglementaire est aussi souhaitable pour inciter les agences de l'eau à établir des réseaux de biosurveillance, non pas dans le but d'intégrer l'état des lieux, mais pour mieux comprendre les contaminations sur le bassin et fournir une aide à l'action pertinente.

Toutefois, le lancer de l'élaboration de cette première stratégie de biosurveillance pour l'Agence de l'eau Seine-Normandie va permettre d'accélérer la mise en place de tests écotoxiques, à la fois sur le bassin Seine-Normandie mais aussi sur le territoire d'autres agences, et notamment l'Agence de l'eau Loire-Bretagne qui a montré la volonté de lancer une surveillance écotoxique, à terme du projet Sentinelle Acte en cours. Un lancement de marchés de biosurveillance à l'échelle nationale en inter-agences serait d'ailleurs souhaitable, à la manière des campagnes de mesure menées par le Centre Ecotox Suisse qui a permis de tester une batterie de tests sur l'ensemble du territoire et de tirer des recommandations sur les méthodes adaptées à la surveillance des eaux de surface.

Pour finaliser la stratégie proposée dans ce rapport, un cahier des charges sera établi prochainement, et un budget global sera défini dans les prochains mois.

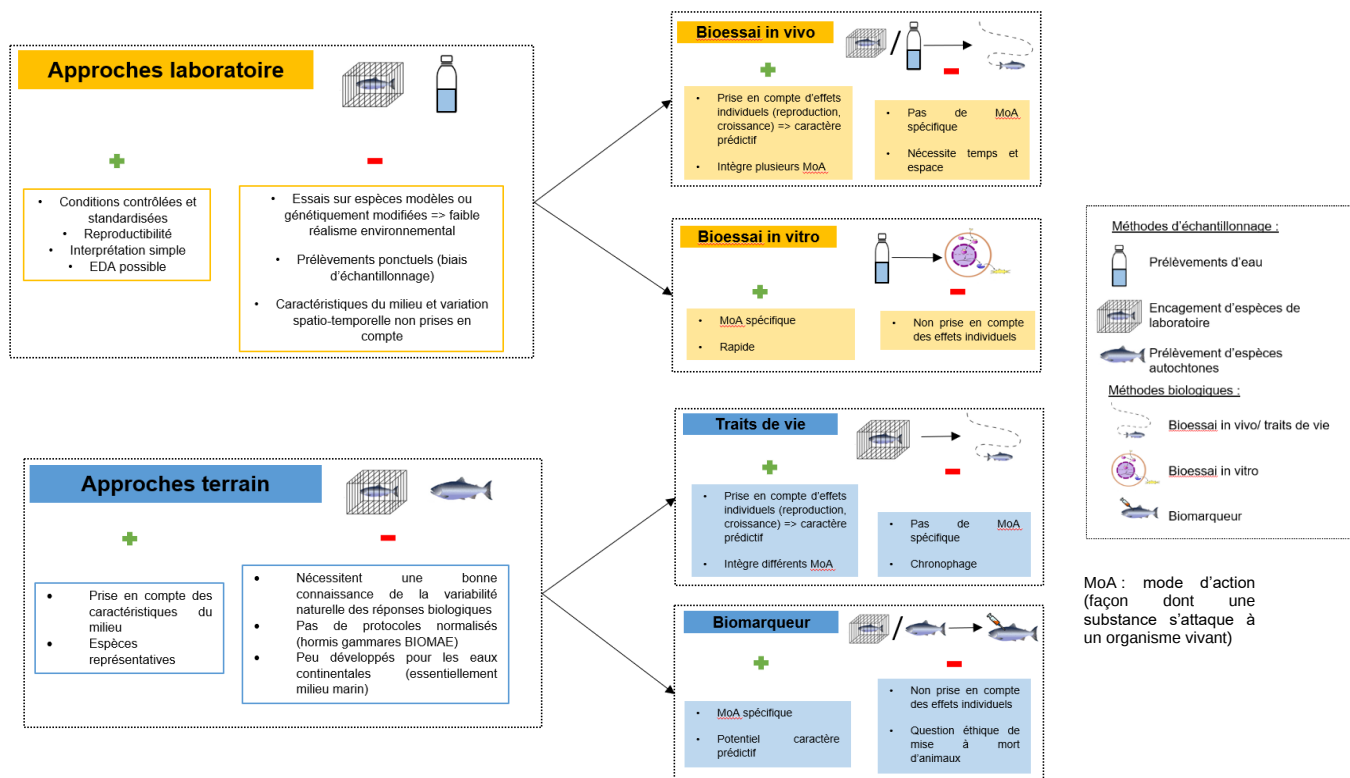
Références

- (INERIS), N. P. (2022). *Document d'orientation pour l'évaluation du risque chimique pour les écosystèmes*.
- Agence de l'eau Seine-Normandie. (2019). *Etat Des Lieux 2019*.
- Aït-Aïssa, S. (2018). *Contribution à la validation de la mesure de l'activité oestrogénique in vitro dans les eaux de surface et les eaux usées*.
- Aït-Aïssa, S. (2018). *Contribution à la validation de la mesure de l'activité oestrogénique in vitro dans les eaux de surface et les eaux usées*.
- Beate Escher, P. N. (2021). *Bioanalytical Tools in Water Quality Assessment*.
- Benoit Xuereb, C. F. (2022). *Proposition d'un pilote basé sur l'utilisation de biomarqueurs pour un appui à la surveillance de la qualité des masses d'eau du district Seine-Normandie*.
- Blaise, C. (2009). BIOASSAYS AND BIOMARKERS, TWO PILLARS OF ECOTOXICOLOGY: PAST, PRESENT AND PROSPECTIVE USES. *Fresenius Environmental Bulletin*.
- Brion, F. (2019). *Monitoring estrogenic activities of waste and surface waters using a novel in vivo zebrafish embryonic (EASZY) assay : Comparison with in vitro cell-based assays and determination of effect-based trigger values*.
- Carere, M. L.-P. (2021). *Technical Proposal for Effect-Based Monitoring and Assessment under the Water Framework Directive Report to the Common Implementation Strategy (CIS) Working Group Chemicals on the outcome of the work performed in the subgroup on Effect-Based Methods (EBM)*.
- Catherine Gourlay-Francé, F. D.-H.-V. (2010). Des outils pour mesurer l'impact des toxiques sur l'écosystème aquatique. *Sciences Eaux et Territoires*.
- Ceschin, S. (2021). Aquatic plants and ecotoxicological assessment in freshwater ecosystems : a review. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Connon, R. E. (2012). Effect-Based Tools for Monitoring and Predicting the Ecotoxicological Effects of Chemicals in the Aquatic Environment. *sensors*.
- Connors, K. A. (2021). *Daphnia magna and Ceriodaphnia dubia Have Similar Sensitivity in Standard Acute and Chronic Toxicity Tests*.
- Delphine Delaunay, D. B. (2020). *Base de données Nationale des biomarqueurs pour la Biosurveillance Aquatique - Guide pratique 2020*.
- Delphine Delaunay, E. E. (2020). *Biomarqueur et Biodiversité : Expertise au service de l'utilisation des Biomarqueurs pour la Surveillance Ecologique des Ecosystèmes Aquatiques Continentaux, Marins et de Transition*.
- European Environment Agency. (2020). *The European environment — state and outlook 2020: knowledge for transition to a sustainable Europe*.
- Ferrari, J.-F. F. (1997). Quel test de toxicité chronique sur invertébrés faut-il choisir pour l'évaluation de la dangerosité des déchets ? *Environnement, Ingénierie & Développement (N°8-4ème Trimestre)*.
- GIP Seine-Aval. (2008). *Qualité de l'eau et contaminations: Contaminations par les pesticides dans l'estuaire de la Seine*.
- Hecker, M. (2009). Effect-directed analysis (EDA) in aquatic ecotoxicology: state of the art and future challenges. *Environmental Science and Pollution Research*.
- INERIS. (2011). *Méthodologie utilisée pour la détermination de normes de qualité environnementale (NQE)*.
- Iris Barjhoux, L. C. (2016). 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*.
- Jeanne Garric, S. M.-H. (2010). Les biomarqueurs en écotoxicologie : définition, intérêt, limite, usage. (I. e. Institut National de Recherche pour l'Agriculture, Éd.) *Sciences Eaux et Territoires*(1), 12 à 17.

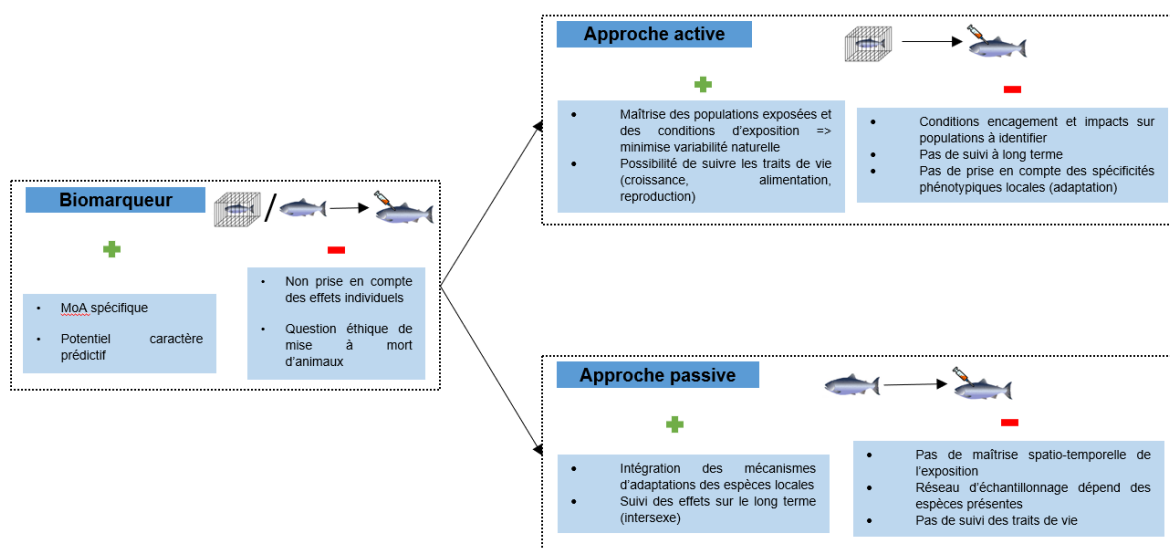
- Journal officiel de l'Union européenne. (2022). Conclusions sur les meilleures techniques disponibles (MTD) pour l'industrie textile.
- Journal Officiel de l'Union Européenne. (2016). Conclusions sur les MTD pour les systèmes communs de traitement/gestion des effluents aqueux et gazeux dans le secteur chimique.
- Laurence Huc, R. B. (2021). Réglementation des substances chimiques : science et décision, lenteur et confusion. *Responsabilité et Environnement*.
- Leusch, F. D. (2010). Comparison of Five in Vitro Bioassays To Measure Estrogenic Activity in Environmental Waters. *Environmental Science & Technology*.
- Mathon, B. (2021). Passive integrative samplers, relevant tools to improve regulatory monitoring of chemical quality of aquatic environments? *Techniques Sciences Méthodes*.
- N. Manier, S. A.-A. (2023). *Inventaire et évaluation des méthodes biologiques issues de l'écotoxicologie pour la surveillance des milieux aquatiques en vue de leur utilisation dans le cadre de la DCE*.
- Peta A Neale, R. A.-A. (2017). *Development of a bioanalytical test battery for water quality monitoring: Fingerprinting identified micropollutants and their contribution to effects in surface water*.
- Peta A. Neale, I. E. (2023). Effect-Based Trigger Values Are Essential for the Uptake of Effect-Based Methods in Water Safety Planning. *Environmental Toxicology and Chemistry*.
- Schuijt, L. M. (2021). (Eco)toxicological tests for assessing impacts of chemical stress to aquatic ecosystems: Facts, challenges and future. *Science of the Total Environment*.
- Selim Aït-Aïssa, F. B. (2012). *Etude prospective 2012 : Apport des outils biologiques (bioessais et biomarqueurs) pour le diagnostic de la contamination des milieux aquatiques*.
- Slaby, S. (2024). *Déploiement du test DLES pour détecter des perturbateurs (Rapport intermédiaire I : Définition et caractérisation des sites)*.
- Sylvain Slaby, A. D. (2024). The *Dicentrarchus labrax* estrogen screen test: A relevant tool to screen estrogen-like endocrine disrupting chemicals in the aquatic environment. *Chemosphere* 362.
- Werner Brack, S. A. (s.d.).
- Werner Brack, S. A.-B. (2019). Effect-based methods are key. The European Collaborative Project SOLUTIONS recommends integrating effect-based methods for diagnosis and monitoring of water quality. *Environmental Sciences Europe*.

