

RAPPORT D'ETUDE

V2 - Avril 2016

Annule et remplace V1 – Février 2016

« Application de marqueurs d'exposition et d'effet sur gammares dans le bassin Artois-Picardie »

Maîtrise d'ouvrage



Agence de l'eau Artois-Picardie
200, rue Marceline
59508 Douai

Maîtrise d'oeuvre



BIOMÆ S.A.S.
Hébergement Irstea Lyon-Villeurbanne
5 rue de la Doua, 69100 Villeurbanne

@ / contact@biomae.fr
☎ / 04.37.43.13.79
💻 / www.biomae.com

Table des matières

1. BIOMÆ S.A.S.	5
a. Origine des outils BIOMÆ.....	5
b. Présentation de l'équipe BIOMÆ.....	5
c. Expertise de BIOMÆ.....	6
o Approche dite de « biosurveillance active »	6
o Production d'un capteur biologique « contrôle ».....	6
o Réalisation de biotests in situ.....	7
o Comparaison à nos valeurs de référence (bases de données).....	7
2. Contexte d'étude.....	8
a. Description de la problématique de l'étude	8
b. Liste des sites d'étude et des campagnes de mesure	9
c. Liste des biotests mis en place au cours de l'étude	10
3. Matériels et méthodes	11
a. Matériel biologique	11
b. Procédure d'encagement	11
c. Bioaccumulation de micropolluants métalliques et organiques	13
d. Alimentation.....	15
e. Reproduction	16
f. Neurotoxicité.....	17
g. Perturbation endocrinienne	18
h. Traitement des données et analyse statistique.....	19
4. Résultats et interprétations	20
a. Rapport d'échantillonnage.....	20
b. Paramètres physico-chimiques.....	20
c. Biodisponibilité des contaminants métalliques.....	22
d. Biodisponibilité des contaminants organiques.....	24
e. Mesure des effets toxiques	26
5. Conclusion	28

Table des illustrations

Figures

Figure 1 : Hébergement de BIOMÆ S.A.S.	5
Figure 2 : Organigramme de la société BIOMÆ S.A.S.	5
Figure 3 : Représentation schématique de notre approche « in situ »	6
Figure 4 : Photographie latérale d'un gammare, Gammarus fossarum	6
Figure 5 : Dispositif de maintien d'organismes « contrôles »	7
Figure 6 : Plan de localisation des 5 sites d'étude pour les deux campagnes de mesure Artois-Picardie	9
Figure 7 : Colonne de tamis certifiés	11
Figure 8 : Calibration manuelle d'individus « contrôles »	11
Figure 9 : Feuille et disque d'aulne <i>Alnus glutinosa</i>	11
Figure 10 : Cylindres en polypropylène utilisées pour l'encagement de gammares	11
Figure 11 : Cages conditionnées en fûts de transport prêtes à l'envoi sur les sites d'étude	11
Figure 12 : Fûts de transport oxygénés et thermorégulés en glacière	11
Figure 13 : Transplantation in situ	12
Figure 14 : Système d'immersion contenant les cages de gammares	12
Figure 15 : Exemple de disques photocopiés	15
Figure 16 : Postes d'analyses biométriques	16
Figure 17 : Microdissection d'un gammare femelle	16
Figure 18 : Préparation d'une microplaque pour la mesure	17
Figure 19 : Mesure des cinétiques d'absorption	17
Figure 20 : Observation tégumentaire au microscope optique (x200) pour la détermination du stade de mue	18
Figure 21 : Photographie des ovocytes au microscope optique (x50) pour la mesure de la surface ovocytaire moyenne	18

Tableaux

Tableau 1 : Synthèse des sites d'étude et des campagnes de mesure	9
Tableau 2 : Synthèse des biotests de chimie et de toxicité	10
Tableau 3 : Liste des micropolluants métalliques et organiques	13
Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques	21
Tableau 5 : Résultats - Micropolluants métalliques	22
Tableau 6 : Résultats - Micropolluants métalliques supplémentaires	23
Tableau 7 : Résultats - Micropolluants organiques	24
Tableau 8 : Résultats - Effets toxiques	26

Lexique

Bioaccumulation : La bioaccumulation désigne la capacité des organismes vivants à absorber et à concentrer certaines substances chimiques. Chez un organisme, cette capacité peut fortement varier selon des facteurs biologiques (âge, sexe, etc.) ou selon des facteurs environnementaux liés aux caractéristiques physico-chimiques.

Biodisponibilité : La biodisponibilité correspond à la dose des substances chimiques dans l'environnement réellement assimilable par un organisme vivant, et donc potentiellement toxique. La fraction biodisponible d'une substance chimique représente la dose d'exposition pertinente à évaluer ou à prendre en compte pour évaluer la toxicité sur le vivant.

Biotest (ou bioessai) : Un biotest a pour objectif de mesurer une ou plusieurs réponses biologiques d'organismes vivants afin de mesurer l'effet de substances chimiques, de facteurs physiques ou de conditions environnementales.

Biomarqueur : Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant.¹

Ecotoxicologie : L'écotoxicologie est une discipline scientifique située à l'interface entre l'écologie et la toxicologie, née de la reconnaissance du fait qu'un nombre croissant de substances chimiques, à caractère polluant, contaminent tout ou partie de la biosphère et ont des effets délétères sur les êtres vivants.

Embryogenèse : L'embryogenèse est le processus de formation d'un organisme pluricellulaire, végétal ou animal, de la cellule œuf issue de la rencontre des gamètes parentaux à un être vivant autonome.

Micropolluant : Un micropolluant est une substance (minérale, biologique, organique, radioactive...) polluante (et donc altérage biologique, physique ou chimique) qui, à des concentrations infimes (microgrammes ou moins) dans l'eau, l'air ou le sol, peut avoir une action toxique ou écotoxique pour tout ou partie des organismes ou l'écosystème.

Mue : Chez les arthropodes (insectes, crustacés, arachnides...), comme chez tous les Ecdysozoaires, la mue consiste au renouvellement de la cuticule, l'enveloppe externe plus ou moins rigide et inextensible de l'animal. Les mues sont nécessaires à la croissance ou à la métamorphose. Le rejet de la cuticule porte plus particulièrement le nom d'exuviation (ecdysis en anglais), alors que le mot mue peut englober des phénomènes préparatoires et consécutifs à l'exuviation. L'ancienne cuticule qu'abandonne l'animal, l'*exuvie*, est parfois aussi appelée mue.

Ovocyte : L'ovocyte est la cellule sexuelle femelle des métazoaires (organismes pluricellulaires).

Ovogenèse : L'ovogenèse est le processus aboutissant à la production des ovocytes

Perturbateurs endocriniens : Un perturbateur endocrinien est une molécule qui mime, bloque ou modifie l'action d'une hormone et perturbe le fonctionnement normal d'un organisme. Ces molécules agissent sur l'équilibre hormonal et peuvent provoquer des effets indésirables sur la santé en altérant les grandes fonctions physiologiques d'un individu telles que la croissance, le développement, le comportement, ou encore la fonction sexuelle et reproductrice.

Vitellogenèse : Processus au cours duquel le vitellus est produit et accumulés dans les ovocytes comme réserves énergétiques pour assurer le développement des embryons.

¹ Lagadic *et al.* (1997).

1. BIOMÆ S.A.S.

a. Origine des outils BIOMÆ

La société BIOMÆ S.A.S. est une jeune entreprise innovante² créée en 2014 suite à un transfert de technologie de Irstea³ avec licence d'exploitation. Cette technologie a été développée et maturée pendant près de 10 ans par l'équipe de recherche de Irstea Lyon-Villeurbanne : Unité de recherche Milieux Aquatiques, Ecologie et Pollution / Laboratoire d'écotoxicologie⁴. La société est hébergée dans les locaux de Irstea du centre de recherche Irstea Lyon-Villeurbanne.



Figure 1 : Hébergement de BIOMÆ S.A.S.

BIOMÆ propose un savoir-faire innovant et breveté dans le domaine de la biosurveillance active des milieux aquatiques d'eau douce permettant d'expertiser la contamination chimique (*i.e.*, biodisponibilité⁵ des micropolluants⁵ métalliques et organiques) et la toxicité ; ceci via la réalisation de bioessais⁵ (ou biotests) *in situ*, c'est-à-dire directement dans le milieu récepteur à étudier (*e.g.*, rivières, fleuves, canaux et lacs).

