

centre ecotox news

15. édition novembre 2017

Centre Suisse d'écotoxicologie appliquée | Eawag-EPFL



Œstrogènes dans le milieu aquatique –
screening et évaluation du risque
pour les besoins européens _____ 3

Immunotoxicité des composés
chimiques : un impact écotoxicologique
sous-estimé _____ 6

Sur quelle période échantillonner
les cours d'eau ? _____ 8

Des progrès dans l'évaluation de
la qualité des sédiments _____ 9

Les brèves du Centre Ecotox _____ 10

L'écotoxicologie dans le monde _____ 12

Editorial

Biotests et surveillance environnementale



Dr. Inge Werner,
directrice du Centre Ecotox

La directive cadre européenne sur l'eau (DCE) entrée en vigueur en 2000 doit être révisée et complétée dans deux ans. Cette directive offre à l'Union européenne un cadre juridique unifié pour une politique de l'eau axée sur la durabilité et le respect de l'environnement. Elle vise ainsi un bon état écologique et chimique des eaux de surface et prévoit dans cette optique une observation régulière des communautés de macroinvertébrés benthiques (« état écologique ») et des concentrations de 45 substances prioritaires évaluées à l'aune de normes de qualité environnementale spécifiques (« état chimique »). Les résultats de cette surveillance montrent que, jusqu'à présent, les objectifs fixés n'ont souvent pas été atteints. L'état biologique, notamment, laisse encore à désirer et ne correspond généralement pas à l'état chimique.

Mais quelle importance pour la Suisse ? Tout d'abord, et comme une personne l'a très justement fait remarquer récemment, « il y a beaucoup d'UE autour de la Suisse ». Une harmonisation et un ajustement des stratégies de protection des eaux au-delà des fron-

tières est donc également de l'intérêt de la Suisse. Par ailleurs, les résultats obtenus jusqu'à présent révèlent l'insuffisance d'une surveillance basée sur un petit nombre de substances prioritaires pour l'évaluation de la pollution des eaux. C'est pourquoi la Suisse prévoit pour l'année prochaine l'introduction de normes de qualité environnementale pour plus de 50 composés importants. Pour certains micropolluants ayant une forte implication écotoxicologique comme les œstrogènes stéroïdes, les techniques d'analyse chimique disponibles ne permettent cependant pas toujours une détection à des concentrations pouvant être comparées aux normes. Les approches basées sur les effets, autrement dit les biotests, peuvent apporter des solutions. Le Centre Ecotox a donc coordonné un projet à l'échelle de l'UE pour comparer les résultats de l'analyse parallèle de plusieurs œstrogènes par la chimie analytique et par différents biotests (p. 3). Ces derniers détectent avec une grande sensibilité non seulement les effets biologiques de mélanges de substances connues mais également ceux de composés ou métabolites non identifiés.

La meilleure façon d'observer l'action toxique directe des polluants sur les organismes aquatiques consiste à réaliser des biotests avec des organismes vivants. Or l'expérimentation animale doit être évitée pour des raisons éthiques et elle demande des efforts logistiques très importants. Les tests *in vitro*, en revanche, sont beaucoup plus légers et présentent l'avantage de pouvoir, dans bien des cas, indiquer la présence

de certaines familles de polluants comme les œstrogènes ou les herbicides. Malheureusement, le nombre de modes d'action ainsi détectables est encore limité : des biotests reconnus existent ainsi pour les herbicides, les œstrogènes et les androgènes et pour les composés génotoxiques. Pourtant, de nombreuses substances agissent sur les systèmes nerveux et immunitaire, entraînant une perte de fitness écologique chez les sujets touchés. L'arsenal disponible pour la surveillance environnementale doit donc être augmenté de biotests permettant de les détecter convenablement. Dans cette optique, le Centre Ecotox mène une étude avec l'université de Berne pour déterminer les tests les mieux adaptés à la mise en évidence des effets immunotoxiques (p. 6).

Mais la qualité des eaux de surface est aussi bien influencée par les polluants présents dans le compartiment sédimentaire que par ceux présents dans l'eau. Or la Suisse ne dispose pas encore de méthodes standardisées pour la surveillance de la qualité de ce compartiment. Cette situation devrait bientôt s'améliorer : le Centre Ecotox travaille à l'élaboration de recommandations méthodologiques pour les contrôles de routine à la charge des cantons et pour l'appréciation de la qualité des sédiments. Pour savoir où nous en sommes, rendez-vous à la page 8.

Bien cordialement



Œstrogènes dans le milieu aquatique – screening et évaluation du risque pour les besoins européens

Dans le cadre d'un projet européen, la contamination d'échantillons d'eau par les œstrogènes a été étudiée à l'aide de méthodes biologiques et chimiques. L'étude a montré que les biotests basés sur les cultures cellulaires se prêtaient particulièrement bien à la détection des substances devant faire l'objet d'une surveillance à l'échelle européenne.

Les perturbateurs endocriniens peuvent provoquer une féminisation des poissons, dérégler leur système immunitaire et affecter d'autres organismes aquatiques sensibles. Ces faits ont été démontrés dans de nombreuses études scientifiques. Les œstrogènes stéroïdes tels que le 17 β -estradiol (E2), le 17 α -éthynylestradiol (EE2) et le métabolite estrone (E1) sont particulièrement actifs. Alors que l'E1 et l'E2 sont naturellement produits chez les humains et les animaux, l'EE2 est une hormone de synthèse utilisée dans les méthodes de contraception orale. Étant donné que ces composés se déversent en continu dans les eaux usées puis dans le milieu aquatique et que l'E2 et l'EE2 présentent une forte activité biologique, ils peuvent affecter des populations entières à des concentrations extrêmement faibles. Face à ce constat, l'UE a inscrit ces trois substances sur la liste européenne de vigilance pour les substances potentiellement dangereuses pour l'eau. Les concentrations des composés de cette liste doivent être régulièrement mesurées afin de générer des données permettant de déterminer le risque qu'ils représentent pour l'environnement aquatique et, le cas échéant, de les réglementer.