Annexes

ANNEXE 1 : APPORTS ET LIMITES DES METHODES BIOLOGIQUES EN ECOTOXICOLOGIE

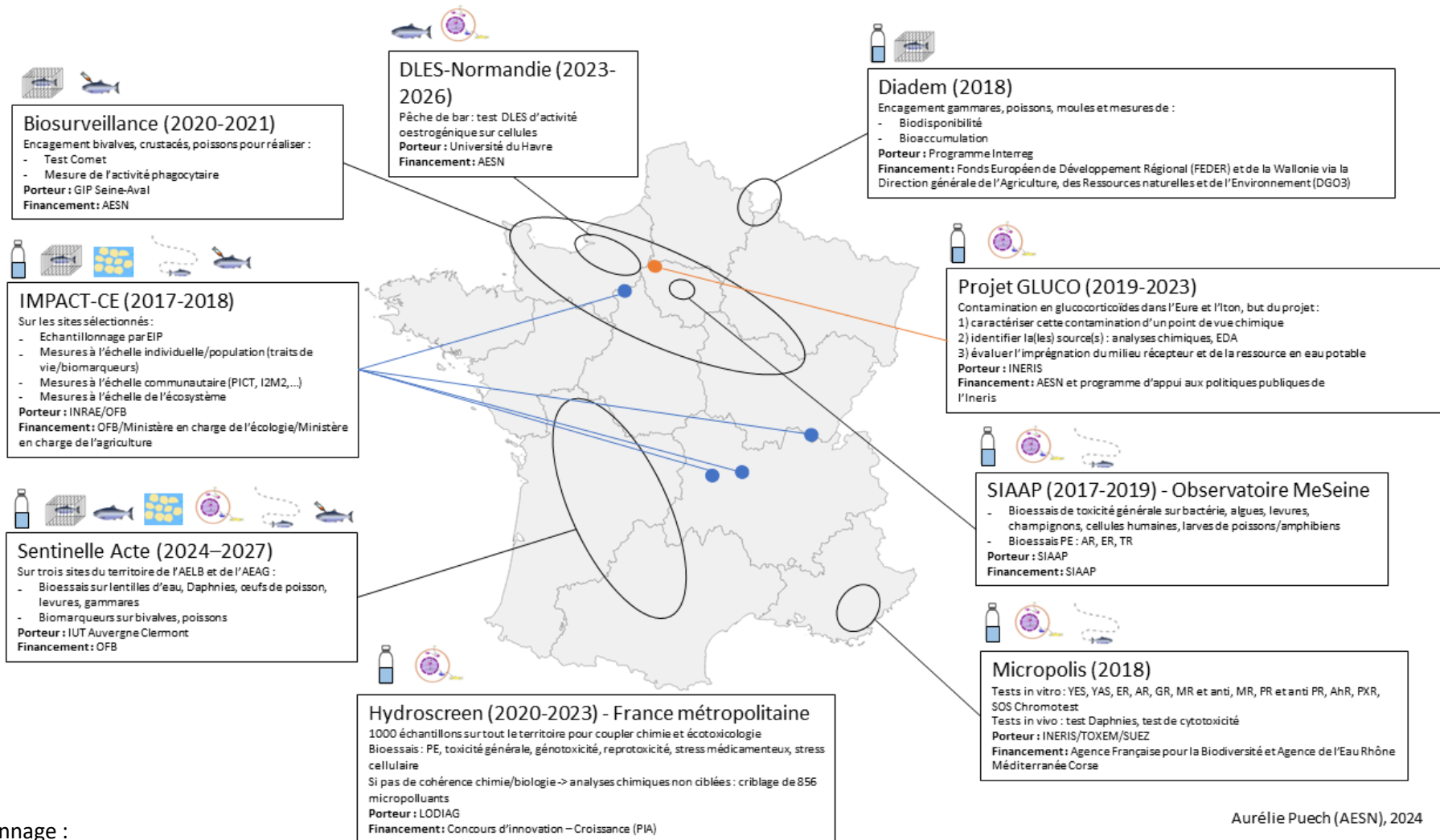


ANNEXE 2 : COMPARAISON DES APPROCHES PASSIVE ET ACTIVE POUR LA MESURE DE BIOMARQUEUR



Source : *Introduction to bioanalytical tools in water quality assessment* (Beate Escher, Peta Neale and Frederic Leusch, 2021)

ANNEXE 3 : PROJETS DE MISE EN APPLICATION DE BIOESSAIS ET BIOMARQUEURS SUR LES EAUX DOUCES EN FRANCE



Légende :

Echantillonnage :



Echantillon d'eau



Sédiment



Encagement d'organismes



Prélèvement d'organismes in situ

Méthodes :



Bioessais in vitro



Bioessais in vivo



Biomarqueurs

Données :

- The Dicentrarchus labrax estrogen screen test: A relevant tool to screen estrogen-like endocrine disrupting chemicals in the aquatic environment (Sylvain Slaby, 2024)
- <https://www.hydroscreen.fr/projets/hydroscreen/44.html>
- Projet BIOSURVEILLANCE « Proposition d'un pilote basé sur l'utilisation de biomarqueurs pour un appui à la surveillance de la qualité des masses d'eau du district Seine-Normandie » (Benoit Xuereb, 2022)
- Projet GLUCO – Caractérisation, identification et devenir d'une contamination par des glucocorticoïdes dans l'Iton et l'Eure (AIT-AISSA Selim, 2024)
- Rapport final du projet Impact-CE : Développement et transfert aux opérationnels d'outils intégratifs de mesure chimique et biologique au sein des cours d'eau pour le suivi de l'impact des pratiques agricoles et de leur évolution. Ecophyto II. 157 pp (Jabiol J., Artigas J., Bonneau C., Chaumet A., Chauvet E., François A., Guérol F., Le Dréau M., Legrand C., Margoum C., Martin-Laurent F., Mazzella N., Pesce S., Tardy V., Usseglio-Polatera P., Gouy V., (2021))
- Caractérisation de la toxicité des eaux usées à Sophia Antipolis (Ywann PENRU, Amélie GUILLON (SUEZ), Selim AIT AISSA (INERIS), Jérôme COUTEAU (TOXEM), 2018)
- Biosurveillance des eaux de surface en agglomération parisienne – Résultats 2017-2019 en Seine, Marne et Oise (S. GUÉRIN-RECHDAOUI, D. DU PASQUIER, A. MARCONI, E. MICHELIN, B. ROBIN, G. LEMKINE, S. AZIM, V. ROCHER, 2023)
- Projet Diadem : réunion Alain Geffard
- Projet Sentinelle Acte : réunion Mahchid Bamdad

Aurélien Puech (AESN), 2024

ANNEXE 4 : INVENTAIRE DES METHODES DE BOSURVEILLANCE (BIOESSAIS ET BIOMARQUEURS) COMMERCIALISEES POUR L'EAU DOUCE EN FRANCE

[illegible]

	Organismes dulçaquicoles Brachionus, thamnocéphalus	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Aigue							x				ToxKits
	Fish, short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Chronique	Danio rerio	OCDE 212									x
	Test alimentation	Trait de vie	Toxicité générale		Gammarus	XP-T90-722-3						x			
	Test reprotoxicité	Trait de vie	Toxicité générale		Gammarus	XP-T90-722-2						x			
	Test de toxicité létale aigue de substances sur un poisson d'eau douce	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Aigue	Danio rerio	OECD 203/ ISO 7346-1 (méthode statique) et ISO 7346-2 (méthode semi-statique)									x
	Fish Embryo acute toxicity (FET)	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Aigue	Danio rerio	OCDE 236									x
	Acute toxicity to Chironomus riparius in 7 days	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Aigue		NF T 90-339-1 / OECD 218 / OECD 219									x
	Chronic toxicity determination by growth inhibition test Chironomus riparius in 7 days	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Chronique	Chironomus riparius	NF T 90-339-1 / OECD 218 / OECD 219									x
	Chronic toxicity test Chironomus riparius in 28 days	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Chronique	Chironomus riparius	NF T 90-339-1 / OECD 218 / OECD 219									x
	Fish, juvenile growth test	Bioessai in vivo	Toxicité générale	Chronique	Danio rerio	OCDE 215									x
	Indices de Condition	Biomarqueur	Toxicité générale						x						
	RADAR	Bioessai in vitro	Androgènes	Aigue	Test sur œufs de médaka	(en cours validation OCDE)		x							
	Test YAS/anti-YAS	Bioessai in vitro	Androgènes		S. cerevisiae				x				x		
Androgènes	Essai d'activation transcriptionnelle faisant intervenir le récepteur des androgènes humain transfecté de façon stable pour la détection de l'activité androgénique agoniste et antagoniste des	Bioessai in vitro	Détection activité agoniste et antagoniste récepteurs androgènes		AR-EcoScreen™, AR-CALUX®, et 22Rv1/MMTV_GR-KO.	OCDE 458			x						

	produits chimiques (ARTA)														
	AR-CALUX	Bioessai in vitro	androgènes		Lignée cellulaire U2OS AR-CALUX (développée par BDS)								x	x	
Œstrogènes	REACTIV	Bioessai in vitro	Œstrogènes	Aigue	Test sur œufs de médaka	(OCDE 229, 230, 234)		x							
	MELN	Bioessai in vitro	Œstrogènes		Lignée cellulaires humaines								x		
	Test YES/anti-YES	Bioessai in vivo	Œstrogènes		S. cerevisiae				x				x		
	Essai d'oestrogénicité sur levures	Bioessai in vivo	Œstrogènes		S. cerevisiae	ISO 19040-1 :2018			x						
	Essai in vitro sur cellules humaines avec gène rapporteur	Bioessai in vitro	Œstrogènes		Lignée cellulaires humaines	ISO 19040-3 :2018			x						
	Essais in vitro par transactivation par transfection stable (TA ER)	Bioessai in vitro	Détection activité oestrogénique agoniste et antagoniste récepteurs oestrogènes		essai de TA par transfection stable (essai STTA) faisant appel à lignée cellulaire hERα-HeLa-9903, dérivée d'une tumeur de col utérin d'origine humaine, et l'essai de TA ER BG1Luc faisant appel à la lignée cellulaire BG-1Luc-4E2	OCDE 455			x						
	ER CALUX	Bioessai in vitro	oestrogènes			ISO 19040-3								x	
	ERa CALUX	Bioessai in vitro	oestrogènes		human bone marrow cell lines	ISO 19040-3								x	
	ERb CALUX	Bioessai in vitro	oestrogènes		human bone marrow cell lines	ISO 19040-3								x	
	ERab CALUX	Bioessai in vitro	oestrogènes		human cell lines (T47D)	ISO 19040-3								x	
	Mesure par fluorescence in vivo des effets perturbateurs endocriniens des eaux naturelles et eaux résiduaires	Bioessai in vivo	oestrogènes			XP T90716-1/ XP T90716-2		x							
PE	Dosage Vtg	Biomarqueur	PE						x						
	Test PE (induction Vtg chez gammares males)	Biomarqueur	PE		Gammares	Brevet INRAE						x			
AhR (dioxin-like)	DR-CALUX	Bioessai in vitro	AhR		rat hepatoma cell lines (H4IIE)									x	
	DRhp CALUX	Bioessai in vitro	AhR											x	
	DRhuman CALUX	Bioessai in vitro	AhR											x	