Notre expertise en écotoxicologie⁵ est au service des acteurs de l'eau au sens large, que ce soit les gestionnaires publics des milieux aquatiques (*e.g.*, Agences de l'Eau et collectivités territoriales) ou les industriels (*e.g.*, pharmacologie, épuration des eaux usées, électricité, chimie lourde et pétrochimie, etc.).

b. Présentation de l'équipe BIOMÆ

BIOMÆ a été créée en 2014 par 4 co-fondateurs : Guillaume Jubeaux, Président, Responsable Scientifique ; Laurent Viviani, Directeur Général, Responsable Commercial ; Olivier Geffard et Arnaud Chaumot, Chercheurs au laboratoire d'écotoxicologie du centre de recherche Irstea Lyon-Villeurbanne, Co-inventeurs de la technologie et Membre du conseil scientifique de BIOMÆ.

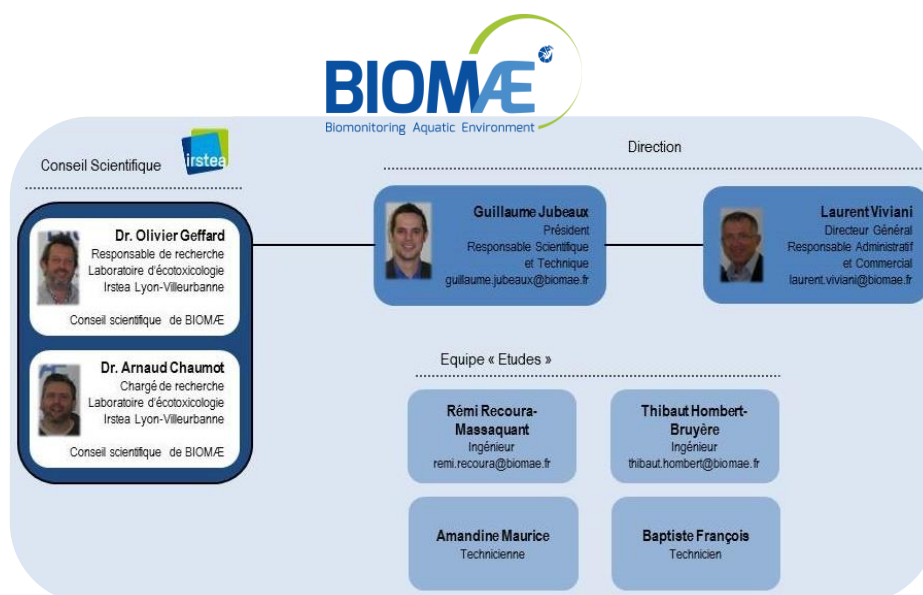


Figure 2 : Organigramme de la société BIOMÆ S.A.S.

² Biomæ est labellisée JEU (Jeune Entreprise Universitaire) et CIR (Crédit Impôt Recherche)

³ Institut de Recherche en Sciences et Technologies pour l'Environnement et l'Agriculture (ex-Cemagref)

⁴ <http://www.irstea.fr/la-recherche/unites-de-recherche/malv/laboratoire-decotoxicologie>

c. Expertise de BIOMÆ

○ Approche dite de « biosurveillance active »

Notre technologie repose sur l'utilisation de transplants, c'est-à-dire d'organismes vivants « contrôles » sélectionnés au laboratoire avant d'être exposés dans le milieu récepteur. Ils sont ensuite transplantés, via une méthode d'encagement, directement sur le site d'étude pendant 7 et/ou 21 jours ; la durée d'exposition étant définie en fonction du type de biotest. Les individus sont ensuite récupérés sur le site d'étude après exposition, échantillonnés au laboratoire et analysés post-exposition.



Figure 3 : Représentation schématique de notre approche « in situ »

Notre procédé d'exposition permet une biosurveillance active de la qualité des milieux⁵. L'encagement d'organismes transplantés permet de lever les limites des approches de biosurveillance passive basée sur le prélèvement et l'analyse d'organismes autochtones : absence de l'espèce ciblée sur le site d'étude, difficulté de standardisation des organismes (taille, sexe, etc.), difficulté d'interprétation liée à l'effet de l'habitat sur les réponses biologiques (prédation, compétition entre espèces, qualité et quantité de nutriments présents dans l'eau), pas de contrôle du temps d'exposition ni de garantie de la provenance des organismes prélevés.

○ Production d'un capteur biologique « contrôle »

L'organisme utilisé est une espèce de crevette sentinelle d'eau douce (*Gammarus fossarum*) largement présente dans les eaux continentales de surface françaises et européennes.

Les macro-invertébrés, et notamment les gammares, ont un rôle écologique fondamental pour le maintien des écosystèmes et sont également reconnus pour accumuler et être sensibles à une large gamme de contaminants chimiques⁶. Ce modèle biologique est, pour ces raisons, souvent utilisé en écotoxicologie.



Figure 4 : Photographie latérale d'un gammare, *Gammarus fossarum*

⁵ Besse, et al. (2012). "Relevance and applicability of active biomonitoring in continental waters under the Water Framework Directive", *Trends in Analytical Chemistry*, **36**: 113-127.

⁶ Kunz, et al. (2010). "Gammarus spp. in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: Toward integrated multilevel tests", *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **205**: 1-76.



Figure 5 : Dispositif de maintien d'organismes « contrôles »

Notre technologie repose sur l'utilisation d'organismes vivants « contrôles », issue d'une population de référence et maintenue en conditions contrôlées de laboratoire. Les organismes « contrôles » sont calibrés au laboratoire (taille, sexe, statut reproducteur, état physiologique etc.) avant d'être transplantés ; ceci pour limiter la variabilité biologique ou naturelle des réponses étudiées. Les connaissances fondamentales acquises sur ce modèle biologique ainsi que l'acquisition de données au laboratoire et à large échelle sur le terrain ont conduit à la construction d'une base de données et à la proposition de valeurs de référence (niveau médian normal) et de valeurs seuils (au-delà de laquelle une contamination et/ou une toxicité est significative). Nos outils de modélisation mathématique et notre expertise ont permis la définition de ces valeurs références et seuils intégrant la variabilité naturelle des réponses biologiques et permettant ainsi une interprétation fiable des marqueurs mesurés en terme d'impact toxique.

○ Réalisation de biotests in situ

Les biotests *in situ* que nous proposons permettent : 1- de quantifier les teneurs en micropolluants métalliques et organiques biodisponibles accumulés dans les individus « contrôles »⁷ et 2- d'évaluer les effets toxiques des micropolluants présents dans le milieu récepteur à l'aide de marqueurs moléculaires (effet neurotoxique des insecticides⁸) ou mesurés sur l'individu entier (survie, alimentation⁹ et reproduction¹⁰ ou effet de perturbateurs endocriniens¹¹).

Biotests	Informations obtenues	Durée du test
Bioaccumulation "métaux"	Contamination métallique biodisponible anormale	7 jours
Bioaccumulation "organiques"	Contamination organique biodisponible anormale	7 jours
Survie	Toxicité létale en lien avec la présence de micropolluants	7 jours
Alimentation	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	7 jours
Neurotoxicité	Toxicité sub-létale en lien avec la présence d' insecticides	7 jours
Mue et Reproduction	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	Variable (14 à 21 jours)
Perturbation endocrinienne	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de perturbateurs endocriniens	Variable (14 à 21 jours)

○ Comparaison à nos valeurs de référence (bases de données)

La force du service proposé par BIOMÆ aujourd'hui est qu'il offre le seul outil écotoxicologique permettant : 1- d'une part, une comparaison fiable, entre systèmes aquatiques étudiés et dans le temps, des niveaux de contamination et de toxicité observés et, 2- d'autre part, à l'aide de nos référentiels associés, de conclure sur la présence d'une contamination biodisponible anormalement élevée par rapport au niveau bas national et d'interpréter de façon fiable les modulations observées des marqueurs en termes de toxicité des milieux.

⁷ Besse, et al. (2013). "Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: Towards the determination of threshold values". *Water Research*, 47: 650-660.

⁸ Xuereb, et al. (2007). "Cholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos." *Toxicology*, 236(3): 178-189.

⁹ Coulaud et al. (2011). "In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring." *Water Research*, 45(19): 6417-6429.

¹⁰ Geffard, et al. (2010). "Ovarian cycle and embryonic development in *Gammarus fossarum*: Application for reproductive toxicity assessment." *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(10): 2249-2259.

¹¹ Brevet Irstea déposé le 29 avril 2014 sous le numéro 14 53885 et intitulé : « Méthode de détermination de la reprotoxicité d'eau douce »

2. CONTEXTE D'ETUDE

a. Description de la problématique de l'étude

Le contexte de cette étude concernait 5 sites, répartis sur l'ensemble du bassin Artois-Picardie, à expérimenter pendant deux campagnes de mesure : la première a débuté en Juillet 2015 et la seconde en Octobre 2015.

L'ensemble des biotests de bioaccumulation et de toxicité proposés par BIOMÆ a été déployé sur ces sites au cours de ces deux campagnes de mesure.