Le problème des seuils de détection

L'analyse chimique des substances se heurte encore souvent à des problèmes de sensibilité des techniques. En effet, les limites de détection doivent être au moins du niveau des valeurs limites écotoxicologiques proposées pour les expositions chroniques (normes de qualité environnementale, NQE) et dont le dépassement indique l'existence d'un risque d'effets néfastes sur les organismes: dans l'UE, les NQE proposées sont de 3600 pg/l pour l'E1, de 400 pg/l pour l'E2 et de 35 pg/l pour d'EE2.

« Les méthodes biologiques permettent de détecter les composés à des concentrations extrêmement faibles, indique Robert Kase du Centre Ecotox qui coordonne le projet. Elles pourraient donc être employées pour les screenings et venir compléter les analyses chimiques dans les programmes de surveillance. » Par ailleurs, les biotests présentent l'avantage de ne pas exiger de connaissances préalables sur les polluants présents dans l'échantillon étudié et de

mesurer la réponse biologique aux mélanges de substances ayant le même mode d'action, qu'elles soient connues ou inconnues.

Les biotests utilisés pour détecter les œstrogènes sont en général des tests sur lignées cellulaires dans lesquels la fixation des substances sur le récepteur humain des œstrogènes est visualisée grâce à un gène rapporteur. Les cellules employées peuvent être des cellules de levure, des cellules humaines ou des cellules d'autres mammifères. « Ces systèmes sont très performants pour la détermination des concentrations infimes d'œstrogènes dans les eaux de surface, explique Robert Kase. Les autorités européennes hésitent cependant encore à les recommander pour les programmes de surveillance de la DCE en raison, notamment, d'un manque de données systématiques prouvant leur applicabilité pour les screenings et le monitoring. »

Collaboration et échantillonnage à l'échelle européenne

Face à cette situation, le Centre Ecotox s'est associé à l'Istituto Superiore di Sanità (IT) et à la Commission européenne pour coordonner un projet international visant à évaluer la qualité des biotests sur lignées cellulaires pour la mise en évidence de l'EE2, de l'E2 et de l'E1 dans les cours d'eau et les effluents. Dans ce projet, des équipes de Suisse, d'Allemagne, d'Italie, de France, de Tchèque et des Pays-Bas ont comparé les analyses chimiques et biologiques de 16 échantillons d'eau de rivière et de 17 échantillons d'eaux usées prélevés dans toute l'Europe. Trois laboratoires ont analysé les échantillons par chromatographie liquide haute résolution couplée à la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) avec ionisation par électrospray (ionisation ESI). Cinq laboratoires ont effectué des tests de liaison aux récepteurs avec lignées cellulaires pour détecter les composés œstrogéniques, à savoir l'ER-CALUX et l'ER-GeneBLAzer commerciaux et les tests non commerciaux MELN, HeLa-9903 et pYES. Le test de pYES fait appel à des cellules de levure, les autres à des cultures de cellules humaines.

« Les analyses chimiques n'ont permis de mesurer les concentrations d'E2 et d'EE2 que dans une partie des échantillons, rapporte



Robert Kase. Les limites de détection étaient souvent trop élevées. » Ainsi, l'E2 n'a pu être détecté dans les concentrations voulues que dans 4 % des échantillons d'eau de rivière. Pour l'EE2, cette proportion atteignait 44 %. Les problèmes de détection étaient encore plus prononcés dans les échantillons d'effluents étant donné que les eaux usées contiennent davantage de polluants susceptibles de perturber les analyses. Les biotests de liaison aux récepteurs étaient quant à eux en mesure de détecter les œstrogènes à des concentrations environ dix fois inférieures aux seuils de détection des méthodes d'analyse chimique. Pour le reste, une bonne concordance a été obtenue avec les concentrations mesurées par voie chimique et par voie biologique et avec les résultats des différents essais biologiques.

Risque dû aux cocktails chimiques

Quelles méthodes convient-il donc d'utiliser pour obtenir la meilleure évaluation de la qualité de l'eau ? Pour répondre à cette question, les scientifiques ont tout d'abord évalué le risque pour les populations d'organismes aquatiques (cf. encadré). En se basant sur les analyses chimiques, ils ont comparé les concentrations d'EE2, d'E2 et d'E1 aux NQE correspondantes, ce qui leur a permis de calculer un quotient de risque pour chaque substance. Si la concentration d'un composé individuel est supérieure à sa NQE, le risque d'effets nocifs sur les organismes est jugé inacceptable. Il en va de même pour les effets d'un mélange de substances ayant le même mode d'action : si la somme des quotients de risque individuels de l'EE2, de l'E2 et de l'E1 est supérieure à 1, le mélange présente un risque inacceptable pour la vie aquatique. Cela a été le cas dans 44 % des échantillons d'eau de rivière et 53 % des échantillons d'effluent. À noter, cependant, que seules les concentrations quantifiables ont été prises en compte.

Pour interpréter les résultats des biotests, l'activité des œstrogènes présents dans l'eau est exprimée par la concentration de l'hormone 17 β -œstradiol qui aurait le même effet que le mélange inconnu. Elle est alors indiquée en équivalents 17 β -œstradiol (EEQ). Les teneurs en EEQ obtenues avec les biotests sont en bonne concordance avec les quotients de risque cumulés calculés à partir des analyses chimiques. Il apparaît donc que les méthodes basées sur les effets

conviennent à une détermination de l'état chimique des eaux ou à l'identification d'échantillons pollués.