	PAH CALUX	Bioessai in vitro	AhR		rat hepatoma cell lines (H4IIE)									x	
	Activité EROD sur une fraction post-mitochondriale du broyat de foie de poisson	Biomarqueur	Dioxin-like (AhR)					x							
Tyroïdiens	XETA	Bioessai in vivo	Thyroïdiens	Aigue	Test sur œufs de xénope	OCDE TG 248		x							
	Test perturbation thyroïdienne	Bioessai in vitro	Thyroïdiens		Test sur cellules HGSIn (HELa)							x			
	TRbeta CALUX	Bioessai in vitro	TR		human bone marrow cell lines								x		
	PFAS CALUX	Bioessai in vitro	Thyroid		human bone marrow cell lines								x		
Glucocorticoïdes	GR CALUX	Bioessai in vitro	GR		human bone marrow cell lines								x		
Progestérone	PR CALUX	Bioessai in vitro	progesterone		human bone marrow cell lines								x		
Cytotoxicité	Cytotox CALUX	Bioessai in vitro	Cytotoxicité		human bone marrow cell lines								x		
	Test de cytotoxicité de cellules de poisson RTgill-W1	Bioessai in vitro	Cytotoxicité	Aigue	Cellules de poisson RTgill-W1	OCDE 249			x						
Génotoxicité	SOS Chromotest	Bioessai in vivo	Génotoxicité		E.coli	/			x		x		x (équivalent)		
	Détermination de la génotoxicité des eaux et des eaux résiduaires — Essai de Salmonella/microsome (essai d'Ames)		Génotoxicité			ISO 16240			x		x				
Immunotoxicité	Phosphorylation H2AX	Bioessai in vitro	Génotoxicité		Cellules humaines/animales								x		
	Test des Comètes	Bioessai in vitro	Génotoxicité			Adapté OCDE 489			x			x			
	Essai in vitro de micronoyaux sur cellules de mammifères	Bioessai in vitro	Génotoxicité			OCDE 487			x						
	Test d'Ames	Bioessai in vivo	Génotoxicité		S. typhimurium	OCDE 471			x		x				
	Essai in vivo de micronoyaux	Bioessai in vivo	Génotoxicité						x						
Neurotoxicité	Activité AChE	Biomarqueur	Neurotoxicité						x						
	Test dosage Ache	Biomarqueur	Neurotoxicité		Gammares	XP-T90-722-1						x*			

*en développement **tests recommandés pour surveillance écotox rejets aqueux BREF CWV + BREF TXT

ANNEXE 5 : TABLEAU RECAPITULATIF DES DIFFERENTS ENTRETIENS MENES LORS DU PROJET

Organisme	Nom(s)	Contact	Objet	Remarque(s) éventuelle(s)
Experts/chercheurs				
OFB	Olivier Perceval et Camille Détrée	olivier.perceval@ofb.gouv.fr camille.detree@ofb.gouv.fr	Partage stratégies et remarques sur les tests sélectionnés	
URCA UMR Sebio	Alain Geffard	alain.geffard@univ-reims.fr	Présentation du projet Diadem	
IUT Auvergne Clermont	Mahchid Bamdad	mahchid.bamdad@uca.fr	Projet Sentinelle Acte	
UMR Sebio	Iris Barjhoux	iris.barjhoux@univ-reims.fr	Présentation des méthodes d'intégration des données	
INSERM	Patrick Balaquer	patrick.balaquer@inserm.fr	Discussion sur les tests PE et fourniture d'un tableau récapitulatif	
EPOC	Nathalie Tapie	nathalie.tapie@u-bordeaux.fr	Explication sur les échantillonneurs passifs	
INERIS	Selim Ait-Aissa Nicolas Manier	Selim.AIT-AISSA@ineris.fr Nicolas.manier@ineris.fr	Visite des laboratoires	Bioessais in vivo, in vitro et biomarqueurs sur différents modèles biologiques
UMR Sebio (URCA)	Audrey Catteau	audrey.catteau@univ-reims.fr	Retour sur l'encagement de dreissènes avec AERM	Volonté lancement spin-off encagement dreissènes au sein de l'URCA
Industriels développeurs				
Tamewater	Dorothée Munoz-Gestion	dmunozgestion@tame-water.com	Présentation des offres de Tame-water	
Viewpoint/ToxMate	Didier Neuzeret	dn@viewpoint.fr	Présentation de l'outil ToxMate	Outil pas adapté à la surveillance du bassin en routine
BIOMAE	Guillaume Jubeaux	guillaume.jubeaux@biomae.fr	Présentation des bioessais BIOMAE et discussion sur leurs applications	
CARSO	Frédéric Garrivier	FGARRIVIER@groupecarso.com	Présentation des outils d'écotoxicologie de CARSO	Volonté de développer de nouveaux tests
Watchfrog	Grégory Lemkine	lemkine@watchfrog.fr	Présentation des outils Watchfrog	Outils trop chers : meilleur compromis = bioessais in vivo et in vitro PE
TOXEM	Jérôme Couteau	jerome.couteau@toxem.com	Présentation des capacités de TOXEM et conseils sur la sélection des tests	
Eurofins	Marie Sartelet et Juliette Chantrenne	MarieSartelet@eurofins.com JulietteChantrenne@eurofins.com	Prise de connaissance de nos besoins	Pas de réponse
LABEO	Stéphane Le Glatin	Stephane.LEGLATIN@laboratoire-labeo.fr	Discussion sur les possibilités de LABEO et partage des stratégies	Volonté de développer de nouveaux tests
AffiniseP	Michel Arotcarena	michel.arotcarena@affiniseP.com	Présentation des différents échantillonneurs passifs commercialisés	
BioDetection Systems	Peter Behnisch	Behnisch@bds.nl	Présentation des offres de BDS (CALUX) et conseil sur l'usage de bioessais in vitro PE	
SGS (Bureau d'études)	Julien Bertin	julien.bertin@sgs.com	Présentation de l'offre en écotoxicologie de SGS	
Utilisateurs				
Suez	Marion-Justine Capdeville	marion-justine.capdeville@suez.com	Retour d'expérience sur l'usage des bioessais/biomarqueurs et conseil sur leur utilisation	
EDF	Nastassia Urien + Leo Lafay	nastassia.urien@edf.fr leo.lafay@edf.fr	Retour d'expérience sur l'usage des bioessais/biomarqueurs et conseil sur leur utilisation	
AERM	Miguel Nicolai	miguel.nicolai@eau-rhin-meuse.fr	Retour sur l'encagement de dreissènes	
Centre écotox suisse	Carmen Casado	Carmen.Casado@centreecotox.ch	Présentation de la réglementation Suisse et du suivi sur sédiments	
AELB	Sylvain Jolly/Magali Barnier	sylvain.jolly@eau-loire-bretagne.fr magali.barnier@eau-loire-bretagne.fr	Partage sur les approches envisagées pour une surveillance écotoxique	
AEAG	Jonathan Canal	jonathan.canal@eau-adour-garonne.fr	Retour sur l'utilisation des gammes encagées BIOMAE	Gammes à privilégier pour une utilisation dans le cadre de contrôles d'enquête

ANNEXE 6 : LES PRINCIPAUX RECEPTEURS NUCLEAIRES HUMAINS VISES PAR LES TESTS ECOTOXIQUES

Catégorie	Récepteur	Acronyme
Récepteurs endocriniens	Œstrogènes	ER
	Androgènes	AR
	Progestérone	PR
	Glucocorticoïdes	GR
	Minéralocorticoïdes	MR
	Acide rétinoïque	RAR
	Thyroïde	TR
Récepteurs orphelins « adoptés »	Pregnane X	PXR
	Séroïdes et xénobiotiques	SXR
	Aryl Hydrocarbène	AhR

Récepteurs endocriniens : leurs ligands sont souvent des hormones stéroïdiennes (haute affinité)

Récepteurs orphelins « adoptés » : ligands dérivés de lipides alimentaires (affinité relativement faible)

Récepteurs orphelins : pas de ligands identifiés

ANNEXE 7 : LES TESTS RECOMMANDES DANS L'INVENTAIRE DU GT BIOESSAI POUR LE SCENARIO 2 : SURVEILLANCE GENERALE DE L'ETAT DES MASSES D'EAU DE SURFACE

Nom du test	In vivo/in vitro ou aigu/chronique	Organisme	Type de toxicité	Réglementation	Note inventaire
Détermination effet toxique des constituants de l'eau et de eaux résiduaires vis-à-vis des lentilles d'eau	Chronique	Lemna minor	Ecotoxicité générale	NF EN ISO 20079-2006	0,95
Essai inhibition croissance des algues d'eau douce	Chronique	Algues vertes unicellulaires	Ecotoxicité générale	NF EN ISO 8692-2012/OCDE 201	0,91
Détermination de la toxicité chronique	Chronique	Brachionus calyciflorus	Ecotoxicité générale - 48h	ISO 20666:2008	0,95
Détermination de l'effet toxique des sédiments sur la croissance, la fertilité et la repro	Chronique	C elegans	Ecotoxicité générale	NF EN ISO 10872:2021	0,87
Détermination de la toxicité à long terme	Chronique	D. magna Straus	Ecotoxicité générale	ISO 10706:2000/OCDE 211	0,85
Mesure alimentation et survie	/	Gammarus	Ecotoxicité générale	XP-T90-722-1	/
Détermination du stade de mue et du nb d'embryons	/	Gammarus	Ecotoxicité générale	XP-T90-722-3	/
MELN	In vitro	Cellules	Activité endocrinienne ER		0,8
PLHC-1	In vitro	Cellules	Activité endocrinienne AhE		0,86
AR-CALUX	In vitro	Cellules	Activité endocrinienne (anti)-AR		0,82
HG5LN-hGR	In vitro	Cellules	GR		0,66
PR-GeneBlazer	In vitro	Cellules	PR		0,62
HG5LN-hPXR	In vitro	Cellules	PXR		0,6
XETA	In vitro	Embryons de poissons	TR		0,8
EASZY	In vivo	Danio rerio zebrafish eggs	ER		0,8
RADAR	In vivo	Embryons de poissons	AR		0,78
FET	In vivo	Embryons de poissons		OCDE 236	-0,73
Essai d'Ames-fluctuation		RT gill-W1	Génotoxicité des eaux résiduaires	NF ISO 11350:2012	>0,8
Essai micronoyaux	In vitro		Génotoxicité		>0,8
SOS Chromotest		Bactérie	Génotoxicité		>0,8
Umu test		Bactérie	Génotoxicité	ISO 13829:2000	>0,8