Les principaux objectifs de cette étude étaient :

- [1] tester la pertinence de deux sites identifiés comme « sites de référence » à l'aide de l'utilisation des biomarqueurs d'exposition et d'effet.
- [2] évaluer l'impact de substances chimiques et en particulier de pesticides sur le biote ; ceci en appliquant plusieurs biomarqueurs d'exposition sur des sites connus pour leur niveau de contamination élevé
- [3] tester l'approche gammare dans un contexte de « contrôle d'enquête » sur des sites où la présence de substances chimiques est avérée mais de façon intermittente et avec des niveaux parfois faibles.

b. Liste des sites d'étude et des campagnes de mesure

Le tableau ci-dessous présente le(s) site(s) d'étude (code station et nom de la station de mesure), le réseau de surveillance, le type d'hydro-écorégion (HER) ainsi que les dates d'intervention sur les sites d'études pour chaque campagne (les dates inscrites sur les lignes du haut concernent la première campagne, et celles inscrites en bas concernent la deuxième campagne).

En **annexe**, un tableau plus détaillé est disponible, contenant les informations supplémentaires suivantes : masse d'eau, commune, code postal, coordonnées théoriques en Lambert et en WGS84, coordonnées effectives en Lambert et en WGS84 (point d'encagement), type de système d'exposition (fût ou caisse), nom du bureau d'étude sous-traitant les interventions sur les sites d'étude.

Tableau 1 : Synthèse des sites d'étude et des campagnes de mesure

Informations Agence					Dates d'intervention			
	Code station	Station de mesure	Réseau	HER	J+0	J+7	J+N**	Campagne
1	01025000	La Selle à Montay	RHAP	P9	08/07/15	15/07/15	*	1
					28/08/15	*	11/09/15	1 bis
					14/10/15	21/10/15	04/11/15	2
2	01078000	La Deûle à Courrières	RCO	M9	08/07/15	15/07/15	*	1
					28/08/15	*	11/09/15	1 bis
					14/10/15	21/10/15	04/11/15	2
3	01089000	L'Yser à Bambecque	RCS/RCO	P20	09/07/15	16/07/15	23/07/15	1
					15/10/15	22/10/15	05/11/15	2
					09/07/15	16/07/15	23/07/15	1
4	01097500	La Créquoise à Beaurainville	RHAP/Référence	M9	15/10/15	22/10/15	05/11/15	2
					09/07/15	16/07/15	23/07/15	1
5	01138300	Les Evoissons à Bergicourt	RCS/Référence	P9	15/10/15	22/10/15	05/11/15	2
					09/07/15	16/07/15	23/07/15	1

* : En raison d'un mouvement de grève de la part des agriculteurs qui avaient bloqué fin juillet 2015 une partie des axes routiers, les glaciers contenant les organismes exposés sur la Selle et la Deûle avaient été bloquées chez notre partenaire transporteur TNT, empêchant ainsi la mesure des marqueurs de reprotoxicité. De ce fait, les expérimentations ont été réitérées fin août 2015 sur les deux stations de mesure concernées. Pour ces 2 sites, le test de bioaccumulation et le test d'alimentation ont démarré le 08/07/15 et ont été récupérés sur site le 15/07/15 - le test de reprotoxicité a démarré le 28/08/15 et a été récupéré sur site le 11/09/15

** N = 14 jours pour la première campagne de mesure et 21 jours pour la deuxième campagne de mesure

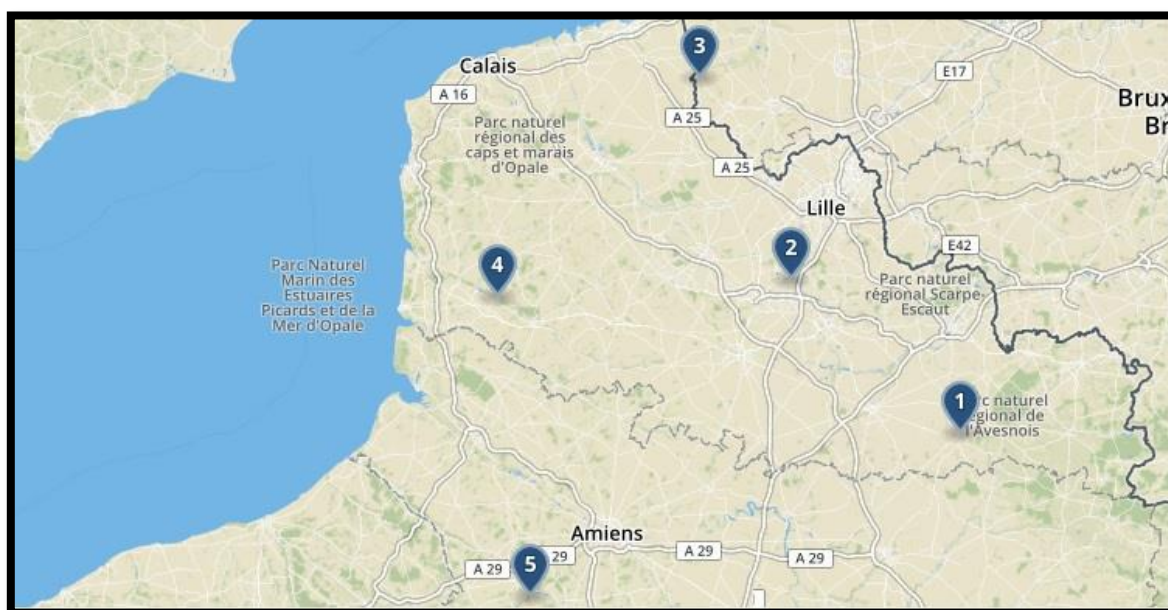


Figure 6: Plan de localisation des 5 sites d'étude pour les deux campagnes de mesure Artois-Picardie
1 : Selle à Montay, 2 : Deûle à Courrières, 3 : Yser à Bambecque, 4 : Créquoise à Beaurainville, 5 : Evoissons à Bergicourt

c. Liste des biotests mis en place au cours de l'étude

Le tableau ci-dessous présente les biotests qui ont été mis en place au cours de cette étude. Pour chaque biotest est détaillé l'information recherchée (intérêt), la durée du biotest, le type de gomme utilisé, le type d'analyse et le critère d'évaluation et enfin les outils utilisés par BIOMÆ pour interpréter les résultats.

Tableau 2 : Synthèse des biotests de chimie et de toxicité

Biotest	Intérêt	Durée	Gammes	Analyse	Critère d'évaluation	Outils d'interprétation
Bioaccumulation "métaux" ^a	Contamination métallique biodisponible anormale	7 jours	Mâles	Dosage chimique	Concentration en métaux (11) dans les gammes	Seuils de contamination Bases de données
Bioaccumulation « organiques »	Contamination organique biodisponible anormale	7 jours	Mâles	Dosage chimique	Concentration en contaminants organiques (31) dans les gammes	Seuils de contamination Bases de données
Survie	Toxicité létale en lien avec la présence de micropolluants	7 jours	Mâles	/	Taux de mortalité (<i>exprimé en %</i>)	/
Alimentation ^b	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	7 jours	Mâles	Mesure biométrique	Taux d'alimentation (<i>exprimé en % inhibition</i>)	Valeurs de référence Modèle mathématique
Neurotoxicité	Toxicité sub-létale en lien avec la présence d' insecticides anti-cholinésterasiques	7 jours	Mâles	Dosage biochimique	Activité enzymatique AChE (<i>exprimé en % inhibition</i>)	Valeurs de référence
Mue et Reproduction ^b	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de micropolluants	Variable ^c	Femelles	Mesure biométrique	Stade de mue et fécondité	Valeurs de référence Modèle mathématique
Perturbation endocrinienne ^b	Toxicité sub-létale en lien avec la présence de perturbateurs endocriniens (type invertébrés)	Variable ^c	Femelles	Mesure biométrique	Synchronisation du cycle de mue et de la croissance ovocytaire	Valeurs de référence Modèle mathématique

(a) Dans le cadre de ses travaux de R&D, Biomæ a réalisé en plus des analyses prévues au contrat, des analyses pour d'autres substances sur les sites étudiés dans le but de construire une plus large base de données « référentiel » et de définir à terme des seuils de contamination pour ces nouvelles substances. Dans le cadre de ce projet, des substances supplémentaires seront données. Il ne sera pas possible de comparer les niveaux de contamination observés à des valeurs seuils. ; (b) Pour ces biotests, il est nécessaire de suivre les chroniques de température lors de l'exposition (1 mesure par heure) ; (c) Durée du test "température dépendant", généralement comprise entre 14 et 21 jours

3. MATERIELS ET METHODES

a. Matériel biologique

Le modèle biologique « invertébré » utilisé pour les biotests est une espèce de crustacé amphipode dulçaquicole du genre *Gammarus* : *Gammarus fossarum*. Les gammares proviennent de la population de référence identifiée et suivie par le laboratoire d'écotoxicologie de Irstea (Centre Lyon-Villeurbanne) depuis 2003 et à partir de laquelle les valeurs de référence ont été définies pour chaque biotest.