Des « triggers » pour l'évaluation du risque écotoxicologique

Pour pouvoir également évaluer le risque environnemental à partir des résultats des biotests, il convient de disposer d'un seuil auquel comparer les concentrations totales en EEQ obtenues pour les substances œstrogéniques. Pour les substances ayant le même mode d'action, des valeurs limites ou « triggers » peuvent être déterminées à partir des données de toxicité disponibles. Ces valeurs ne sont pas encore inscrites dans la loi. Comme pour l'évaluation traditionnelle du risque à partir des analyses chimiques et des NQE, le dépassement d'un « trigger » par la concentration d'équivalents mesurée dans un biotest indique un risque inacceptable pour un mécanisme d'action donné (cf. encadré). Dans l'ensemble, l'évaluation chimique et l'évaluation écotoxicologique du risque ont livré des résultats comparables. Suivant le biotest utilisé, les quotients de risque écotoxicologique variaient légèrement : un risque inacceptable a ainsi été mis en évidence pour 31 % – 50 % des échantillons d'eau de rivière et pour 53 % – 71 % des échantillons d'effluent. Un tel risque a été identifié dans 11 % d'échantillons de plus que par l'évaluation chimique. Cette différence s'explique en grande partie par le fait que, dans une partie des échantillons, les méthodes d'analyse n'étaient pas assez sensibles pour détecter les hormones EE2 et E2, de sorte que le risque y a été sous-estimé. D'autre part, les biotests ne se limitent pas à la détection des œstrogènes stéroïdes mais mettent également en évidence l'activité d'autres substances chimiques présentant une activité œstrogénique.

Utilisation des tests de liaison aux récepteurs pour les screenings

Les résultats des analyses chimiques n'ont pas pu être utilisés pour déterminer la qualité de l'eau dans 15 % des échantillons d'eau de rivière et 41 % des échantillons d'effluent étant donné qu'au moins une limite de détection était trop élevée. En revanche, les seuils de détection des tests écotoxicologiques étaient inférieurs aux « triggers » proposés pour les cinq méthodes examinées. Les tests de liaison aux récepteurs avec les lignées cellulaires sont



donc recommandés en complément des analyses chimiques pour le screening des œstrogènes stéroïdes dans les programmes de surveillance de la qualité des eaux.

Ces tests présentent les avantages suivants: a) ils sont suffisamment sensibles pour quantifier les œstrogènes stéroïdes dans les eaux de surface et les eaux usées, b) ils sont capables de mesurer l'action combinée d'œstrogènes en mélange, qu'ils soient connus ou inconnus, par l'activation du récepteur des œstrogènes et c) ils permettent de déterminer le statut écotoxicologique du milieu à travers des quotients de risque calculés à l'aide de « triggers ». Cette approche ressemble à celle utilisée pour l'évaluation du risque environnemental dans le cadre réglementaire mais elle présente l'avantage supplémentaire d'autoriser une évaluation intégrée des mélanges. Des normes ISO entreront en vigueur dans l'année qui vient pour certains tests de liaison aux récepteurs.

Sur la base de ces résultats, un nouveau projet a été lancé cet automne: plus de 80 échantillons d'eau de surface livrés par 14 États membres de l'UE et 4 cantons suisses y seront soumis à des biotests visant à détecter les œstrogènes et certains médicaments antalgiques (inhibiteurs de la COX). Par ailleurs, le Centre Ecotox coordonne avec le Joint Research Centre de l'UE, la Suède et l'Italie un groupe de travail chargé d'émettre une recommandation pour l'utilisation des biotests dans le cadre de la directive cadre sur l'eau européenne.

Contact:

Robert Kase, robert.kase@oekotoxzentrum.ch

Encadré : Évaluation chimique et évaluation écotoxicologique du risque

La qualité des eaux de surface est généralement évaluée en comparant, pour un composé donné, la concentration mesurée dans l'environnement (MEC) avec sa norme de qualité environnementale (NQE, EQS en anglais). Si la MEC dépasse la NQE, le quotient de risque RQ est supérieur à 1 et des effets négatifs sur les organismes ne peuvent être exclus. Le **risque chimique dû au mélange** est calculé en faisant la somme des RQ des substances qui le composent.

$$(1) RQ_{\text{chim}} = \sum_i^n RQ_{\text{chim } i} = \sum_i^n \frac{MEC_i}{EQS_i}$$

Pour calculer le **risque écotoxicologique**, la concentration d'équivalents (EEQ) est comparée à la valeur limite ou « trigger » EBT (« effect-based trigger value ») qui s'applique à toutes les substances ayant le même mode d'action.

$$(2) RQ_{\text{bio}} = \frac{EEQ}{EBT}$$

Comme dans l'évaluation traditionnelle du risque à partir des données d'analyse chimique et des NQE, un RQ > 1 indique un risque inacceptable pour un mode d'action donné.



Immunotoxicité des composés chimiques : un impact écotoxicologique sous-estimé

De nombreuses substances interfèrent avec la capacité des animaux sauvages à lutter contre les germes pathogènes. Il n'existe pourtant pas encore, dans le domaine de l'écotoxicologie, de tests biologiques reconnus pour le screening des effets immunotoxiques de l'environnement et des composés chimiques. Le Centre Ecotox souhaite pallier ce manque.

Les polluants présents dans l'environnement ne se contentent pas de menacer directement la survie des organismes biologiques mais peuvent également avoir une influence indirecte plus subtile sur leur santé et sur leur résistance. Ces effets ne sont alors pas directement visibles mais affectent la capacité des animaux à réagir aux autres stress et donc, in fine, à se développer et à se reproduire. Le système immunitaire est souvent une cible privilégiée de cette action indirecte : de nombreuses études de laboratoire et de terrain démontrent que la pollution chimique influe sur les défenses immunitaires des animaux sauvages. La régression planétaire des populations d'amphibiens en est un exemple édifiant. Les agents pathogènes (parasites, virus, champignons) sont tenus pour principaux responsables de ce déclin. Or il a été démontré qu'une exposition concomitante à une pollution chimique pouvait induire une répression du système immunitaire des amphibiens et, de ce fait, augmenter leur sensibilité aux infections. Les épidémies de « rougeole » qui ont décimé par milliers les mammifères marins tels que les marsouins, les dauphins, les phoques et les otaries en sont un autre cas bien étudié. Une relation a été mise en évidence entre le déclenchement de la maladie et l'accumulation dans les tissus de polychlorobiphényles à l'action immunodépressive. La conjonction de l'action immunotoxique des polluants chimiques et des effets immunomodulateurs d'autres facteurs de stress est au cœur du phénomène. De tels effets cumulatifs pourraient expliquer la progression sans précédent des maladies infectieuses observée actuellement dans la faune sauvage.