Phase 1

Priorité 2 phase 1

Phase 2

Pas de phase

ANNEXE 8 : ENTRETIEN-TYPE REALISE AVEC LES PRESTATAIRES

Point abordés et questions posées	Remarques
Présentation des différents tests possibles	Tests actuellement commercialisées et voies futures de développement
Discussion sur la sensibilité des biotests pour l'évaluation de l'état des eaux douces	Recommandation de tests sensibles pour les eaux peu concentrées/Mise en contact avec utilisateurs
Quelles matrices environnementales peuvent être support des tests ?	Eau/sédiment/EIP
Discussion sur le prix des différents tests	Ordre de grandeur ou fourniture d'un devis provisoire si possible
Recommandation d'une sélection de tests prioritaires à effectuer en adéquation avec les objectifs de la stratégie	

ANNEXE 9 : LOGIGRAMME COMPLET D'ELABORATION DE LA STRATEGIE DE BIOSURVEILLANCE SUR LES MILIEUX AQUATIQUES CONTINENTAUX DU BASSIN ACCESSIBLE AU LIEN CANVA SUIVANT :

[HTTPS://WWW.CANVA.COM/DESIGN/DAGGswRIADk/g9Pz5H8PKyTLiYfLR5zYLW/EDIT](https://www.canva.com/design/DAGGswRIADk/g9Pz5H8PKyTLiYfLR5zYLW/edit)

ANNEXE 10 : FICHE EXPLICATIVE DU TEST ERA-CALUX

Erα-CALUX®

Bioessai in vitro, spécifique des œstrogènes alpha:

- ❖ Culture cellulaire en laboratoire
- ❖ Test de toxicité d'une matrice environnementale prélevée dans le milieu

Principe:

Le test Erα-CALUX s'effectue sur cellules humaines ostéosarcomes U2OS comportant le gène de la luciférase couplé à un gène rapporteur du récepteur des œstrogènes.

Les substances œstrogènes/œstrogènes-like et les œstrogènes humaines Erα se lient aux **ERα intracellulaires**, puis le complexe ligand-récepteur se lie aux **éléments de réponse œstrogénique (ERO)**. Cela engendre l'expression des protéines activées par la transcription des ERO ainsi que de la **luciférase**. De la lumière est ensuite émise, après l'ajout du substrat approprié pour la luciférase (la luciférine). La quantité de lumière produite est proportionnelle de la quantité d'activation du récepteur spécifique du ligand. Ainsi, **plus l'échantillon est concentré en composés œstrogéniques, plus la luminescence sera forte**. Le composé de référence est le **17β-estradiol (E2)**. La toxicité est exprimée en équivalents toxiques (TEQs) ou équivalents bioanalytiques (BEQs).

Schéma illustrant le fonctionnement du test

Support	Lignée cellulaire U2OS (os)
Composé de référence	17β-estradiol
Expression de la toxicité de l'échantillon	Equivalents toxiques en pg TEQ/g d'échantillon
Durée du test	24 heures (temps d'incubation)
Spécificité du test	Liaison spécifique au récepteur ERα
Sensibilité du test	~pg TEQ/g d'échantillon
Matrices	Eau/sédiment/EIP
Volume nécessaire d'échantillon	~1/2 L
Norme/ligne directrice	ISO 19040-3/OECD TG455
Prix du test	~300€

Composés cibles: œstrogènes, perturbateurs endocriniens, bisphénol A, phtalates, pesticides, produits pharmaceutiques, cosmétiques...

Fournisseur : BDS (BioDetection Systems), Pays-Bas

Source des données: Catalogue BDS 2022

ANNEXE 11 : FICHE EXPLICATIVE DU TEST MICROTOX

Microtox®

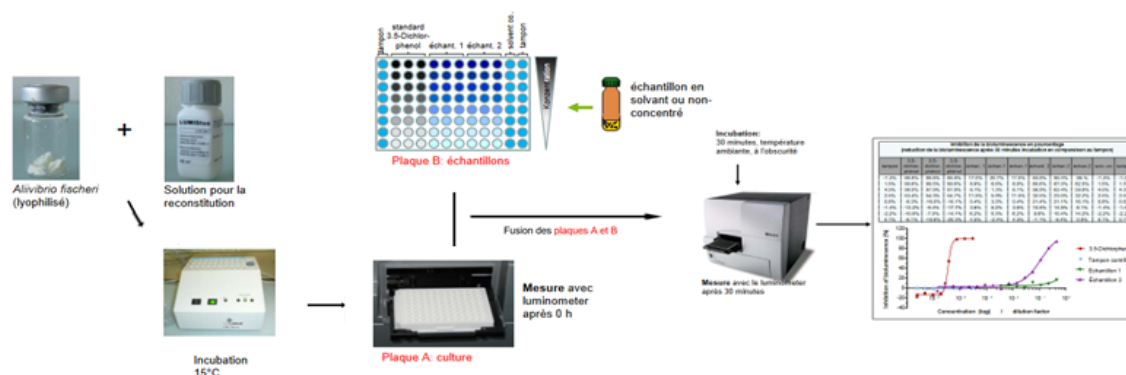
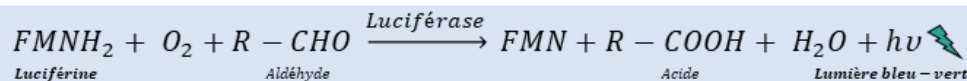
Bioessai de toxicité aigüe in vivo sur bactéries marines *Vibrio fischeri*:

- ❖ Culture cellulaire en laboratoire
- ❖ Test de toxicité d'une matrice environnementale prélevée dans le milieu

Principe:

Le test Microtox s'effectue sur la bactérie *Vibrio fischeri* qui est une bactérie en forme de bâtonnet, non pathogène et omniprésente dans les environnements marins subtropicaux et tempérés. Cette bactérie possède deux substrats : un mononucléotide de flavine réduit (**FMNH₂**) appelé **luciférine**, et un aldéhyde gras à longue chaîne (**R-CHO**). Sous l'action de l'enzyme **luciférase**, le FMNH₂ réagit avec l'O₂ pour donner une substance intermédiaire appelée 4a-péroxy-flavine qui, à son tour, oxyde l'aldéhyde gras en son acide correspondant (**R-COOH**) et en un **complexe luciférase-hydroxyflavine (FMN)**. Cet intermédiaire stable se décompose lentement tout en **émettant une lumière bleu-vert**. La bioluminescence est ainsi directement liée à la respiration (apport d'O₂), et reflète l'état du métabolisme cellulaire. La présence de substances toxiques inhibe le métabolisme bactérien ce qui mène à une atténuation de la luminescence. **L'inhibition de la luminescence correspond ainsi au niveau de toxicité de l'échantillon testé.**

Schéma réactionnel et illustration du déroulé du test :



Source des données: schéma adapté des données issues du site du Centre Ecotox Suisse

Vibrio fischeri bioluminescence inhibition assay for ecotoxicity assessment: A review (Mazhar Abbas et al., 2018)

Effect-based trigger values for in vitro and in vivo bioassays performed on surface water extracts supporting the environmental quality standards (EQS) of the European Water Framework Directive (Beate I. Escher et al., 2018)

Support	<i>Vibrio fischeri</i>
Composé de référence	Ligne de référence virtuelle*
Expression de la toxicité de l'échantillon	Inhibition de la luminescence
Durée du test	30 min
Solvants organiques utilisables	n-hexane, méthane, dichlorométhane ou un mélange acétone et diméthylsulphoxide
Sensibilité du test	Jusqu'à quelques µg/L
Matrices	Eau/sédiment/EIP
Volume nécessaire d'échantillon	~1/2 L
Norme/ligne directrice	NF EN ISO 11348-1,2&3:2009
Prix du test	<100 €/échantillon

*la ligne de référence n'est pas fixée par rapport à un composé de référence spécifique (car tous les composés de référence ont la même sensibilité) mais à un toxique de référence virtuel, qui est un composé générique d'une masse molaire de 300 g/mol et d'un logKow de 3

Composés cibles:

Composés organiques, métaux (cuivre et chrome notamment), pesticides, composés pharmaceutiques

Avantages:

Technique simple et peu coûteuse
Facilité d'application, fiable, reproductible
Inclusion dans batteries de tests recommandées pour industriels
Niveaux d'automatisation et de débit d'échantillons élevés

Inconvénients :

Sous-estime la toxicité des mycotoxines et des antibiotiques
Les réponses antagonistes ou synergiques attribuées de substances hormonales sont mal évaluées.

Fournisseur : TOXEM

ANNEXE 12 : FICHE EXPLICATIVE DU TEST SOS-CHROMOTEST

SOS-Chromotest

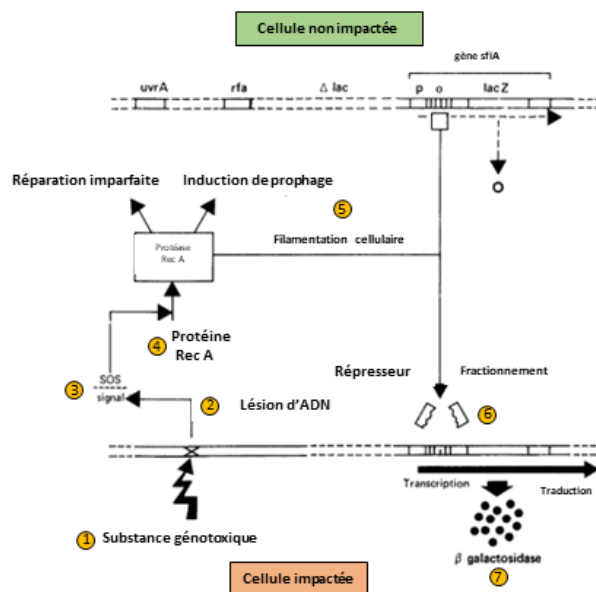
Test sur bactérie E. Coli

- ❖ Culture cellulaire en laboratoire
- ❖ Test de toxicité d'un échantillon de matrices environnementales

Principe:

Le SOS-Chromotest est un test bactérien colorimétrique qui permet la mesure de l'activité d'agents génotoxiques (i.e. causant des dommages à l'ADN). Au sein de la bactérie E. coli, certaines réponses induites par des agents génotoxiques impliquent un ensemble de fonctions appelé les **réponses SOS**. L'induction du gène **sfiA** implique dans l'inhibition de la division des cellules est notamment contrôlé par l'ensemble du système SOS. Le test Chromotest se fait sur la bactérie qui a subi une fusion du gène **lacZ** qui structure la **beta-galactosidase** et le gène **sfiA** qui est une fonction SOS implique dans l'inhibition de la division cellulaire. L'activité de la beta-galactosidase est évaluée après un temps d'incubation de quelques heures. L'induction du gène **sfiA** par des agents génotoxiques va pouvoir être quantifié grâce à la mesure du potentiel d'induction SOS par colorimétrie. Ainsi, plus la couleur est prononcée, et plus l'activité de la beta-galactosidase est forte donc les dommages à l'ADN sont importants.