Les organismes sont pré-triés à l'aide d'une colonne de tamis certifiés (norme NF ISO 3310-1) puis triés manuellement de manière à sélectionner des gammares mâles de taille homogène ou des gammares femelles à un stade de mue et de reproduction spécifique.

Des feuilles d'aulne (*Alnus glutinosa*) sont utilisées pour alimenter les organismes pendant les expérimentations. Des disques de feuilles sont utilisés pour le biotest d'alimentation.



Figure 7 : Colonne de tamis certifiés - norme NF ISO 3310-1 - pour pré-tri (trames 2, 2.5 et 10 mm)



Figure 8 : Calibration manuelle d'individus « contrôles »



Figure 9 : Feuille et disque d'aulne *Alnus glutinosa*

b. Procédure d'encagement

Les gammares sont encagés dans des cylindres en polypropylène (hauteur : 11 cm ; diamètre : 5,5 cm) percés par des trous pour garantir une libre circulation de l'eau. Les cages sont conditionnées dans des fûts contenant de l'eau de forage. Ces fûts sont transportés en glacière sur les sites d'étude et les gammares sont maintenus à une température égale à $10 \pm 4^\circ\text{C}$ et oxygénés avec des pompes autonomes d'aération.



Figure 10 : Cylindres en polypropylène utilisés pour l'encagement de gammares



Figure 11 : Cages conditionnées en fûts de transport prêtes à l'envoi sur les sites d'étude



Figure 12 : Fûts de transport oxygénés et thermorégulés en glacière

- RÈGLES D'INSTALLATION ET DE SUIVI DES SYSTÈMES D'IMMERSION -

Le présent protocole concerne l'encagement de gammares dans les cours d'eau sur un point de mesure fixe. Il s'applique à tous types de cours d'eau.

Les cages sont protégées par un système d'immersion. Le système d'immersion est placé dans le cours d'eau, face au courant, sans distinction de rives. Il est déposé directement sur le fond du cours d'eau ou à 30 cm maximum, au bout d'un câble relié à la rive en veillant à ce qu'il n'y ait pas de risque d'exondation. Le système d'immersion posé doit être exposé dans une zone à courant et être lesté pour éviter qu'il ne se retrouve hors d'eau.

Selon la distance à la berge, le système d'immersion peut être posé soit à partir de la rive, soit à partir d'un pont mais toujours relié par une corde à camoufler soigneusement pour éviter les retraits/dégradations/pertes intempestifs par vandalisme.

Les systèmes sont immergés pendant une période de 1 à 3 semaines : durée qui correspond à la réalisation des différents biotests.

*On évitera de les poser dans des secteurs à trop forte sédimentation de façon à éviter un colmatage trop rapide des cages de gammares. Un nettoyage du système d'immersion est réalisé à J+7 si les expérimentations *in situ* se poursuivent.*

Si le déplacement « naturel » du système (e.g. par un épisode de crue violent) et/ou si une réduction importante du débit lors de la phase d'exposition ont lieu, vérifier que le système d'immersion est toujours dans une zone de courant. .



Figure 13 : Transplantation *in situ*
des cages sur site d'étude



Figure 14 : Système d'immersion contenant les cages de
gammars

Les expérimentations *in situ* durent entre 7 et/ou 14/21 jours en fonction du type de biotests. Au cours des expérimentations, un ensemble de paramètres physico-chimiques est enregistré. La température (°C), la conductivité (µS/cm), le pH ainsi que l'oxygène dissous (mg/L) sont relevés ponctuellement à chaque intervention sur le site d'étude : J0, J7 et/ou J+N (14 ou 21 jours).

En parallèle, des enregistreurs de température, paramétrés pour réaliser une mesure par heure, sont placés dans les systèmes d'immersion pendant toute la durée de l'exposition *in situ*. Les chroniques de température sont nécessaires au calcul du taux d'alimentation attendu hors contamination chimique (cf. biotest d'alimentation), ainsi qu'au calcul des pourcentages attendus pour les différents stades de mue, ceci hors contamination chimique (cf. biotests de reproduction et de perturbation endocrine). Les valeurs attendues sont obtenues à partir d'un modèle prédictif, développé par Irstea, qui tient compte de l'effet de la température sur ces réponses biologiques.

c. Bioaccumulation de micropolluants métalliques et organiques

Des cages contenant n gammarès mâles « contrôles » sont exposées *in situ* pendant sept jours. Des analyses sur un lot de gammarès « témoins », issus des aquariums en stabulation et non exposés sur le terrain, sont réalisées pour chaque étude pour les métaux et les contaminants organiques. Après exposition, les gammarès sont poolés et répartis de façon aléatoire dans un flaconnage adapté en fonction du type d'analyse : métaux ou organiques. Les échantillons sont congelés dans l'azote liquide puis stockés dans un congélateur -20°C pendant 6 mois maximum. Les échantillons sont lyophilisés dans des chambres individuelles à raison d'une chambre par point de mesure. Après lyophilisation, les échantillons sont placés au congélateur -20°C jusqu'à leur analyse.

Le dosage de micropolluants métalliques et organiques est réalisé via différentes méthodes : 1- les composés métalliques sont analysés par plasma à couplage inductif couplé à la spectrométrie de masse (ICPMS, Thermo série X7 II) après minéralisation des échantillons par micro-ondes avec de l'acide nitrique ; 2- les composés organiques sont analysés par chromatographie en phase gazeuse avec détection par spectrométrie de masse en tandem (GCMSMS).

Les données sont exprimées en microgramme par gramme de masse sèche pour les métaux ($\mu\text{g/g MS}$) et en nanogramme par gramme de masse sèche pour les composés organiques (ng/g MS). Le facteur d'incertitude pour chaque micropolluant est d'environ 30% la limite de quantification atteinte.

Tableau 3 : Liste des micropolluants métalliques et organiques

Famille	Paramètre	Limite de quantification	Unité	Technique analytique	N° CAS	Code SANDRE
Métaux	Argent (Ag)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-22-4	1368
Métaux	Arsenic (As)	0,02	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-38-2	1369
Métaux	Cadmium (Cd)	0,1	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-43-9	1388
Métaux	Chrome Total (Cr)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-47-3	1389
Métaux	Cobalt (Co)	0,02	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-48-4	1379
Métaux	Cuivre (Cu)	0,1	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-50-8	1392
Métaux	Mercuré (Hg)	0,02	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7439-97-6	1387
Métaux	Nickel (Ni)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-02-0	1386
Métaux	Plomb (Pb)	0,05	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7439-92-1	1382
Métaux	Sélénium (Se)	0,1	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7782-49-2	1385
Métaux	Zinc (Zn)	0,5	$\mu\text{g/g}$	ICPMS	7440-66-6	1383
HAP	Acénaphène	1	ng/g	GCMSMS	83-32-9	1453
HAP	Acénaphthylène	1	ng/g	GCMSMS	208-96-8	1622
HAP	Anthracène	1	ng/g	GCMSMS	120-12-7	1458
HAP	Benzo (a) Anthracène	1	ng/g	GCMSMS	56-55-3	1082
HAP	Benzo (a) Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	50-32-8	1115
HAP	Benzo (b+j) Fluoranthène	2	ng/g	GCMSMS	-	3000
HAP	Benzo (e) Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	192-97-2	1460
HAP	Benzo (g,h,i) Perylène	1	ng/g	GCMSMS	191-24-2	1118
HAP	Benzo (k) Fluoranthène	1	ng/g	GCMSMS	207-08-9	1117
HAP	Chrysène	1	ng/g	GCMSMS	218-01-9	1476