Besoin de tests pour les screenings

Malgré le danger de l'immunotoxicité, il n'existe pas encore, en écotoxicologie, de tests reconnus pour ce type d'action toxique. Pour pallier ce manque, une première démarche pourrait consister à développer de simples tests de screening pour évaluer le potentiel immunotoxique des substances chimiques et des matrices environnementales. Dans cette optique, le Centre Ecotox a lancé un projet en collaboration avec le Centre pour la médecine des poissons et des animaux sauvages de l'université de Berne, le FIWI, afin d'évaluer la qualité de certains paramètres immunologiques pour la détection des substances chimiques ayant un potentiel immunomodulateur. Les résultats montrant des faux positifs sont alors tolérés

mais pas ceux montrant des faux négatifs. Les composés mis en évidence par les tests de screening peuvent ensuite être caractérisés plus en détail à l'aide de tests plus spécifiques.

Après une étude bibliographique, un essai *in vitro* avec des cellules immunitaires (leucocytes) isolées de truite arc-en-ciel a été retenu comme candidat potentiel pour les screenings immunotoxicologiques. « Pour les tests de screening, nous avons décidé d'étudier les paramètres qui avaient jusqu'à présent été le plus fréquemment utilisés pour évaluer l'immunotoxicité chez les poissons », explique Kristina Rehberger du FIWI. Trois aspects sont à prendre en compte pour caractériser le test. (I) Tout d'abord, il doit permettre de faire la distinction entre les effets relevant d'une cytotoxicité générale et ceux dus à une action immunotoxique spécifique. Pour chaque composé testé, le domaine de concentration cytotoxique a donc été déterminé afin de définir un domaine de non-cytotoxicité pour le test. (II) Ensuite, il convient de faire la différence entre la réaction du système immunitaire au repos et celle du système immunitaire activé par la présence d'antigènes ou de pathogènes. Les modalités de réponse entre ces deux situations peuvent être très différentes. (III) Enfin, la sélection des composés chimiques à tester a une grande importance : il convient d'étudier aussi bien des substances dont l'action immunotoxique sur les poissons a déjà été démontrée que des substances non-immunotoxiques. Par ailleurs, les composés immunotoxiques doivent être représentatifs de plusieurs modes d'action moléculaires.

Différents paramètres

Dans ce projet, trois paramètres sensibles aux polluants chimiques ont été retenus pour évaluer l'action des composés sur le fonctionnement des leucocytes. Le premier est l'**activité de phagocytose** des cellules. La phagocytose des corps étrangers comme par exemple les bactéries ou les constituants corporels dégradés comme les cellules cancéreuses est un élément essentiel de la réponse immunitaire innée. C'est par ce processus, par exemple, que les germes pathogènes sont absorbés par les cellules immunitaires pour être ensuite digérés. Les polluants chimiques peuvent affecter cette capacité de phagocytose des cellules. Pour pouvoir mesurer simplement l'intensité de ce processus, les leucocytes de truite isolés sont

mis en présence de billes de latex portant un marqueur fluorescent au lieu de pathogènes. La proportion de cellules ayant absorbé des billes de latex est ensuite déterminée par cytométrie en flux.

Le deuxième paramètre est **l'activité du stress oxydatif** des leucocytes. Les germes pathogènes phagocytés doivent en effet être digérés dans les cellules immunitaires. Pour ce faire, les phagocytes produisent des espèces réactives de l'oxygène (« radicaux oxygénés »). Le stress oxydatif des leucocytes peut aussi être influencé par la pollution chimique. Pour mesurer cette activité des cellules, un test colorimétrique avec le NBT peut être utilisé : il se base sur la transformation par les espèces réactives de l'oxygène du chlorure de nitro-bleu de tétrazolium (NBT), un composé jaune soluble, en un colorant bleu insoluble, le di-formazan qui peut ensuite être dosé par photométrie.

Le troisième paramètre immunologique évalué est **l'expression génique (ARN)** de certaines cytokines. Les cytokines sont des protéines de signalisation cellulaire essentielles à la communication intercellulaire dans le système immunitaire. Dans le projet, l'expression génique (ARN) de trois cytokines souvent considérées dans les études d'immunotoxicité chez les poissons est mesurée par qRT-PCR (« quantitative reverse transcription polymerase chain reaction ») dans les leucocytes de truite arc-en-ciel. Les trois cytokines retenues sont l'interleukine IL 1 β et le facteur de nécrose tumorale TNF α – deux facteurs d'inflammation – ainsi que l'IL 10 à l'action anti-inflammatoire.

Les tests sur leucocytes de poisson se prêtent-ils aux screenings immunotoxicologiques ?

Pour savoir si les paramètres immunologiques retenus conviennent bien aux screenings, des tests ont été effectués avec cinq substances immunotoxiques pour les poissons et trois substances non-immunotoxiques. Les composés immunomodulateurs présentent des modes d'action connus mais différents : la dexaméthasone, un anti-inflammatoire, agit à travers le récepteur aux glucocorticoïdes ; l'éthinylestradiol, une hormone de synthèse utilisée en contraception orale, agit à travers le récepteur aux œstrogènes ; le bisphénol A, un composant de certains plastiques, agit également

par le récepteur aux œstrogènes mais peut aussi activer d'autres voies de signalisation touchant au système immunitaire ; le benzopyrène, un hydrocarbure aromatique, agit sur ce système à travers le récepteur ArH ; enfin, le diclofénac, un antalgique, interfère avec les défenses immunitaires en inhibant une enzyme, la cyclo-oxygénase. Les substances non-immunotoxiques choisies présentent une action non spécifique de type narcotique : l'éthylène glycol, un antigel, ainsi que le butanol et le 1, 2, 4-trichlorobenzène, deux produits chimiques utilisés dans l'industrie. En complément, la moitié des cellules de poisson isolées ont été exposées à des lipopolysaccharides de la bactérie *E. coli* pour stimuler leurs défenses immunitaires avant l'exposition aux substances chimiques.