Schéma de fonctionnement du SOS Chromotest



Support	Bactérie E. coli
Expression de la toxicité	Colorimétrie
Matrices	Eau/sédiments/EIP
Durée du test	24 h

Avantages du support bactérie :

- La réplication et la réparation de l'ADN des bactéries sont bien connues comparé aux cellules eucaryotes.
- Les bactéries sont faciles à manipuler et se développent rapidement.

Avantages du test :

- Une seule souche est nécessaire.
- Une réponse colorimétrique quantitative est obtenue en quelques heures.
- La survie de la souche n'est pas requise et le résultat du test n'est pas obscurci par les conditions nutritives ou microbiennes de l'échantillon.

Composés ciblés = polluants organiques principalement :

- Les nitrosamines
- Les Hydrocarbures aromatiques Polycycliques (HAP)
- Les amines aromatiques
- Les pesticides
- Les solvants organiques
- Les métaux lourds
- Les médicaments anticancéreux

Sources :

- *Investigating the Sources and Fate of Genotoxic Substances in Aquatic Ecosystems with the SOS Chromotest* (Paul A. White et Chantale Côté, 1997)
- *The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures* (Philippe Quillardet and Maurice Hofnung, 1984)
- *The genotoxic hazards of domestic wastes in surface waters* (Paul A. White et Joseph B Rasmussen, 1998)
- *Evaluation of genotoxic effects of surface waters using a battery of bioassays indicating different mode of action* (Yingnan Han et al., 2016)

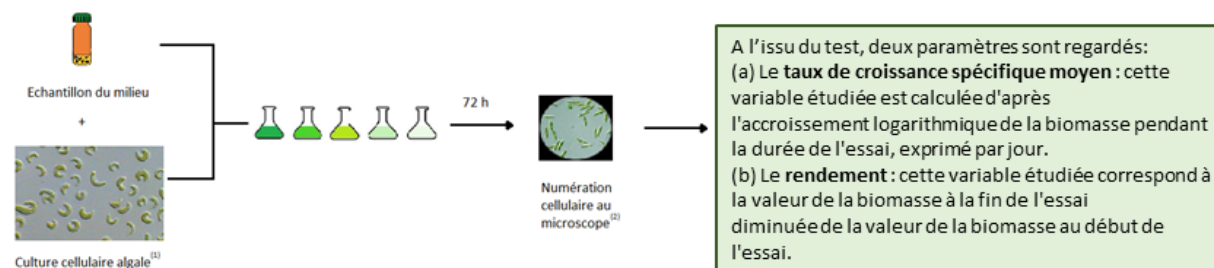
ANNEXE 13 : FICHE EXPLICATIVE DU TEST ALGUES

Test algues	Principe:
Bioessai in vivo: ❖ Culture des algues en laboratoire ❖ Test de toxicité d'une matrice environnementale	Ce bioessai est un test de détermination d'inhibition de la croissance d'algues vertes unicellulaires (<i>Raphidocelis subcapitata</i>). Les algues sont exposées à au moins cinq concentrations de l'échantillon, et trois réplicats par concentration sont effectués. L'exposition doit se faire en conditions adaptées : suffisamment de nutriment et un édairage continu fluorescent. La croissance et l'inhibition de croissance sont quantifiées à partir des mesures de la biomasse (poids sec/volume) en fonction du temps. Pour cela, la numération cellulaire est très utilisée, car plus facile à mettre en place qu'une mesure de biomasse. (Le facteur de conversion numération cellulaire/poids sec étant connu.) Les valeurs sont ensuite comparées à la croissance d'algues témoins non exposées. (1)

(1) Ligne directrice OCDE 201: https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/essai-n-201-algues-essai-d-inhibition-de-la-croissance_9789264069930-fr

Support	<i>Raphidocelis subcapitata</i>
Substance de référence	3,5-dichlorophénol ou dichromate de potassium
Durée du test	72 h
Code SANDRE	1029
Matrices	Eau/sédiment/EIP
Norme/ligne directrice	ISO 8692/OCDE 201
Concentration cellulaire initiale recommandée	$5 \times 10^3 - 10^4$ cellules/mL
Composés ciblés	Métaux et herbicides inhibiteurs de croissance

Schéma du principe général du test algues :



Caractéristiques de la souche *Raphidocelis subcapitata*:

Aspect : Cellules solitaires, incurvées et torsées
 Dimension (L x l) μm : 8-14 x 2-3
 Volume cellulaire ($\mu\text{m}^3/\text{cellule}$) : 40-60
 Poids sec des cellules (mg/cellule) : $2-3 \times 10^{-8}$
 Taux de croissance (/jour) : 1,5 - 1,7

Intérêt :

- Souche facile à cultiver dans différents milieux de culture
- La densité cellulaire se mesure facilement à l'aide d'un compteur électronique de particules ou d'un microscope

Source images : (1) Culture collection of algae and protozoa (CCAP) <https://www.ccap.ac.uk/catalogue/strain-278-4>

(2) Développement d'une méthode de suivi de la densité cellulaire d'une culture de diatomées périphtiques (*Nitzschia palea*) par spectrofluorimétrie (R. Christophe)

ANNEXE 14 : FICHE EXPLICATIVE DU TEST CERIODAPHNIES

Test de toxicité chronique sur Cériodaphnie

Bioessai in vivo :

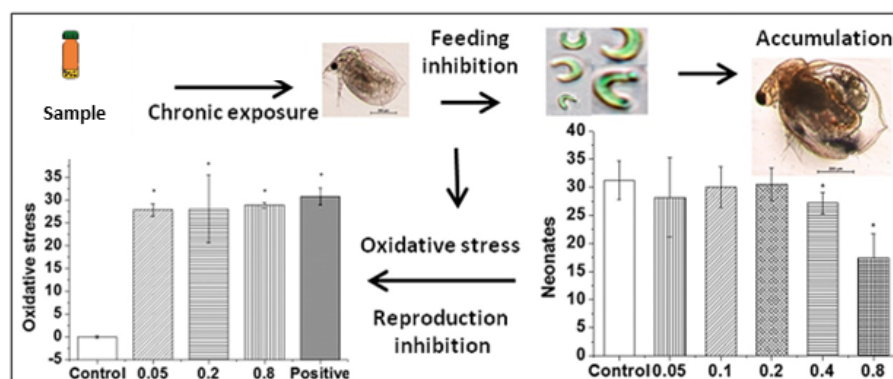
- ❖ Elevage des Cériodaphnie en laboratoire
- ❖ Test de toxicité d'une matrice environnementale prélevée dans le milieu

Principe:

Ce test permet la mesure de la **toxicité chronique** d'un échantillon sur le crustacé *Ceriodaphnia dubia* pendant 7 jours. La toxicité mesurée prend en compte les effets synergiques, antagonistes et additifs des composés chimiques, physiques et biologiques du milieu, qui pourraient affecter la physiologie ou la biochimie des organismes testés.

Des observations journalières de la **mortalité** sont effectuées. Au cours de l'exposition, les toxicités aiguës à 24h, 48h et 96h avec détermination des LC50 sont calculées, à partir des observations d'**inhibition de la croissance de la population** qui traduit l'inhibition de la reproduction.

Schéma illustrant le fonctionnement du test :



Support	<i>Ceriodaphnia dubia</i>
Chronique/Aigu	Chronique
Expression de la toxicité de l'échantillon	Reproduction des Cériodaphnies
Durée du test	7 j
Matrices	Eau/sédiment/EIP
Norme/ligne directrice	NF ISO 20665
Composés cibles	Substances organiques

Avantages:

- par rapport au test classique sur Daphnie: 7j au lieu de 21j -> + rapide et – coûteux
- recommandé par l'USEPA (Agence de protection de l'environnement des États-Unis) pour l'évaluation de la toxicité d'effluents industriels

Fournisseur : Toxem

Source des données:
Daphnia magna and *Ceriodaphnia dubia* Have Similar Sensitivity in Standard Acute and Chronic Toxicity Tests (K. A. Connors et al., 2021)
 Chronic toxicity in *Ceriodaphnia dubia* induced by graphene oxide (Jaqueline P. Souza, 2018)
https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-08/documents/short-term-chronic-freshwater-wet-manual_2002.pdf

ANNEXE 15 : FICHE EXPLICATIVE DU TEST SUR ŒUFS DE POISSON

Test de toxicité aigüe sur œufs de poisson

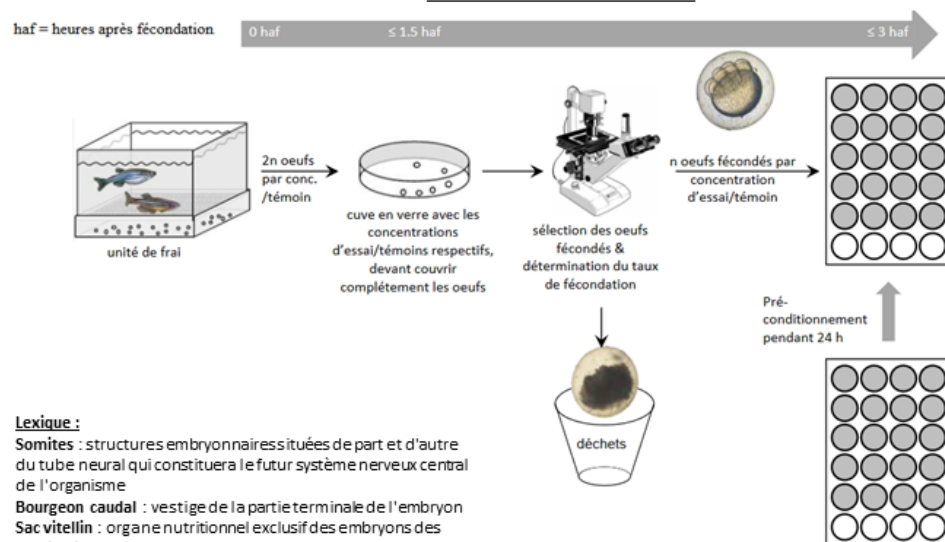
Bioessai in vivo :

- ❖ Elevage des œufs de poisson en laboratoire
- ❖ Test de toxicité d'une matrice environnementale prélevée dans le milieu

Principe:

Les embryons de **poisson-zèbre *Danio rerio*** sont exposés à l'échantillon pendant 48 heures au cours de l'embryogenèse et les effets des substances sur la **survie et le développement normal** de l'embryon sont étudiés. Ce test a fait l'objet de récents développements pour substituer le test de toxicité aigüe sur poisson entier pour des questions éthiques. Les caractéristiques de mort des embryons sont les suivants : la coagulation des œufs fécondés, l'absence de formation de somites, le non-détachement du bourgeon caudal dans le sac vitellin, l'absence de battements du cœur. La CL50 sur une des caractéristiques est ensuite calculée. La **toxicité aigüe** est déterminée en se basant sur au moins l'un de ces quatre paramètres et la dilution sans effet la plus basse (dilution où 90 % des œufs fécondés survivent) est calculée.