HAP	Fluoranthène	1	ng/g	GCMSMS	206-44-0	1191
HAP	Fluorène	1	ng/g	GCMSMS	86-73-7	1623
HAP	Indeno (1,2,3-cd) Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	193-39-5	1204
HAP	Naphtalène	1	ng/g	GCMSMS	91-20-3	1517
HAP	Pérylène	1	ng/g	GCMSMS	198-55-0	1620
HAP	Phénanthrène	1	ng/g	GCMSMS	85-01-8	1524
HAP	Pyrène	1	ng/g	GCMSMS	129-00-0	1537
Autre	Hexachlorobenzène	1	ng/g	GCMSMS	118-74-1	1199
Insecticide	DDD 4,4'	1	ng/g	GCMSMS	72-54-8	1144
Insecticide	DDE 2,4'	1	ng/g	GCMSMS	3424-82-6	1145
Insecticide	DDE 4,4'	1	ng/g	GCMSMS	72-55-9	1146
Insecticide	DDT 2,4'	1	ng/g	GCMSMS	789-02-6	1147
Insecticide	DDT 4,4'	1	ng/g	GCMSMS	50-29-3	1148
Insecticide	HCH Gamma (Lindane)	1	ng/g	GCMSMS	58-89-9	1203
Polychlorobiphenyle	PCB 101	1	ng/g	GCMSMS	37680-73-2	1242
Polychlorobiphenyle	PCB 118	1	ng/g	GCMSMS	31508-00-6	1243
Polychlorobiphenyle	PCB 138	1	ng/g	GCMSMS	35065-28-2	1244
Polychlorobiphenyle	PCB 153	1	ng/g	GCMSMS	35065-27-1	1245
Polychlorobiphenyle	PCB 180	1	ng/g	GCMSMS	35065-29-3	1246
Polychlorobiphenyle	PCB 28	1	ng/g	GCMSMS	7012-37-5	1239
Polychlorobiphenyle	PCB 52	1	ng/g	GCMSMS	35693-99-3	1241

d. Alimentation

Un lot « témoin » de gammares issus des aquariums en stabulation est réalisé pour chaque étude afin de déterminer la taille moyenne des organismes sélectionnés pour les tests. Les gammares sont photographiées à l'aide d'une loupe binoculaire équipée d'un appareil photo numérique, puis mesurées dans un deuxième temps avec le logiciel d'analyse d'image SigmaScan R Pro v5.0. Le nombre de pixels correspondant à la longueur du gammare est mesuré et est converti en millimètres à partir d'une lame étalon. La moyenne des tailles est utilisée pour le calcul du test d'alimentation.

Les gammares mâles sont exposés *in situ* pendant sept jours. Un blanc d'alimentation, sans gammares et contenant uniquement des disques de feuille, est réalisé sur chaque site. Ce témoin permet de contrôler la consommation de feuilles qui n'est pas liée à l'activité des gammares : activité microbienne ou macro-invertébré autochtones. Un enregistreur de température est placé avec les gammares durant leur exposition *in situ*.

Après exposition, les résidus de disques sont échantillonnés, placés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à leur analyse et les gammares survivants sont comptabilisés afin de calculer le taux de survie par cage. Les résidus de disques sont photocopiés, scannés et mesurés avec un logiciel d'analyse d'image (SigmaScan ® Pro v5.0) et convertis en mm².

Le taux d'alimentation (FR – feeding rate) est calculé à partir de la surface totale de disques consommée en mm², du témoin d'alimentation, du taux de survie, de la température moyenne d'exposition et de la taille moyenne des gammares (témoin taille). Le taux d'alimentation est exprimé en mm² consommés par jour et par gammare (mm²/j/ind).

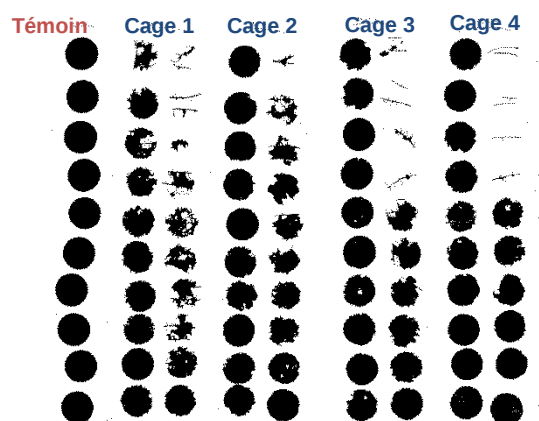


Figure 15 : Exemple de disques photocopiés

e. Reproduction

Des gammares femelles « contrôles » sont exposées *in situ* pendant 14 à 21 jours, en fonction de la température d'exposition. Un enregistreur de température est placé avec les cages durant leur exposition *in situ*. Ces chroniques de température sont déchargées à J+7 et sont entrées dans un modèle mathématique qui permet de prédire le stade d'avancement des femelles dans le cycle de reproduction en fonction de la température d'exposition. La date d'arrêt du test de reproduction est ainsi définie, de manière à obtenir un maximum de femelles au stade d'avancement souhaité pour la lecture du test. Cette étape permet de choisir la date d'arrêt du test de reproduction.

Après exposition, un ensemble de mesures biométriques est effectué sur chaque femelle :

- 1- la taille, mesurée à partir d'une photographie traitée par un logiciel d'analyse d'image (SigmaScan ® Pro v5.0). La taille est exprimée en millimètres (mm).
- 2- les embryons sont retirés manuellement de la poche ventrale (marsupium) à l'aide de pinces, puis placés sur une lame de verre afin d'être comptés sous loupe binoculaire (x 30).
- 3- Le stade de mue^o est déterminé *in vivo*, par observation directe de la morphogenèse tégumentaire des paires de pattes (périopodes) des femelles, montées entre lame et lamelle et observées au microscope optique (x200). Le cycle de mue se découpe en six stades de post-, inter- et pré-mue.
- 4- Les surfaces ovocytaires sont mesurées par observation microscopique *in toto*. Les femelles sont placées latéralement entre deux lames de verre, dans une goutte d'eau, les ovocytes sont photographiés au grossissement x50. La surface de chaque ovocyte est ensuite déterminée avec le logiciel d'analyse Sigma Scan Pro 5®. On calcule la surface moyenne des ovocytes avec *a minima* cinq ovocytes. La vitellogenèse^o (ou ovogenèse^o) a été caractérisée en mesurant l'évolution de la surface ovocyttaire moyenne au cours du cycle de reproduction

La fécondité (nombre d'embryons produits) est normalisée sous forme d'indice par rapport à la taille des femelles et correspondent à la moyenne des valeurs observées sur un site.



Figure 16 : Postes d'analyses biométriques



Figure 17 : Microdissection d'un gammare femelle sous une loupe binoculaire

f. Neurotoxicité

Des gammarès mâles « contrôles » sont exposées *in situ* pendant 7 jours.

Les gammarès sont poolés, répartis et pesés par lots de cinq dans des cryotubes, puis congelés dans l'azote liquide et stockés dans un congélateur -80°C pendant 6 mois maximum jusqu'à leur analyse.

Les échantillons de gammarès entiers sont broyés dans du tampon d'extraction. Les homogénats obtenus sont centrifugés à 9 000 x g durant 15 min, à 4 °C. Le surnageant récupéré (*i.e.*, fraction S9) est conservé dans de la glace pour la mesure de l'activité enzymatique de chaque échantillon.

Le dosage de l'activité AChE a été réalisé selon une méthode colorimétrique. Cette méthode utilise la réaction entre la thiocholine, formée au cours de l'hydrolyse des esters de thiocholine (*i.e.*, substrat de synthèse) par les AChE, et un substrat secondaire, l'acide dithio-bis-nitrobenzoïque (DTNB). Les esters de thiocholine sont des analogues structuraux aux substrats naturels des AChE. Ils sont hydrolysés pratiquement avec la même efficacité mais leur hydrolyse libère un groupement thiol (-SH) qui réagit avec le DTNB. Un des produits finaux de cette cascade de réactions, le 2-nitro-5-thionobenzoate (TNB), colore progressivement le milieu réactionnel en jaune.

L'apparition du TNB est suivie par des lectures de densité optique (DO) d'absorbance à 405 nm, effectuées à intervalles de temps réguliers au moyen d'un spectrophotomètre. Le rapport stœchiométrique de ces réactions étant égale à 1, le nombre de moles de TNB formées est équivalent au nombre de moles d'ester de thiocholine hydrolysées. Ainsi, la cinétique d'absorption est convertie en nanomoles de substrat hydrolysées par minute d'après le coefficient d'absorption molaire du TNB ($\epsilon = 1.36 \times 10^{-2} \text{ ml.nmol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$).

Les mesures d'activité ont été réalisées en microplaques de 96 puits.

Des triplicats de mesures ont été effectués pour chaque échantillon testé. Lorsque le coefficient de variation entre triplicats était > 20 %, l'échantillon était analysé une nouvelle fois. Pour la calibration de cette méthode, l'hydrolyse spontanée des substrats est estimée par la réalisation d'un blanc sans S9. La présence, dans la fraction S9, de composés possédant des groupements thiols est également systématiquement évaluée au moyen de blancs sans ester de thiocholine. L'activité enregistrée dans les blancs est toujours inférieure à 0.03 nmol.min⁻¹. La limite de détection des activités AChE chez *Gammarus*, selon la méthode décrite, a donc été estimée à 0.1 nmol.min⁻¹.