Les premiers résultats sont prometteurs : les cinq composés immunomodulateurs, la dexaméthasone, l'éthinylestradiol, le bisphénol A, le benzopyrène et le diclofénac, ont provoqué des effets, notamment au niveau de la phagocytose et de la poussée oxydative. La dexaméthasone, par exemple, a non seulement inhibé ces deux activités de façon significative mais a également modifié l'expression des gènes des cytokines IL 1 β et TNF α . Les résultats détaillés seront prochainement publiés dans un rapport.

Contact :

Inge Werner, inge.werner@oekotoxzentrum.ch ;

Helmut Segner, helmut.segner@vetsuisse.unibe.ch ;

Kristina Rehberger, kristina.rehberger@vetsuisse.unibe.ch



Sur quelle période échantillonner les cours d'eau ?

Lorsque la concentration d'une substance mesurée dans l'environnement aquatique dépasse son critère de qualité environnementale, la qualité de l'eau est jugée insuffisante. Mais sur quelle période effectuer les prélèvements pour déterminer cette concentration moyenne ?

Suite à la révision de l'ordonnance suisse sur la protection des eaux de 2016, des critères de qualité écotoxicologiques devraient être inscrits dans la loi pour de nombreux polluants à partir de 2018. Les critères ou normes de qualité environnementale sont des concentrations spécifiques individuelles en dessous desquelles aucun effet nocif sur la vie aquatique n'est attendu. Deux de ces valeurs sont déterminées pour une substance donnée à partir des données de toxicité : un critère de qualité dit « aigu » qui doit protéger les organismes des expositions de courte durée et un critère de qualité dit « chronique » qui vise à les prémunir des effets d'une exposition de longue durée.

Les modèles informatiques facilitent la prise de décision

Pour apprécier la qualité de l'eau, le critère de qualité individuel est comparé à la concentration de la substance correspondante mesurée dans un échantillon d'eau. Plusieurs stratégies d'échantillonnage sont alors envisageables. Les prélèvements ponctuels livrent une bonne image de la situation à un moment donné mais peuvent manquer les pics de pollution. Les échantillons composites prélevés sur une longue période rendent compte de toutes les pollutions mais nivellent les maximums de concentration si ceux-ci ne se maintiennent pas dans la durée. Cette différence peut influencer l'évaluation de la toxicité. Sur quelle période convient-il alors de constituer l'échantillon composite à analyser ? Pour tenter de répondre à cette question, le Centre Ecotox et l'université de York (UK) ont décidé de recourir à un modèle toxicocinétique et toxicodynamique. Ce dernier décrit aussi bien la répartition et la métabolisation des composés chimiques dans l'organisme que leurs effets à différents niveaux d'organisation biologique. « Nous avons cherché à savoir si la méthode d'évaluation du risque écotoxicologique pour les organismes à partir des concentrations moyennes mesurées dans les échantillons composites permettait d'appréhender le risque réel. Ce dernier varie en fonction des fluctuations de la concentration », indique Marion Junghans du Centre Ecotox. L'étude a été mandatée par l'Office fédéral de l'environnement.

Étant donné que les concentrations de produits phytosanitaires, en particulier, varient fortement dans les cours d'eau en raison de l'irrégularité des applications et de la relation entre les rejets et les

pluies, sept de ces composés ont été choisis pour la modélisation. Pour alimenter le modèle, les scientifiques ont utilisé les données de la campagne de monitoring 2015 du projet NAWA SPEZ. À l'aide du modèle, ils ont alors étudié la toxicité de la carbendazime (un fongicide), du chlorpyrifos, du diazinon, du diméthoate et de l'imidaclopride (des insecticides) pour le gammare et le viron à grosse tête ou tête-de-boule et celle de l'imidaclopride pour la reproduction des daphnies. Ils ont par ailleurs examiné la toxicité du métazachlore et du diuron (deux herbicides) pour la croissance des lentilles d'eau et des algues. Les tests de toxicité aiguë durant en moyenne trois jours, les effets aigus ont été étudiés à partir d'échantillons composites constitués sur trois jours et les effets chroniques à partir d'échantillons collectés sur 14 jours.

L'intérêt de l'échantillonnage asservi au temps

Les résultats de la modélisation confirment l'intérêt des échantillons composites constitués sur 14 jours pour la surveillance des risques d'effets chroniques dans le milieu aquatique. Une bonne concordance a été observée entre la prédiction pour les périodes de toxicité maximale et la toxicité modélisée pour les échantillons composites. « Dans l'ensemble, le risque réel a été sous-estimé à peu près aussi souvent qu'il a été surestimé, explique Marion Junghans. D'un autre côté, les écarts étaient très faibles si l'on considère l'énorme variabilité du risque observé. » Les risques aigus peuvent être évalués à partir d'échantillons composites constitués sur 3 jours. Même si cet échantillonnage peut entraîner une sous-estimation de la toxicité des substances dont l'action est principalement létale, il présente l'avantage, par rapport aux prélèvements ponctuels, de réduire la probabilité de manquer les pics de concentration. « Cette solution nous semble constituer un bon compromis entre faisabilité et sur ou sous-estimation du risque », commente Marion Junghans.

Plus d'informations dans le rapport :

Junghans, M., Werner, I., Ashauer, R., Kuhl, R., Zimmer, E. (2017) Praxistaugliche Beurteilungen von kurzzeitigen Expositionsspitzen. www.centreecotox.ch/news-publications/rapports/

Contact :

Marion Junghans, marion.junghans@oekotoxzentrum.ch



Des progrès dans l'évaluation de la qualité des sédiments

Le Centre Ecotox a réalisé avec huit cantons une vaste étude de terrain pour évaluer la comparabilité des méthodes de prélèvement et de préparation d'échantillons de sédiment.