Schéma illustrant le déroulé du test



Lexique :

Somites : structures embryonnaires situées de part et d'autre du tube neural qui constituera le futur système nerveux central de l'organisme

Bourgeon caudal : vestige de la partie terminale de l'embryon

Sac vitellin : organe nutritionnel exclusif des embryons des vertébrés pondeurs

Support	Œufs et larves de poisson-zèbre <i>Danio rerio</i>
Chronique/Aigu	Aigu
Composés de référence	dodécylsulfate de sodium (SDS), 3,4-dichloraniline et sulfate de cuivre (CuSO ₄)
Durée du test	48 heures
Sensibilité du test	Quelques microgrammes/L
Matrices	Eau/sédiment/EIP
Volume nécessaire d'échantillon	1,5 L
Norme/ligne directrice	ISO 15088
Prix du test	~500 €

Avantages:

Questions éthiques levées par rapport au test sur poisson entier
Œufs de poissons très sensibles dans les premières 24 heures de développement

Inconvénients:

A coupler avec un test sur organisme entier pour conclure sur la réelle toxicité de l'échantillon testé

Fournisseur : Toxem

Source des données:

- LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES : Poisson, essai de toxicité aigüe au stade embryonnaire OCDE 236 (2013)
- The Sensitivity and Reproducibility of the Zebrafish (*Danio rerio*) Embryo Test for the Screening of Waste Water Quality and for Testing the Toxicity of Chemicals (Franz Lahnsteiner, 2008)
- <https://www.aquaportal.com/dictionnaire/definition/335/sac-vitellin>
- <https://accas-ens-lyon.fr/biotic/develop/contrôle/html/devpois.htm>
- <https://pcadevelop.fr/le-developpement-des-somites/>

ANNEXE 16 : LES COUCHES QGIS UTILISEES POUR LA CARTOGRAPHIE DES STATIONS

Nom de la couche	Objectifs
carto_sélection_finale	Pour faire figurer les différentes stations sélectionnées pour la stratégie
BA_HAB_MANCHE	Pour délimiter l'étendue de la Manche
riv_princ-ba_hab_riv_princ	Pour représenter les rivières principales du bassin (sauf la Seine)
riv_princ-ba_hab_riv_seine	Pour représenter la Seine
SsBassinDCEAdmin	Pour faire apparaître les directions territoriales (sous-bassins)
CircAdminBassin2023	Pour délimiter le bassin Seine-Normandie
Region2023	Pour faire figurer les régions environnantes

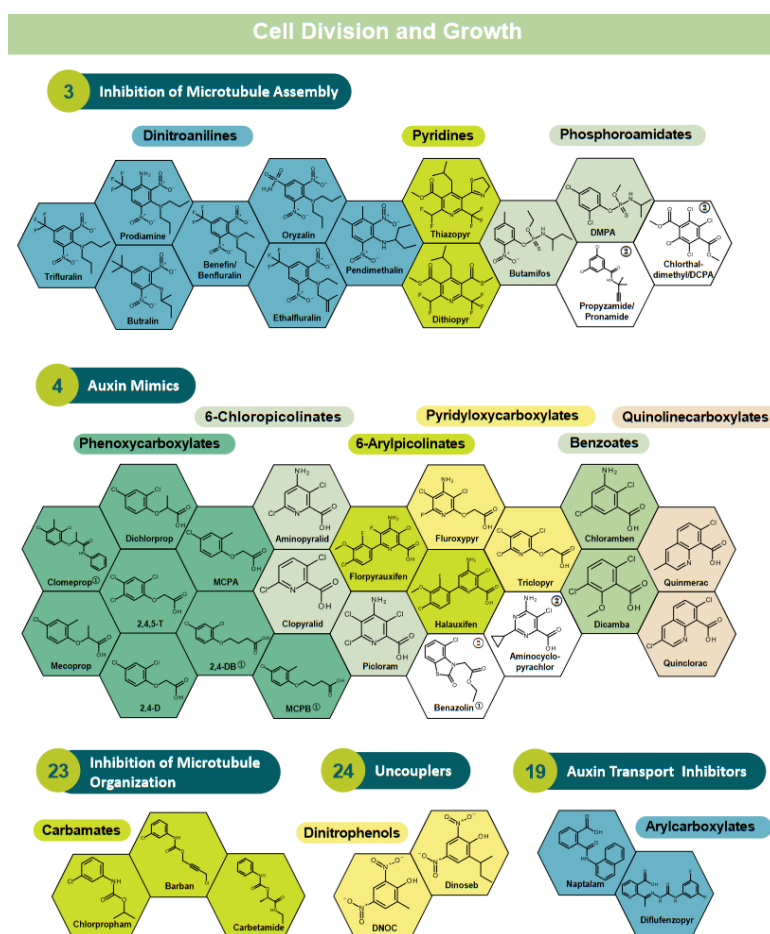
ANNEXE 17 : LISTE DES STATIONS SELECTIONNEES POUR LA STRATEGIE DE BIOSURVEILLANCE

DT	Code station	Nom station	Code masse d'eau	Réseau	X	Y	Type
DSF	3170100	LA MAULDRE A EPONE 1**	FRHR232B	RCS-RCO	613880,719400004	6874839,2153	P9
DSF	3073000	L'ORGE A SAVIGNY-SUR-ORGE 1*	FRHR98	RCS-RCO	652510,999799997	6841387	M9
DSF	3014000	LA SEINE A MONTEREAU-FAULT-YONNE 1	FRHR38	RCS-RCO-RBOU	697015,000399999	6809836,9998	G9
DSF	3085000	LA SEINE A CONFLANS-SAINT-HONORINE 1	FRHR155B	RCO-RBOU	632880,999700002	6876912,9996	TG9
DSF	3125000	LA SEINE A POISSY 1	FRHR230A	RCS-RCO-RBOU	629586,000100002	6871184,9996	TG9
DSF	3141490	L'OISE A CONFLANS-SAINT-HONORINE 1**	FRHR228A	RCO-RCB-RBOU	632085,000399999	6876944,9996	TG9
DSF	3125500	LA SEINE A TRIEL-SUR-SEINE 1	FRHR230A	RCO	626884	6875856,9996	TG9
DSF	3011300	LA SEINE A CONFLANS-SUR-SEINE 1	FRHR33	RCS-RCO	750249,000299998	6827851	G9
DSF	3112480	LA MARNE A CHARENTON-LE-PONT 2**	FRHR154A	RCS-RCO-RBOU	657383,999799997	6857582,0003	G9
DSF	3063000	LA SEINE A ABLON-SUR-SEINE 2	FRHR154A	RCS-RCO-RBOU	657006,999799997	6846663,0002	TG9
DSF	3047445	L'ÉCOLE A ONCY-SUR-ÉCOLE 1	FRHR92	RCS-RCO	661461,000500001	6809760,0001	P9
DSAV	3208000	LA BRESLE A MONCHAUX-SORENG 1*	FRHR159	RCS-RCO	598524,999899998	6985040,0003	M9-A
DSAV	3193000	L'EURE A LERY 1	FRHR261	RCO-RCB-RBOU	569726,000299998	6911223,9997	M9-A
DSAV	3199200	L'ITON A NORMANVILLE 1*	FRHR259	RCS-RCO	564990,000299998	6888284,0005	M9-A
DSAV	3191700	L'EURE A CAILLY-SUR-EURE 1*	FRHR246B	RCS-RCO	569239,999700002	6891993,0002	M9
DSAV	3174000	LA SEINE A POSES 2**	FRHR230C	RCS-RCO-RBOU	571753,999499999	6913714,9995	TG9
DSAV	3225015	LA VILAINE A FATOUVILLE-GRESTAIN 1	FRHR271-H7020600	RCO HYMO	506949,999700002	6928252,9999	P9-A
DSAV	3174695	LA RIVIÈRE DE MÉSANGUEVILLE A DAMPIERRE-EN-BRAY 2	FRHR234-H3109000	RCS-RCO	604896,000200003	6937872,0003	TP9
DSAM	3037650	L'ARMANÇON A TRONCHOY 1**	FRHR65	RCS-RCO	769940,452699997	6757538,6891	M9
DSAM	3023000	LA VOIRE A LASSICOURT 1**	FRHR21	RCS-RCO	810274,000299998	6817520,0002	M9
DSAM	3054000	LE LOING A SOUPPES-SUR-LOING 1**	FRHR88A	RCS-RCO	679808,000299998	6786997,9997	M9
DSAM	3002100	LA SEINE A CHARREY-SUR-SEINE 1*	FRHR2B	RCS-RCO	812548	6761351	M10
DSAM	3033660	LA CURE A ASQUINS 1**	FRHR51	RRP	757015,999799997	6709226,0004	M21
DSAM	3018951	L'AUBE A VINETS 1	FRHR24	RCS-RCO-RBOU	791133,999499999	6826283	G9
DSAM	3039000	L'ARMANÇON A CHENY 1**	FRHR68	RCS-RCO-RBOU	739696,000299998	6761868,9998	G9
DSAM	3055000	LE LOING A MORET-SUR-LOING 1**	FRHR88A	RCO-RCB-RBOU	687085	6807383,9996	M9
DSAM	3005200	LA SEINE A SAINT-LYE 1	FRHR13A	RCO	774637,000100002	6807251,9999	G9
DSAM	3028000	L'YONNE A APPOIGNY 1	FRHR56	RCO	740057,000299998	6753146,0005	G9
DSAM	3022445	LA HÉRONNE A DROYES 1	FRHR20	RCS-RCO	829069,000100002	6826215,0002	P9
DVO	3133937	L'ARONDE A CLAIROIX 1*	FRHR188	RCS-RCO	689328,999700002	6926718,9998	P9
DVO	3149630	L'AINSE A BALHAM 1**	FRHR202A	RCS-RCO	783858,000299998	6933109,0005	G9
DVO	3128190	LE GRAND RIAUX A SAINT-MICHEL 1**	FRHR173	RRP	784166	6981518,0004	P22
DVO	3130490	L'OISE A MEZIERES-SUR-OISE 1*	FRHR178A	RCS-RCO	728777,999700002	6964699,9995	M9
DVO	3149081	L'AINSE A ATTIGNY 1	FRHR199	RCS-RCO-RBOU	814468,000200003	6932336,9997	G9
DVO	3156000	L'AINSE A CHOISY-AU-BAC 1**	FRHR211	RCS-RCO-RBOU	691037	6926308	G9
DVO	3156350	L'AIRE A RARECOURT 1	FRHR195B	RCS-RCO	854948,000200003	6888153,0002	P10
DVO	3144945	LE PERON A MESBRECOURT-RICHECOURT 1	FRHR183-H0182000	RCS-RCO	738096,000299998	6956859,9995	TP9
DVO	3128987	LE LERZY A SORBAIS 1	FRHR176-H0042000	RCO	764190,000500001	6979358,0004	TP9
DBN	3272685	LA SÉLUNE A SAINT-AUBIN-DE-TERREGATTE 1**	FRHR351	RCS-RCO	383604,326399997	6841489,0723	M12-B
DBN	3234650	L'ORNE A SERANS 1**	FRHR295	RCS-RCO	466672,321599998	6853698,8735	M9
DBN	3257800	LA SAIRE A BRILLEVAULT 1*	FRHR333	RCS	381716,5568	6954905,9321	P12-B
DBN	3231000	LA DIVES A SAINT-SAMSON 1	FRHR289A	RCS-RCO-RBOU	469351,441500001	6902903,1693	M9
DBN	3251190	LA VIRE A BAUDRE 1**	FRHR317	RCB-RBOU	401195,973700002	6895115,2437	G12
DBN	3246300	LA MUE A REVIERS 1	FRHR312	RCS-RCO	447970,126900002	6916191,7893	TP9
DBN	3237800	L'ORNE A LOUVIGNY 1**	FRHR307	RCO-RCB-RBOU	453296,9309	6900000,9065	G9
DBN	3226300	LA TOUQUES A SAINT-MARTIN-DE-LA-LIEUE 1*	FRHR275	RCS	496783,711300001	6893081,6432	P9
DBN	3228000	LA TOUQUES A SAINT-MARTIN-AUX-CHARTRAINS 1	FRHR277	RCB-RBOU	492554,136699997	6915350,434	M9
DBN	3227296	LE PRÉ D'AUGE A MANERBE 1	FRHR277-I0320600	RCS	493622,111299999	6900923,5243	TP9
DBN	3234215	L'HOUAY A MOULINS-SUR-ORNE 1	FRHR295-I2129000	RCS-RCO	474967,766099997	6854168,2352	TP9
DBN	3226720	L'ORBIQUET A BEUVILLERS 1	FRHR276	RCO	499783,999600001	6895577,0002	M9
DBN	3228965	L'ANTE A MORTEAUX-COULIBOEUF 1	FRHR281-I1210600	RCO	474187,795500003	6873400,9346	TP9
DVM	3086100	LA MARNE A RIAUCOURT 1*	FRHR106A	RCS-RCO-RRP	859775,302100003	6788638,4887	M10
DVM	3094700	LA JOUX A ROCHES-BETAINCOURT 1*	FRHR111-F5180600	RRP	868735	6802956,9998	TP10
DVM	3091000	LA MARNE A FRIGNICOURT 1**	FRHR113B	RCS-RCO-RBOU	816816,000399999	6845675	G9
DVM	3098000	LA SAULX A VITRY-EN-PERTHOIS 1*	FRHR127	RCS-RCO-RBOU	819538,000299998	6850736,9996	M9
DVM	3109000	LA MARNE A LA FERTE-SOUS-JOJARRE 1**	FRHR137	RCS-RCO-RBOU	709127,000399999	6871646,0003	G9
DVM	3105946	LA SEMOIGNE A VERNEUIL 1	FRHR138	RCS	749266,000200003	6888277,0004	P9
DVM	3096650	LA CHÉE A MERLAUT 1	FRHR125	RCS	823504,000399999	6853255,0003	M9
DVM	3085584	LE JULIEN A LANGRES 2	FRHR104A	RCO	876036,999600001	6754791,0002	P10
DVM	3101600	L'ORNAI A REVIGNY-SUR-ORNAI 3	FRHR123	RCO	844281,999799997	6860178,0001	P9