L'absorption du TNB formé au cours de la réaction a été enregistrée toutes les 60 s durant 10 min à 25 °C à l'aide d'un spectrophotomètre *Safire®* (TECAM). Seules les valeurs situées dans la phase d'augmentation linéaire de DO ont été utilisées pour calculer la cinétique d'absorption (*i.e.*, Δ absorbance).

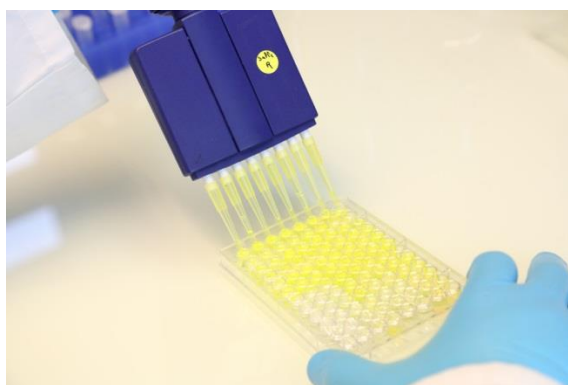


Figure 18 : Préparation d'une microplaque pour la mesure de l'activité enzymatique de l'AChE



Figure 19 : Mesure des cinétiques d'absorption par spectrophotométrie

g. Perturbation endocrinienne

A partir des femelles utilisées pour le test de reproduction (voir plus haut – « Test de reproduction »), des mesures complémentaires ont été réalisées afin d'identifier l'exposition à des perturbateurs endocriniens. L'étude d'impact des perturbateurs endocriniens consiste en une comparaison fine du stade de mue et de la surface ovocytaire moyenne de chaque femelle ; ceci afin d'identifier des désynchronisations spécifiques du cycle de mue ou du cycle de croissance ovocytaire.

Chez *Gammarus fossarum*, les cycles de mue et de croissance ovocytaire sont parfaitement synchronisés : à chaque stade de mue correspond une surface ovocytaire précise. Ces deux processus physiologiques sont sous le contrôle de deux voies hormonales bien distinctes : la mue étant contrôlée par des hormones « ecdystéroïdes » tandis que la croissance ovocytaire par des hormones « terpénoïdes ». Dans le cadre de toxicité globale, on observe un retard simultané de la mue et de croissance ovocytaire. Une désynchronisation de l'un de ces deux processus (retard de l'un par rapport à l'autre) s'interprète comme un effet spécifique de sa voie hormonale, et par conséquent par la présence de composés de type « perturbateurs endocriniens ».

Les surfaces ovocytaires sont mesurées par observation microscopique *in toto*. Les femelles sont placées latéralement entre deux lames de verre, dans une goutte d'eau, les ovocytes sont photographiés au grossissement x50. La surface de chaque ovocyte est ensuite déterminée avec le logiciel d'analyse Sigma Scan Pro 5®. On calcule la surface moyenne des ovocytes avec *a minima* cinq ovocytes. La vitellogenèse^o (ou ovogenèse^o) a été caractérisée en mesurant l'évolution de la surface ovocytaire moyenne au cours du cycle de reproduction



Figure 20 : Observation tégmentaire au microscope optique (x200) pour la détermination du stade de mue

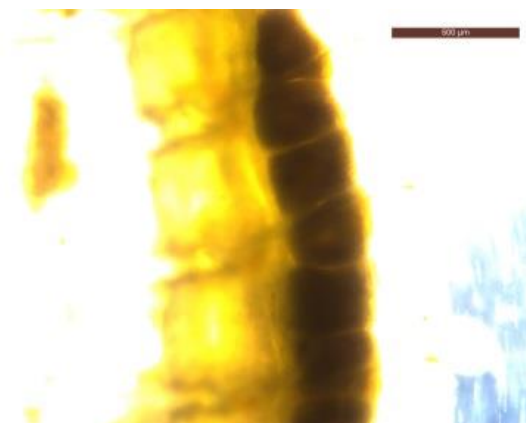


Figure 21 : Photographie des ovocytes au microscope optique (x50) pour la mesure de la surface ovocytaire moyenne

h. Traitement des données et analyse statistique

❖ Biodisponibilité des contaminants métalliques et organiques

Les résultats des analyses chimiques sont présentés respectivement en microgramme et en nanogramme par gramme de matière sèche pour les métaux et les composés organiques. Le code couleur ci-dessous permet d'évaluer la conformité de chaque substance en comparant la concentration mesurée à une valeur seuil définie par Irstea :

- en vert lorsque la teneur de l'élément est inférieure à la valeur seuil
- en rouge lorsque la teneur de l'élément est supérieure à la valeur seuil

Une concentration supérieure au seuil traduit une contamination significativement anormale (avec un risque de première espèce de 5%) par rapport à un niveau moyen bas déterminé sur plus de 200 sites par Irstea. La mention « NI » (non interprété) est indiquée sur fond gris dans le tableau de résultat. Dans la présente étude, c'est le cas pour certains éléments organiques mesurés au cours de la première campagne en raison de blancs de lyophilisation non conformes et ne permettant pas de faire une interprétation fiable des niveaux de bioaccumulation.

❖ Impact toxique à partir de biomarqueurs

- **Le taux d'alimentation** est calculé à partir de 4 réplicats. Ensuite, la valeur moyenne est comparée à la valeur de référence, qui correspond à la consommation de feuille attendue en milieu non contaminé et pour les conditions d'exposition observées (température). Cette différence est exprimée en pourcentage d'inhibition. Pour une interprétation fiable du test d'alimentation, le taux de mortalité ne doit pas dépasser 25% de l'effectif total. Entre 25 et 50% de mortalité, les résultats sont présentés en italique et ne peuvent pas être interprétés de façon fiable. Au-delà de 50% de mortalité, les résultats ne sont pas présentés et la mention « NC » (non calculé) est indiquée sur fond gris dans le tableau de résultat. Le taux d'alimentation peut-être mesurée à minima partir de 3 réplicats. En dessous, les résultats ne sont pas présentés.
- **L'activité AChE** est mesurée à partir de cinq réplicats et est exprimée en nmol/min ; puis la moyenne des 5 valeurs obtenues est calculée. Cette valeur moyenne est ensuite comparée à la valeur de référence, qui correspond à l'activité attendue en milieu non contaminé. Cette différence est exprimée en pourcentage d'inhibition. Pour l'interprétation fiable du test de neurotoxicité, l'activité AChE peut-être mesurée à minima partir de 3 réplicats. En dessous, les résultats ne sont pas présentés et la mention « NC » (non calculé) est indiquée sur fond gris dans le tableau de résultat.
- **L'indice de fécondité** qui correspond à la moyenne du nombre d'embryons normalisé par la taille des femelles est comparé à la valeur de référence. **La distribution des stades de mue** observée pour les femelles analysées est comparée à la distribution de référence attendue pour les conditions d'exposition observées (température). Enfin, **la désynchronisation des cycles de mue et de croissance ovocytaire** (perturbation endocrinienne) est mesurée en comparant le stade de mue et la surface ovocytaire observés par rapport à la valeur de référence. La surface moyenne des ovocytes est calculée à partir d'au moins 5 ovocytes par femelle. Pour une interprétation fiable des tests de reprotoxicité et de perturbation endocrinienne, le nombre de mesures individuelles doit être égal ou supérieur à 10. Dans le cas contraire, les résultats ne sont pas présentés et la mention « NC » (non calculé) est indiquée sur fond gris dans le tableau de résultat..

Pour ces biomarqueurs, des tests statistiques ont été réalisés pour vérifier la conformité des résultats obtenus pour chaque biomarqueur par rapport aux valeurs attendues hors toxicité (référentiel). Le code couleur ci-dessous permet d'évaluer la **conformité** de chaque biomarqueur en comparant le résultat obtenu au référentiel développé par Irstea. La couleur est « verte » si la mesure est conforme au référentiel. En cas de non-conformité, la couleur est « orange » ou « rouge » respectivement en cas d'effet suspecté (p -value de 5%) ou d'effet avéré (p -value de 1%).

- en vert lorsque la réponse obtenue est conforme au référentiel
- en orange lorsque la réponse obtenue est non-conforme avec un effet suspecté (p -value <5%)
- en rouge lorsque la réponse obtenue est non-conforme avec un effet avéré (p -value <1%)

4. RESULTATS ET INTERPRETATIONS

a. Rapport d'échantillonnage

Les systèmes d'immersion ont été exposés dans les conditions respectant notre protocole précédemment cité (cf. II. Matériels et méthodes > b. Procédure d'encagement > REGLES D'INSTALLATION ET DE SUIVI DES SYSTEMES D'IMMERSION).