Dans les milieux aquatiques, la qualité des sédiments est étroitement liée à celle de l'eau: les sédiments contaminés constituent à la fois un réservoir de polluants qui peuvent être réémis dans le milieu aqueux et l'espace vital de nombreux organismes biologiques. L'ordonnance suisse sur la protection des eaux stipule que les sédiments ne doivent contenir ni substances de synthèse persistantes ni autres substances susceptibles de s'accumuler ou d'avoir un effet néfaste sur les organismes vivants. Il appartient aux cantons de s'assurer que les sédiments des eaux dont ils ont la charge répondent à ces exigences. Or, en l'absence de recommandation méthodologique claire de la part des autorités fédérales, les méthodes employées pour effectuer les prélèvements et traiter les échantillons peuvent fortement varier d'un canton à l'autre. Et ce, alors que tous les cantons n'étudient pas les sédiments! Il s'avère alors difficile de comparer et d'interpréter les résultats des analyses. Face à cette situation, le Centre Ecotox travaille actuellement avec l'Office fédéral de l'environnement à un projet visant notamment à harmoniser les méthodes à travers un module Sédiment intégré au système modulaire gradué.

La méthode harmonisée testée dans huit cantons

Le Centre Ecotox a mis au point une méthode harmonisée pour le prélèvement et la préparation d'échantillons de sédiments en se basant sur les connaissances scientifiques les plus récentes et sur les méthodes employées par les ser-

vices cantonaux de la protection des eaux. Cette méthode a maintenant été validée et comparée aux méthodes utilisées par les cantons dans le cadre d'une étude de terrain impliquant plusieurs laboratoires. Huit cantons ont participé à cette étude: Bâle-Campagne, Bâle-Ville, Berne, le Jura, Saint-Gall, Schwyz, le Valais et Zurich. Des prélèvements ont été effectués sur un total de 14 sites représentatifs de différents régimes hydrodynamiques et de différentes sources de pollution. Les échantillons de sédiment ont été prélevés en parallèle par le Centre Ecotox et le service cantonal sur chaque site puis traités par la méthode harmonisée et par la méthode du canton concerné. Après tamisage et extraction, les échantillons ont été soumis à une analyse des teneurs en cadmium, en cuivre, en chrome, en nickel, en plomb et en zinc, métaux régulièrement contrôlés par les cantons.

La fraction sédimentaire la plus fine livre les concentrations les plus élevées

La méthode harmonisée a livré des résultats bien reproductibles quelle que soit la personne ayant effectué les prélèvements, les teneurs en métaux allant du niveau de concentrations de fond à celui de pollutions significatives. Les concentrations déterminées selon la démarche harmonisée ou celles habituellement adoptées par les cantons différaient plus ou moins fortement selon les sites. Le choix de la fraction utilisée pour l'extraction avait alors une grande influence. Dans la méthode harmonisée, il est proposé de procéder à une extraction du sédiment total (<2 mm) pour déterminer

le risque écotoxicologique. C'est en effet sur cette fraction que portent la plupart des tests de toxicité et c'est donc au sédiment total que se réfèrent les critères de qualité des sédiments qui en sont déduits. « La fraction totale semble donc constituer une bonne référence pour l'évaluation de la qualité du sédiment », explique Carmen Casado-Martinez du Centre Ecotox. Jusqu'à présent, les cantons privilégiaient l'étude de la fraction fine (<63 µm) puisque leur objectif était d'identifier les tendances évolutives de la contamination dans le temps et dans l'espace. Pour qu'ils puissent aussi bien apprécier la qualité écotoxicologique des sédiments que comparer les nouvelles données avec les anciennes, il pourrait être opportun, pour les cantons, de doser les métaux pendant quelques années aussi bien dans la fraction fine que dans la fraction totale.

Pour la suite du projet, le Centre Ecotox et les cantons ont priorisé les substances à contrôler pour la surveillance de la qualité des sédiments en Suisse. Le Centre Ecotox travaille actuellement à la détermination de critères de qualité pour les composés ainsi retenus. « L'objectif du module Sédiment est de proposer un système complet d'évaluation de la qualité des sédiments à partir de critères de qualité spécifiques à ce compartiment », explique Carmen Casado-Martinez.

Contact:

Carmen Casado-Martinez,
carmen.casado@centrecotox.ch

Les brèves du Centre Ecotox



NAWA SPEZ 2017

La pollution des eaux par les produits phytosanitaires est aujourd'hui l'un des grands sujets de préoccupation dans le domaine de la protection des eaux. Avec le programme d'observation nationale de la qualité des eaux de surface (NAWA), l'Office fédéral de l'environnement a mis en place un outil d'enregistrement, de suivi et d'évaluation de l'état des eaux superficielles suisses. Dans le cadre de ce programme, le projet NAWA SPEZ 2017 se propose de caractériser la pollution des petits cours d'eau par les produits phytosanitaires dans les zones d'agriculture intensive. Dans la continuité des deux premières campagnes de NAWA SPEZ, ce projet s'intéresse tout particulièrement à la variabilité spatio-temporelle de la pollution.

Pour compléter les analyses chimiques, le Centre Ecotox étudie les échantillons d'eau à l'aide de différents biotests. Il apporte d'autre part son expertise au projet par l'appréciation écotoxicologique des concentrations de pesticides mesurées, considérées individuellement ou en mélange. Dans les cours d'eau, les produits phytosanitaires ne sont cependant pas uniquement présents sous forme dissoute mais également liée aux particules solides. Le Centre Ecotox étudie donc les sédiments et les particules en suspension par une combinaison de biotests et d'analyses chimiques. Des prélèvements ont été effectués mensuellement dans cinq cours d'eau suisses de mars à octobre 2017. Les échantillons d'eau ont été étudiés à l'aide d'algues vertes unicellulaires, de daphnies et de lentilles d'eau et ceux de sédiment à l'aide d'ostracodes, de hyalelles, de chironomes, de nématodes et de myriophylles.

Contact:

Eau: Etienne Vermeirssen,
etienne.vermeirssen@oekotoxzentrum.ch;
Sédiment: Carmen Casado,
carmen.casado@centreecotox.ch



Nouveaux rapports du Centre Ecotox

Le Centre Ecotox a participé à l'étude de la pollution organique et métallique des sédiments du Léman en partenariat avec l'Université de Genève et la Commission internationale pour la protection des eaux du Léman (CIPEL). Grâce à une approche combinant biotests et analyse chimique, un grand nombre de polluants ont été détectés à de nombreux endroits du lac. Seule la baie de Vidy présentait cependant une altération de la qualité de l'eau.