*stations gammarees suivies sur les années paires

**stations gammarees suivies sur les années impaires

ANNEXE 18 : CLASSES DES HERBICIDES ETABLIES PAR LE HRAC - HERBICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE - ET DETAIL DES SUBSTANCES AYANT UNE ACTION SUR LA DIVISION CELLULAIRE ET LA CROISSANCE



HRAC	Legacy HRAC	Mode of Action
1	A	Inhibition of ACCase
2	B	Inhibition of ALS
3	K1	Inhibition of microtubule assembly
4	O	Auxin mimics
5	C1,2	Inhibition of photosynthesis PS II – Serine 264 binders
6	C3	Inhibition of photosynthesis PS II – Histidine 215 binders
9	G	Inhibition of EPSP synthase
10	H	Inhibition of glutamine synthetase
12	F1	Inhibition of PDS
13	F4	Inhibition of DOXP synthase
14	E	Inhibition of PPO
15	K3	Inhibition of VLCFAs
18	I	DHPS inhibition

HRAC	Legacy HRAC	Mode of Action
19	P	Auxin transport inhibitors
22	D	PS I electron diversion
23	K2	Inhibition of microtubule organization
24	M	Uncouplers
27	F2	Inhibition of HPPD
28	none	Inhibition of dihydroorotate dehydrogenase
29	L	Inhibition of cellulose synthesis
30	Q	Inhibition of fatty acid thioesterase
31	R	Inhibition of serine threonine protein phosphatase
32	S	Inhibition of solanesyl diphosphate synthase
33	T	Inhibition of homogentisate solanesyltransferase
34	F3	Inhibition of lycopene cyclase
Ø	Z	Unknown mode of action

ANNEXE 19: HERBICIDES PARMI LES 105 VENDUS SUR LE BASSIN SEINE-NORMANDIE AYANT UNE ACTION SUR LA CROISSANCE ET LA DIVISION CELLULAIRE DES ALGUES ET PLANTES AQUATIQUES

Mode d'Action	Classe chimique	Substance	Classe HRAC	Quantité vendue sur le bassin (kg/an)	Rang (en fonction quantité vendue)
Auxin Mimics	Phenoxy-carboxylates	2,4-D	4	181728,493	15
Auxin Mimics	Phenoxy-carboxylates	2,4-DB	4	8757,8	63
Auxin Mimics	6-Chloropicolines	Aminopyralid	4	3539,29201	78
Inhibition of Microtubule Organization	Carbamates	Carbetamide	23	11503,5327	51
Inhibition of Microtubule Organization	Carbamates	Chlorprophame	23	11643,7493	50
Auxin Mimics	6-Chloropicolines	Clopyralid	4	37948,4737	34
Auxin Mimics	Benzoates	Dicamba	4	106839,265	25
Auxin Mimics	Phenoxy-carboxylates	Dichlorprop-p	4	95033,866	26
Auxin Mimics	Pyridyloxy-carboxylates	Fluroxypyr	4	108850,952	23
Auxin Mimics	6-Arylpicolines	Halalufen-methyl	4	2370,36183	83
Auxin Mimics	Phenoxy-carboxylates	2,4-mcpa	4	282512,88	12
Auxin Mimics	Phenoxy-carboxylates	2,4-mcpb	4	6056,4	73
Auxin Mimics	Phenoxy-carboxylates	Mecoprop (mcpp)	4	1,3512	103
Inhibition of Microtubule Assembly	Dinitroanilines	Oryzalin	3	8394,44322	65
Inhibition of Microtubule Assembly	Dinitroanilines	Pendiméthaline	3	1269993,6	3
Auxin Mimics	6-Chloropicolines	Piclorame	4	3570,29616	77
Inhibition of Microtubule Assembly	Benzamides	Propyzamide	3	573214,665	7
Auxin Mimics	Pyridyloxy-carboxylates	Triclopyr	4	21956,4965	40
Inhibition of Microtubule Assembly	Dinitroanilines	Trifluraline	3	114,096	94

Source : AESN et classification des modes d'action des herbicides du HRAC-Herbicide resistance Action Committee

ANNEXE 20 : HERBICIDES VENDUS SUR LE BASSIN CIBLANT L'INHIBITION DU PSII (CLASSES 5 ET 6 DU HRAC)

Herbicides PSII	Classe HRAC	Qtot (kg/an)	Rang
Pyridate	6	11261,973	53
Bromoxynil	6	32577,2819	35
Bentazone	6	133428,163	17
Terbuthylazine	5	116586,324	20
Chlorotoluron	5	865956,302	4
Isoproturon	5	384,5	90
Linuron	5	205,548	93
Metobromuron	5	112716,364	22
Metamitron	5	552673,397	8
Metribuzine	5	42243,0175	33
Lenacile	5	64620,904	29
Desmedipham	5	29083,5151	37
Phenmedipham	5	173288,385	16

Couleur appliquée en fonction du rang de tonnage :
>80
40-80
15-40
5-15
<5

ANNEXE 21 : VALEURS D'EBT ECOTOXIQUES PROPOSEES POUR DIFFERENTS BIOESSAIS ET CONCENTRATIONS EFFECTIVES D'APRES (PETA A. NEALE, 2023)