L'ensemble des expérimentations s'est bien déroulé pour les deux campagnes de mesure, il n'y a pas eu de problème concernant l'exposition des organismes dans les milieux, à la pose et à la récupération des biotests. En revanche, durant la première campagne de mesure, en raison d'un mouvement de grève de la part des agriculteurs qui avaient bloqué fin juillet 2015 une partie des axes routiers, les glacières contenant les organismes exposés sur la Selle et la Deûle avaient été bloquées chez notre partenaire transporteur TNT, empêchant ainsi la mesure des marqueurs de reprotoxicité. De ce fait, les expérimentations ont été relancées fin août 2015 sur les deux stations de mesure concernées (biotest de reprotoxicité uniquement).

Une annexe présente pour chaque station de mesure l'ensemble des informations suivantes : description géographique du site d'étude avec coordonnées GPS, carte IGN, photos des zones d'encagement au niveau de la station de mesure, type de système d'exposition utilisé et paramètres physico-chimiques pour les trois interventions réalisées à chacune des deux campagnes.

b. Paramètres physico-chimiques

Les deux tableaux ci-dessous présentent les paramètres physico-chimiques qui ont été mesurés sur les stations au cours de la campagne 1 (Juillet 2015) et de la campagne 2 (Octobre 2015).

Pour la campagne 1, les résultats des paramètres physico-chimiques sont présentés en deux colonnes pour la Selle et la Deûle : 1 et 1 bis ; 2 et 2 bis.

- Les colonnes 1 et 2 concernent les résultats des mesures physico-chimiques pour les 7 premiers jours d'expérimentation pour les biotests d'alimentation et de neurotoxicité.
- Les colonnes 1 bis et 2 bis concernent les mesures physico-chimiques pour les biotests de reprotoxicité à JN qui ont été relancées en septembre 2015 suite à un problème d'expérimentation in situ en Juillet (glacières contenant les gammarès bloquées au dépôt logistique de TNT). Nous avons donc relancé les expérimentations.

Concernant la température, il s'agit de la valeur minimale, la valeur médiane et la valeur maximale enregistrées au cours de la chronique faite sur des mesures toutes les heures, durant toute la durée de l'expérimentation dans le milieu.

Pour les trois autres paramètres (conductivité, pH et oxygène dissous), il s'agit des mesures ponctuelles réalisées à chaque intervention sur les sites d'étude : J0, J7 et JN.

Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques

		Campagne 1						Campagne 2					
		1	1 bis	2	2 bis	3	4	5	1	2	3	4	5
		La Selle à Montay	La Selle à Montay (Reprotoxicité)	La Deûle à Courrières	La Deûle à Courrières (Reprotoxicité)	L'Yser à Bambecque	La Crequoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt	La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambecque	La Crequoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt
		01025000	01025000	0107800	0107800	01089000	01097500	01138300	01025000	0107800	01089000	01097500	01138300
Date intervention	J0	08/07/15	28/08/15	08/07/15	28/08/15	09/07/15			14/10/15		15/10/15		
	J7	15/07/15	nd	15/07/15	nd	16/07/15			21/10/15		22/10/15		
	JN	nd	11/09/15	nd	11/09/15	23/07/15			04/11/15		05/11/15		
Température (°C)	Min	10,8	10,3	20,6	13,7	18,6	11,0	10,9	8,8	11,2	8,6	9,0	8,8
	Max	15,4	15,4	22,6	20,6	22,9	15,7	17,4	11,8	13,3	11,9	12,2	11,9
	Médiane	12,7	12,2	21,5	18,7	20,5	13,2	13,9	10,5	11,7	10,8	10,8	10,4
Conductivité (µS/cm)	J0	718	706	747	682	1447	588	573	742	774	1253	600	594
	J7	714	nd	774	nd	1350	591	572	731	751	1055	592	588
	JN	nd	735	nd	734	1544	540	534	740	783	1175	599	595
pH (unité pH)	J0	7,98	7,74	7,93	7,693	8,19	7,92	8,18	7,9	7,75	7,7	7,8	8,1
	J7	8	nd	7,9	nd	8	8,02	8,15	7,95	7,85	7,8	7	8,1
	JN	nd	7,86	nd	7,77	8,25	8	8,2	8,05	7,85	8	7,9	8,2
Oxygène (mg/L)	J0	10,9	10	6,28	5,7	9,57	10,53	10,43	11,5	8	7	5,2	11,7
	J7	11,1	nd	6,4	nd	3,6	10,4	11,1	10,9	7,7	4,4	10,6	11,6
	JN	nd	8,2	nd	4,9	6	10,47	11,9	11,2	6,3	4,9	10,6	11,2

nd : mesure non disponible

c. Biodisponibilité des contaminants métalliques

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse obtenus lors des deux campagnes pour 11 métaux. Les concentrations métalliques sont exprimées en microgramme par gramme ($\mu\text{g/g}$) de matière sèche. Les colonnes « T0 » correspondent aux lots « témoin » de gammars non exposés sur le terrain. La colonne « Max » présente la valeur maximale enregistrée dans notre base de données. Selon la conformité ou pas, un code couleur est attribué à chaque substance (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)). Les cases vertes indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est inférieure au seuil de contamination. A l'inverse, les cases rouges indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est supérieure au seuil de contamination.

Tableau 5: Résultats - Micropolluants métalliques

Campagne	CAMPAGNE 1						CAMPAGNE 2						
Nom de la station		La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambecke	La Crequoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt		La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambecke	La Crequoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt	
Code Agence		01025000	0107800	01089000	01097500	01138300		01025000	0107800	01089000	01097500	01138300	
Numéro station	T0	1	2	3	4	5	T0	1	2	3	4	5	Max
Argent	0,1	0,10	0,15	0,12	0,11	0,09	0,1	0,16	0,21	0,19	0,13	0,27	0,5
Arsenic	1,4	1,5	1,4	1,5	1,2	1,1	1,6	1,4	1,5	1,1	1,2	1,3	9,2
Cadmium	<0,1	<0,1	2,0	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	1,5	<0,1	0,1	0,1	35
Chrome	0,4	0,9	0,8	1,0	0,8	0,5	0,3	1,1	1,0	0,8	0,9	0,9	3,1
Cobalt	0,1	0,2	0,4	0,3	0,2	0,1	0,1	0,1	0,3	0,2	0,2	0,2	4,8
Cuivre	62	61	70	66	67	64	55	55	58	25	51	63	93
Mercure	<0,05	0,04	0,1	0,05	0,04	0,04	<0,05	<0,05	0,07	<0,05	<0,05	<0,05	0,20
Nickel	0,4	0,8	0,7	0,7	0,6	0,4	0,3	0,8	0,8	0,4	0,3	0,6	14,0
Plomb	0,4	0,7	28	0,7	0,5	0,2	0,5	0,4	17,1	0,4	0,3	0,4	33,0
Sélénium	1,6	2,3	2,4	1,6	1,7	2,1	1,6	1,7	2,0	0,7	1,9	2,0	3,3
Zinc	57	66	99	62	65	57	61	62	105	51	64	69	619,0

□ Campagne 1 :

- Les contrôles « T0 » montrent que l'ensemble des métaux mesurés présente une teneur inférieure au seuil.
- La Deûle présente une contamination biodisponible anormale pour le cadmium, le mercure, le plomb et le zinc. Pour le cadmium et le plomb, il s'agit d'une pression importante car les valeurs mesurées sont comprises dans la gamme de valeurs maximales observées dans notre base de données.

□ Campagne 2 :

- Les contrôles « T0 » montrent que l'ensemble des métaux mesurés présente une teneur inférieure au seuil.
- Il y a une contamination métallique sur la Deûle pour l'argent, le cadmium, le plomb et le zinc ; ce qui confirme la pression métallique sur ce site.
- On observe un dépassement de seuil pour le chrome sur la Selle et pour l'argent sur les Evoissons. Il faut indiquer que les concentrations mesurées pour ces deux éléments dépassent de peu le seuil de contamination. Toutefois, cette contamination n'a pas été observée lors de la première campagne ; ce qui indique que la contamination est variable dans le temps et plutôt faible.

Nous proposons en plus des 11 substances métalliques prévues à cette étude 14 métaux supplémentaires pour lesquels il n'y a pas de seuils de contamination disponibles. Les résultats bruts sont présentés dans le tableau ci-dessous. Les concentrations sont exprimées en microgramme par gramme ($\mu\text{g/g}$) de matière sèche. Les colonnes « T0 » correspondent aux lots « témoin » de gammars non exposés sur le terrain. La colonne « Max » présente la valeur maximale déjà enregistrée pour chaque paramètre dans notre base de données.