Loizeau, J.-L., Makri, S., Arpagaus, P., Ferrari, B., Casado-Martinez, C., Benejam, T., Marchand, P. (2017) Micropolluants métalliques et organiques dans les sédiments superficiels du Léman

Le rapport final de la partie Écotoxicologie du projet ReTREAT a été publié. Ce projet avait pour objectif de comparer différents traitements consécutifs à l'ozonation. Il a montré que l'ozonation réduisait fortement les effets écotoxicologiques et améliorait nettement la qualité de l'eau. Les post-traitements étaient quant à eux en mesure d'éliminer les produits de réaction toxiques et labiles de l'ozonation qui, au demeurant, n'apparaissaient qu'en faible quantité.

Kienle, C., Langer, M., Ganser, B., Gut, S., Schifferli, A., Thiemann, C., Vermeirssen, E., Werner, I. (2017) Biologische Nachbehandlung von kommunalem Abwasser nach Ozonung –ReTREAT: Teilprojekt Biotests

Dans l'Union européenne, des normes de qualité environnementales (NQE) ont été déterminées pour toutes les substances prioritaires identifiées en application de la Directive cadre sur l'eau. En 2013, cette liste a été augmentée de 13 composés. Le Centre Ecotox a évalué la situation de la Suisse en ce qui concerne la contamination par ces substances et par cinq composés pharmaceutiques supplémentaires.

Vermeirssen, E., Kase, R., Werner, I. (2017) The occurrence of 12 EU priority substances in Swiss surface waters and biota – a review of monitoring data

Toutes ces données sont disponibles sur
www.centreecotox.ch/news-publications/rapports/



Nouveau cours sur l'utilisation de l'échantillonnage passif

En 2015, le Centre Ecotox avait proposé deux workshops qui ont rencontré un grand succès sur l'utilisation de l'échantillonnage passif pour l'étude de la pollution organique des eaux de surface. De plus en plus de cantons et d'autres utilisateurs s'intéressent à cette alternative aux méthodes classiques de prélèvements. Étant donné que les polluants présents dans l'eau s'accumulent sur les capteurs passifs, cette approche autorise l'analyse de substances dont les faibles concentrations interdiraient la détection par la voie classique. Elle garantit par ailleurs la prise en compte des pics de pollution. En raison de cet intérêt, l'université de Lausanne, l'EPFL et le Centre Ecotox proposent un nouveau cours sur l'utilisation de l'échantillonnage passif au printemps 2018. Ce cours se compose d'une partie théorique et d'une partie pratique qui peuvent être suivies séparément. De plus amples informations seront prochainement communiquées sur notre site web.

Contact:

Etienne Vermeirssen, etienne.vermeirssen@oekotoxzentrum.ch



Tutoriels vidéos sur les tests avec les collemboles et les lombrics

Les bioessais avec les organismes édaphiques constituent un outil précieux pour caractériser la pollution du sol et son impact sur la faune de ce milieu. Le Centre Ecotox travaille à l'optimisation et à la standardisation de plusieurs tests d'écotoxicité pour les besoins de la protection des sols. Les tests standardisés avec les lombrics et les collemboles se sont avérés particulièrement utiles. Notre site propose de nouvelles vidéos qui expliquent pas à pas comment préparer et réaliser ces essais.

www.centreecotox.ch/news-publications/actualites/tutoriels-videos-sur-les-tests-avec-les-collemboles-et-les-lombrics/



Les communautés des sédiments d'eau douce en point de mire

Les 27 et 28 avril 2017 s'est tenue la première conférence franco-suisse sur les communautés des sédiments d'eau douce à Villié-Morgon (F). La rencontre a réuni plus de 40 scientifiques et représentants des pouvoirs publics et de sociétés de conseil pour discuter des questions qui font l'actualité dans le domaine de l'écotoxicologie des sédiments. Bien que la France et la Suisse disposent de cadres réglementaires différents pour l'évaluation des sédiments, les deux pays sont confrontés à des difficultés similaires, à savoir, notamment, au manque de méthodes standardisées pour le prélèvement et l'étude écotoxicologique des échantillons et de valeurs seuil pour l'évaluation de la qualité des sédiments d'eau douce. Le besoin de nouvelles méthodes est particulièrement important pour l'étude de l'influence des polluants sur les communautés des sédiments d'eau douce qui, situées à un niveau intermédiaire entre les populations et les écosystèmes, présentent un grand intérêt pour l'évaluation écotoxicologique. La conférence était organisée par le Centre Ecotox et l'Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture (IRSTEA) de Lyon. Une nouvelle publication résume les conclusions de la conférence.

Pesce, S., Perceval, O., Bonnineau, C., Casado-Martinez, C., Dabrin, A., Lyautey, E., Naffrechoux, E., Ferrari, B.J.D. (2017) Looking at biological community level to improve ecotoxicological assessment of freshwater sediments; report on a first French-Swiss workshop. *Environ. Sci. Pollut. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0620-z>



Workshop sur les biotests utilisables en toxicologie réglementaire

En juin 2018, le Centre Ecotox proposera un atelier sur les bioessais utilisables dans un contexte réglementaire. Ce workshop qui s'adresse aux services fédéraux et cantonaux, aux laboratoires privés et aux acteurs concernés par le sujet informe sur les tests et leurs domaines d'application ainsi que sur leur état de standardisation. Il aborde également la question des valeurs limites écotoxicologiques à prendre en compte pour l'intégration des biotests dans la législation. Des informations plus détaillées seront bientôt communiquées sur notre site ainsi que la date exacte et le programme du workshop.

L'écotoxicologie dans le monde

Dans cette rubrique, le Centre Ecotox souhaite vous informer des actualités internationales touchant à la recherche ou à la législation en matière d'écotoxicologie. La sélection proposée ne se prétend pas exhaustive et le contenu des communiqués ne reflète pas nécessairement les positions du Centre Ecotox.