Endpoint	Assay name	Reference compound	EC of reference compound	Human EBT-BEQ (drinking and recycled water for indirect potable reuse)	Ecological EBT-BEQ (surface water)
Receptor-mediated effects					
Estrogenic activity	ERα CALUX	17β-Estradiol	EC10 0.19 ng/L ⁽¹⁾	0.2 ng/L EEQ ⁽²⁾	0.10 ng/L EEQ ⁽¹⁾
				0.25 ng/L EEQ ⁽⁴⁾	0.5 ng/L EEQ ⁽⁴⁾
				3.8 ng/L EEQ ⁽⁵⁾	0.28 ng/L EEQ ⁽⁶⁾
	ERα GeneBLAzer	17β-Estradiol	EC10 1.23 ng/L ⁽⁸⁾	1.8 ng/L EEQ ⁽²⁾	0.2-0.4 ng/L EEQ ⁽⁷⁾
					0.34 ng/L EEQ ⁽¹⁾
					0.24 ng/L EEQ ⁽⁶⁾
					0.01-0.20 ng/L EEQ ⁽⁹⁾
	E-SCREEN	17β-Estradiol	EC10 0.21 ng/L ⁽⁴⁰⁾	0.9 ng/L EEQ ⁽²⁾	0.1-0.3 ng/L EEQ ⁽⁷⁾
	HeLa-9903	17β-Estradiol	EC10 2.7 ng/L ⁽¹⁾	0.6 ng/L EEQ ⁽²⁾	1.01 ng/L EEQ ⁽¹⁾
					0.18 ng/L EEQ ⁽⁶⁾
	MELN	17β-Estradiol	EC10 0.68 ng/L ⁽¹⁾		0.37 ng/L EEQ ⁽¹⁾
					0.56 ng/L EEQ ⁽⁶⁾
					0.2-0.3 ng/L EEQ ⁽⁷⁾
	VM7/Luc ER TA	17β-Estradiol	EC10 2.4 ng/L ⁽¹⁾		0.62 ng/L EEQ ⁽¹⁾
	A-YES	17β-Estradiol	EC10 1.5 ng/L ⁽¹⁾		0.56 ng/L EEQ ⁽¹⁾
	3d YES	17β-Estradiol	EC10 9.1 ng/L ⁽¹⁾	12 ng/L EEQ ⁽²⁾	0.88 ng/L EEQ ⁽¹⁾
Androgenic activity	ISO-LYES (Routledge & Sumpter strain)	17β-Estradiol	EC10 1.5 ng/L ⁽¹⁾		0.2-0.4 ng/L EEQ ⁽⁷⁾
					0.97 ng/L EEQ ⁽¹⁾
	ISO-LYES (McDonnell strain)	17β-Estradiol	EC10 8.7 ng/L ⁽¹⁾		1.07 ng/L EEQ ⁽¹⁾
	pYES	17β-Estradiol	N/A		0.50 ng/L EEQ ⁽⁶⁾
	EASZY (Cyp19a1b-GFP)	17β-Estradiol	EC10 19 ng/L ⁽⁴¹⁾		2.15 ng/L EEQ ⁽¹⁾
	REACTIV (unspiked)	17β-Estradiol	EC10 62 ng/L ⁽¹⁾		0.80 ng/L EEQ ⁽¹⁾
	AR CALUX	DHT	EC10 3.4 ng/L ⁽¹⁰⁾	4.5 ng/L DHT EQ ⁽³⁾	
				11 ng/L DHT EQ ⁽⁵⁾	
	AR GeneBLAzer	DHT	EC10 41 ng/L ⁽¹⁰⁾	32 ng/L DHT EQ ⁽⁵⁾	15-41 ng/L DHT EQ ⁽⁹⁾
	Anti-AR CALUX	Flutamide	ECSRP20 87 μg/L ⁽¹⁾	4.8 μg/L flutamide EQ ⁽²⁾	14.4 μg/L flutamide EQ ⁽¹⁾
Antiandrogenic activity					25 μg/L flutamide EQ ⁽⁶⁾
	Anti-AR GeneBLAzer	Flutamide	ECSRP20 152 μg/L ⁽¹⁾		3.28 μg/L flutamide EQ ⁽¹⁾
	Anti-MDA kb2	Flutamide	ECSRP20 57 μg/L ⁽¹⁾		3.46 μg/L flutamide EQ ⁽¹⁾
	Anti-AR RADAR (spiked)	Flutamide	ECSRP20 22 μg/L ⁽¹⁾		3.63 μg/L flutamide EQ ⁽¹⁾
	GR CALUX	Dexamethasone	EC10 45 ng/L ⁽¹⁰⁾	150 ng/L dexamethasone EQ ⁽²⁾	100 ng/L dexamethasone EQ ⁽⁴⁾
Glucocorticoid activity				47.9 ng/L dexamethasone EQ ⁽³⁾	
				21 ng/L dexamethasone EQ ⁽⁵⁾	
	GR GeneBLAzer	Dexamethasone	EC10 152 ng/L ⁽¹¹⁾		0.1-7.3 ng/L dexamethasone EQ ⁽⁹⁾
	PR CALUX	Levonorgestrel	EC10 6.7 ng/L ⁽¹⁰⁾	724 ng/L levonorgestrel EQ ⁽⁴⁵⁾	
	PR GeneBLAzer	Levonorgestrel	EC10 3.0 ng/L ⁽¹¹⁾	2.5 ng/L levonorgestrel EQ ⁽⁴⁵⁾	286-407 ng/L levonorgestrel EQ ⁽⁹⁾
Antiprogestagenic activity	Anti-PR CALUX	Endosulfan	ECSRP20 64 500 μg/L ⁽¹⁾		1967 ng/L endosulfan EQ ⁽¹⁾
	TTR RLBA	Thyroxine	EC10 4.8 μg/L ⁽⁴¹⁾		0.06 μg/L thyroxine EQ ⁽¹⁾
	TTR FITC-T4	Thyroxine	EC10 8.7 μg/L ⁽⁴¹⁾		0.49 μg/L thyroxine EQ ⁽¹⁾
	XETA (unspiked)	Thyroxine	EC10 10 400 ng/L ^(41,2)		17 ng/L thyroxine EQ ⁽¹⁾
	Anti-TR-LUC-GH3	Bisphenol A	ECSRP20 3173 μg/L ⁽¹⁾		0.60 μg/L bisphenol A EQ ⁽¹⁾
	Photosynthesis inhibition	Diuron	EC10 0.40 μg/L ⁽⁴²⁾	0.6 μg/L diuron EQ ⁽²⁾	0.07 μg/L diuron EQ ⁽¹⁾
	ACHe inhibition	Parathion	EC10 6.2 μg/L ⁽⁴²⁾	26 μg/L parathion EQ ⁽²⁾	
	Xenobiotic metabolism				
	AhR activity	AhR-cisFACTORIAL	ECIR1.5 241 μg/L ⁽²⁾	18 μg/L carbaryl EQ ⁽²⁾	6.21 ng/L B[a]P EQ ⁽¹⁾
	PAH CALUX	Carbaryl	EC10 50 ng/L ⁽¹⁾	24.4 ng/L B[a]P EQ ⁽³⁾	150 ng/L B[a]P EQ ⁽⁴⁾
PPARy activity					62.1 ng/L B[a]P EQ ⁽¹³⁾
	DR CALUX	TCDD	EC10 0.45 ng/L ⁽⁴⁴⁾		0.05 ng/L TCDD EQ ⁽⁴⁾
	H4L1.1c4 AhR assay	B[a]P	EC10 211 ng/L ⁽¹⁾		6.36 ng/L B[a]P EQ ⁽¹⁾
					4.3 ng/L B[a]P EQ ⁽¹⁵⁾
					250 ng/L B[a]P EQ ⁽¹⁴⁾
	PPARy CALUX	Rosiglitazone	EC10 3574 ng/L ⁽¹⁾		10 ng/L rosiglitazone EQ ⁽⁴⁾
	PPARy GeneBLAzer	Rosiglitazone	EC10 166 ng/L ⁽¹⁵⁾		36 ng/L rosiglitazone EQ ⁽¹⁾
					19 ng/L rosiglitazone EQ ⁽¹⁵⁾
					1200 ng/L rosiglitazone EQ ⁽¹⁴⁾
	PXR activity	PXR-cisFACTORIAL	ECIR1.5 681 μg/L ⁽²⁾	59 μg/L metolachlor EQ ⁽²⁾	272 μg/L DEHP EQ ⁽¹⁾
PXR activity	PXR CALUX	Metolachlor	EC10 155 μg/L ⁽¹⁾		19 μg/L DEHP EQ ⁽⁴⁾
					34 μg/L DEHP EQ ⁽¹³⁾
					16.3 μg/L DEHP EQ ⁽¹⁾
	HGSLN-hPXR	DEHP	EC10 108 μg/L ⁽¹⁾		
	Adaptive stress response				
	Oxidative stress response	AREc32	Dichlorvos	ECIR1.5 1700 μg/L ⁽¹⁷⁾	156 μg/L dichlorvos EQ ⁽¹⁾
					140 μg/L dichlorvos EQ ⁽¹⁵⁾
					1400 μg/L dichlorvos EQ ⁽¹⁴⁾
		Nrf2 CALUX	Dichlorvos	ECIR1.5 880 μg/L ⁽¹⁾	26 μg/L dichlorvos EQ ⁽¹⁾
					6.2 μg/L dichlorvos EQ ⁽⁴⁾
Apical effects in well plate-based in vivo assays	ARE GeneBLAzer	Dichlorvos	ECIR1.5 3867 μg/L ⁽¹⁾		392 μg/L dichlorvos EQ ⁽¹⁾
	Bacterial toxicity	Microtox	Virtual baseline toxicant	EC10 1370 μg/L ⁽⁴¹⁾	4100-4392 μg/L baseline TEQ ⁽¹⁸⁾
	Algal growth	72-h algal growth inhibition	Diuron	EC10 3.2 μg/L ⁽⁴¹⁾	1264 μg/L baseline TEQ ⁽¹⁾
		24-h synchronous algae reproduction	Diuron	EC10 0.86 μg/L ⁽⁴¹⁾	0.12 μg/L diuron EQ ⁽¹⁾
		Combined algae assay (24-h growth)	Diuron	EC10 4.3 μg/L ⁽⁴¹⁾	0.11 μg/L diuron EQ ⁽¹⁾
					0.13 μg/L diuron EQ ⁽¹⁾
	Mortality	Fish embryo toxicity (48 h)	Bisphenol A	EC10 1820 μg/L ⁽⁴¹⁾	276 μg/L bisphenol A EQ ⁽¹⁾
		Fish embryo toxicity (96-120 h)	Bisphenol A	EC10 637 μg/L ⁽⁴¹⁾	183 μg/L bisphenol A EQ ⁽¹⁾

En rouge, les bioessais sélectionnés pour l'élaboration de la stratégie

Résumés français, anglais et mots clés

La surveillance DCE incombe aux agences de l'eau une surveillance chimique et écologique des eaux de surface sur un grand nombre de paramètres mais qui présente néanmoins des limites, puisqu'elle ne permet pas de surveiller l'impact des substances sur les organismes, et n'évalue pas les effets de mélange notamment. Ainsi, les outils d'écotoxicologie, par approche terrain (biomarqueur) ou en laboratoire (bioessai) peuvent permettre d'évaluer les effets des contaminants sur la faune et la flore aquatique. Cette étude vise à proposer une stratégie de biosurveillance sur le bassin Seine-Normandie à l'aide d'outils écotoxicologiques. L'objectif de la stratégie est de mettre en place une batterie, pratique, facile à mettre en œuvre et peu coûteuse pour un déploiement sur tout le bassin. Les approches et méthodes ont été sélectionnées à partir de la littérature et de rencontres avec des experts de la biosurveillance. Les stations ont été choisies afin d'obtenir une image représentative du bassin. La batterie proposée se compose ainsi de 6 tests : 4 de toxicité générale sur crustacé (Cériodaphnie), vertébrés (œufs de poisson), algues et bactéries (E. coli), 1 de génotoxicité (SOS Chromotest) et 1 d'activité oestrogénique (ER- α CALUX). Le réseau d'échantillonnage comprend 60 stations qui seront investiguées jusqu'à 6 fois par an. La stratégie ainsi proposée comporte certaines limites : elle ne fait pas appel à des méthodes de mesures in situ ce qui implique une perte de réalisme environnemental, la qualité des sédiments n'est pas étudiée, certaines valeurs seuils sont mal définies et l'interprétation des données des outils choisis reste difficile. Ce projet a néanmoins le mérite de proposer une batterie robuste, qui pourra faire écho au sein d'autres agences de l'eau.

Under the WFD, the water agencies are responsible for chemical and ecological monitoring of surface waters for a large number of parameters, but it presents some limitations, as it does not evaluate the impact of substances on organisms, nor does it assess the effects of mixtures. Ecotoxicology tools, either in situ (biomarkers) or in the laboratory (bioassays), can be used to assess the effects of contaminants on aquatic flora and fauna. The aim of this study is to propose a biomonitoring strategy for the Seine-Normandie basin using ecotoxicological tools. The aim of the strategy is to set up a battery that is practical, easy to implement and inexpensive for deployment throughout the basin. The approaches and methods have been selected from the literature and from meetings with biomonitoring experts. The stations were chosen to provide a representative picture of the basin. The proposed set of tests comprises 6 tests : 4 for general toxicity on crustaceans (Ceriodaphnia), vertebrates (fish eggs), algae and bacteria (E. coli), 1 for genotoxicity (SOS Chromotest) and 1 for oestrogenic activity (ER- α CALUX). The sampling network comprises 60 sites that will be investigated up to 6 times a year. The strategy has still some limites : it does not include in situ measurement methods, which implies a loss of environmental realism, sediment quality is not studied, some threshold values are poorly defined and interpretation of the data from the chosen tools remains difficult. Nevertheless, this project has the merit of proposing a robust set of tools that could be used by other water agencies.

Biosurveillance, écotoxicologie, bioessais, biomarqueurs, milieux aquatiques continentaux, batterie, réseau, échantillonnage