Rapport de l'UE sur l'évaluation du risque dû aux nanoparticules

Les nanoparticules sont source de progrès technique mais elles suscitent des inquiétudes quant à leur toxicité. Un nouveau rapport de l'Union européenne montre qu'elles ne sont pas, en soi, plus toxiques que les particules de plus grande taille. Le rapport fait la synthèse des connaissances actuelles sur l'évaluation du risque lié aux nanoparticules et donne un aperçu de ses possibles implications politiques et scientifiques.

http://ec.europa.eu/environment/integration/research/newsalert/pdf/assessing_environmental_safety_nanomaterials_IR14_en.pdf

Abeilles et néonicotinoïdes : des preuves de plus en plus accablantes

Des chercheurs ont découvert de nouveaux éléments qui prouvent que les produits phytosanitaires de la classe des néonicotinoïdes réduisent les possibilités de survie et de reproduction des abeilles. Les effets diffèrent cependant selon les sites et les espèces d'abeilles. Dans la plus grande étude de terrain jamais menée sur le sujet, trois espèces et 33 sites ont été étudiés en Grande-Bretagne, en Hongrie et en Allemagne à proximité de champs de colza dont les semences avaient été traitées aux néonicotinoïdes. En Grande-Bretagne et en Hongrie, les abeilles qui se nourrissaient dans les champs de colza prétraité avaient une reproduction moins performante et survivaient plus rarement aux mois d'hiver que les abeilles témoins. Ce n'était pas le cas en Allemagne où il se trouve que les abeilles se nourrissent principalement de fleurs sauvages et étaient moins la cible de parasites. Une autre étude menée au Canada montre que le pollen des plantes sauvages poussant à proximité des champs de colza traité aux néonicotinoïdes pourrait également être contaminé par ces pesticides.

Woodcock, B.A. et al (2017) Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science* 356, 1393–1395

Tsvetkov, N. et al. (2017) Chronic exposure to neonicotinoids reduces honey bee health near corn crops. *Science* 356, 1395–1397

Le bisphénol A classé « perturbateur endocrinien » par l'UE

L'Agence européenne des produits chimiques a reconnu le bisphénol A en tant que perturbateur endocrinien et substance particulièrement préoccupante. Le bisphénol A est largement utilisé dans les plastiques, le revêtement des cannettes et bien d'autres produits. C'est la première fois qu'une substance est classée « extrêmement préoccupante » en raison de sa nocivité pour le fonctionnement hormonal. En conséquence, les restrictions d'utilisation du bisphénol

A devraient être étendues dans l'UE : jusqu'à nouvel ordre, il n'est encore interdit que dans les biberons.

<https://echa.europa.eu/-/msc-unanimously-agrees-that-bisphenol-a-is-an-endocrine-disruptor>

Effets combinés du réchauffement climatique et des perturbateurs endocriniens

Une nouvelle étude montre que la présence de perturbateurs endocriniens ostrogéniques dans le milieu influe sur la capacité des poissons à s'adapter à une élévation des températures. En temps normal, certains poissons réagissent au réchauffement en produisant davantage de descendants mâles de façon à accroître les chances de survie de la population. En présence d'un surplus d'œstrogènes, le nombre de mâles produits est réduit, ce qui peut mettre en cause l'adaptation au réchauffement et accroître les risques d'effondrement de la population. L'étude illustre ainsi de façon édifiante les interactions complexes entre facteurs de stress différents.

DeCourten, B.M., Brander, S.M. (2017) Combined effects of increased temperature and endocrine disrupting pollutants on sex determination, survival, and development across generations. *Nature Scientific Reports* | 7 : 9310 | DOI:10.1038/s41598-017-09631-1

La toxicité pour les crustacés augmentée par les expositions séquentielles aux pesticides et le stress thermique

Il arrive souvent que les effets des produits phytosanitaires sur les écosystèmes apparaissent à des concentrations considérées comme sans danger. Ce phénomène pourrait être en partie dû au fait que, dans de nombreux ruisseaux, les organismes biologiques sont exposés à des pollutions successives et ne disposent pas du temps qui leur serait nécessaire pour se régénérer entre deux atteintes. Des chercheurs allemands ont mesuré la toxicité de plusieurs pesticides pour des gammars issus de milieux pollués ou non. Les gammars des ruisseaux pollués présentaient une sensibilité 2,7 fois élevée aux pesticides que les autres. Cet effet n'était observable qu'en début d'été, c'est-à-dire à la période principale d'application des insecticides. La sensibilité aux pesticides était d'autre part renforcée par des températures élevées de l'eau.

Russo, R., Becker, J.M., Liess, M. (2018) Sequential exposure to low levels of pesticides and temperature stress increase toxicological sensitivity of crustaceans. *Science of the Total Environment* 610–611, 563–569

Impressum

Editeur : Centre Ecotox

Eawag/EPFL

Überlandstrasse 133

8600 Dübendorf

Suisse

Tél. +41 58 765 5562

Fax +41 58 765 5863

www.oekotoxzentrum.ch

EPFL-ENAC-IIE-GE

Station 2

1015 Lausanne

Suisse

Tél. +41 21 693 6258

Fax +41 21 693 8035

www.centreecotox.ch

Rédaction et textes non signés : Anke Schäfer, Centre Ecotox

Traductions : Laurence Frauenlob-Puech, D-Waldkirch

Copyright : Reproduction possible sous réserve de l'accord de la rédaction

Copyright des photos : Centre Ecotox, Andri Bryner, Eawag (couverture, p. 10),

Petr Tusal (p. 3, 5), Eric Engbretson, U.S. Fish and Wildlife Service (p. 6),

VSA Alessandro Della Bella (p. 9)

Parution : deux fois par an

Maquette, graphisme et mise en page : visu' I AG

Impression : Mattenbach AG, Winterthur

Imprimé sur papier recyclé

Abonnements et changements d'adresse : Bienvenue à tout(e) nouvel(le) abonné(e), info@centreecotox.ch