Tableau 6: Résultats - Micropolluants métalliques supplémentaires

Campagne	CAMPAGNE 1						CAMPAGNE 2						
Numéro station	La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambeckue	La Crequoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt	La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambeckue	La Crequoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt			
Code Agence	01025000	0107800	01089000	'01097500	01138300	01025000	0107800	01089000	'01097500	01138300			
Nom de la station	T0	1	2	3	4	5	T0	1	2	3	4	5	Max
Aluminium	215	346,4	317,2	549,9	364,7	108,1	199	189,7	381,4	481,5	230,9	322,0	2816,0
Baryum	46	44,6	49,6	44,5	37,3	38,3	41	32,9	49,2	56,9	31,3	43,8	206,0
Bore	4	3,5	3,7	4,9	3,2	2,5	3	2,44	3,16	3,39	2,80	2,09	12,0
Fer	140	370,0	289,3	432,5	291,6	90,7	118	234,6	289,9	344,6	165,7	181,2	3422,0
Manganèse	44	50,1	56,6	275,2	45,7	22,9	22	16,5	29,9	52,5	32,1	31,8	483,0
Titane	5,9	13,8	10,0	16,7	12,9	4,3	5,48	7,6	16,2	19,4	13,3	18,7	122,0
Antimoine	0,03	0,02	0,2	0,03	0,02	0,2	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	0,6
Béryllium	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	0,1
Étain	0,07	0,1	0,2	0,1	0,1	<0,05	<0,1	<0,1	0,2	0,1	<0,1	<0,1	0,6
Lithium	0,3	0,4	0,5	0,5	0,4	<0,2	0,3	0,3	0,5	0,5	0,3	0,3	4,6
Molybdène	0,5	0,5	0,4	0,6	0,4	0,3	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,3	0,6
Tellure	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
Thallium	<0,02	0,02	0,85	<0,02	<0,02	<0,02	<0,1	<0,1	1,09	<0,1	<0,1	<0,1	2,0
Uranium	0,03	0,03	0,05	0,03	0,03	<0,02	0,06	0,04	0,05	0,05	0,03	0,04	0,6

☐ Au cours des deux campagnes, les plus fortes concentrations ont été observées sur :

- la Deûle à Courrières pour trois métaux : étain, thallium et uranium.

- l'Yser à Bambecque pour huit métaux : aluminium, baryum, bore, fer, manganèse, lithium, uranium, titane et molybdène.

- Les Evoissons à Bergicourt pour le titane et l'antimoine.

N.B. : Les concentrations les plus fortes sont données à titre indicatif. En l'absence de seuil de contamination, il est impossible de dire s'il s'agit d'une contamination biodisponible anormale.

d. Biodisponibilité des contaminants organiques

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse obtenus lors des deux campagnes pour les contaminants organiques. Les concentrations sont exprimées en nanogramme par gramme (ng/g) de matière sèche. Les colonnes « T0 » correspondent aux lots « témoin » de gammars non exposés sur le terrain. La colonne « Max » présente la valeur maximale enregistrée dans notre base de données. Selon la conformité ou pas, un code couleur est attribué à chaque substance (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)). Les cases vertes indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est inférieure au seuil de contamination. Les cases grises indiquent « non interprété » (NI) pour cet élément. A l'inverse, les cases rouges indiquent les substances pour lesquelles la concentration mesurée est supérieure au seuil de contamination.

Tableau 7: Résultats - Micropolluants organiques

Campagne	Campagne 1						Campagne 2						
Nom de la station		La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambeckue	La Créquoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt		La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambeckue	La Créquoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt	
Code Agence		01025000	0107800	01089000	01097500	01138300		01025000	0107800	01089000	01097500	01138300	
Numéro de la station	T0	1	2	3	4	5	T0	1	2	3	4	5	Max
Acenaphthène	4,5	4,1	42	4,1	4,0	3,2	9,0	10	55	0,7	7,5	7,3	191
Acenaphthylène	NI	NI	NI	NI	NI	NI	3,5	39	9,4	0,3	3,4	3,6	52
Anthracène	NI	NI	NI	NI	NI	NI	3,8	25,1	149	0,5	8,5	2,3	576
Benzo (a) Anthracène	2,8	22	578	11	16	11	1,6	54	236	0,4	8,9	1,5	578
Benzo (a) pyrene	<LQ	3,7	112	1,8	4,2	1,6	1,2	69	59	<LQ	<LQ	2,2	112
Benzo (b+j) Fluoranthène	<LQ	9,9	262	5,3	10	3,6	1,3	123	118	0,4	8,6	1,1	262
Benzo (e) Pyrene	<LQ	4,8	150	2,4	4,8	1,4	0,7	63	65	2,6	3,4	2,3	150
Benzo (g,h,i) Perylene	1,3	3,0	32	2,2	3,7	2,0	1,1	70	19	0,6	3,7	0,8	70
Benzo (k) Fluoranthène	<LQ	4,2	92	1,7	3,8	1,1	0,5	42	42	0,1	3,9	<LQ	92
Chrysène	<LQ	9,8	213	4,1	5,6	4,5	<LQ	85	671	<LQ	<LQ	<LQ	671
Fluoranthène	NI	NI	NI	NI	NI	NI	6,1	57	1377	0,8	17	5,0	2430
Fluorène	18	18	50	23,5	30	16	13	14	50	1,0	9,5	10,0	50
Indeno (1,2,3-cd) Pyrene	<LQ	1,7	21	<LQ	2,2	<LQ	<LQ	53	12	0,2	2,1	1,3	53
Naphthalène	58	41	49	45	41	43	49	58	74	5,0	48	45,0	142
Perylene	<LQ	1,1	48	<LQ	1,2	<LQ	<LQ	23	9,9	<LQ	<LQ	0,5	118
Phenanthrene	NI	NI	NI	NI	NI	NI	26	23	424	1,1	15	10,0	4510
Pyrene	NI	NI	NI	NI	NI	NI	5,0	48	526	1,0	12	4,0	526
DDD 4,4'	2,6	3,5	4,8	3,2	2,7	2,1	<LQ	1,8	1,1	0,1	<LQ	<LQ	45
DDE 2,4'	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11
DDE 4,4'	6,2	6,1	7,7	4,4	5,6	5,1	2,6	4,3	2,8	<LQ	2,3	<LQ	200
DDT 2,4'	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,9	59
DDT 4,4'	8,3	9,0	11,6	11,5	9,7	8,6	<LQ	<LQ	<LQ	0,6	1,6	<LQ	114
HCH Gamma (Lindane)	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,0	12
Hexachlorobenzène	1,1	<LQ	1,4	<LQ	<LQ	1,4	1,4	1,3	1,1	0,1	1,0	1,0	10
PCB 101	31	16	30	9,1	13	12	11	10	7,7	0,3	4,9	4,2	520
PCB 118	NI	NI	NI	NI	NI	NI	15	13	8,1	0,4	5,7	4,6	108
PCB 138	NI	NI	NI	NI	NI	NI	13	15	8,5	0,3	5,1	5,6	157
PCB 153	48,3	28	47,9	23	26	25	16	17	11	0,5	7,2	1,2	323
PCB 180	9,6	6,7	16	5,9	6,4	6,5	<LQ	4,4	3,6	0,1	1,1	1,9	220
PCB 28	5,0	3,2	9,3	1,7	2,2	2,3	3,2	2,1	4,8	0,1	2,2	0,6	46
PCB 52	12	6,2	17	2,6	4,4	4,0	1,2	1,7	3,8	0,1	0,7	10	300

NI : non interprétable (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)) ; <LQ : inférieur à la limite de quantification

□ Campagne 1 :

- Les contrôles « T0 » montrent que les contaminants organiques mesurés présentent une teneur inférieure au seuil.
- En raison d'une contamination pendant la lyophilisation, les résultats ne sont pas présentés pour sept substances (indiquées « NI » dans le tableau).
- Il n'y a aucune contamination biodisponible anormale sur les Evoissons pour les contaminants organiques recherchés.
- Il y a un dépassement de seuil sur la Selle et sur l'Yser, pour respectivement le benzo(a)anthracène et le fluorène.
- Sur le site de la Créquoise, on observe une contamination de type « hydrocarbure HAP » avec deux dépassements de seuils : le benzo(a)anthracène et le fluorène.
- Enfin, le site de la Deûle est caractérisé par une forte contamination aux hydrocarbures HAP avec 11 dépassements de seuil, avec en particulier le benzo(a)anthracène, le benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(e)pyrène, le benzo(k)fluoranthène, le fluorène et le pérylène. Ces contaminants ont été mesurés à des concentrations supérieures aux valeurs maximales de notre base de données. On observe également sur la Deûle des dépassements de seuil pour un des métabolites de l'insecticide DDT (DDD 4,4') et trois PCB (28,52 et 180)

□ **Campagne 2 :**

- Les contrôles « T0 » montrent que les contaminants organiques mesurés présentent une teneur inférieure au seuil.
- Il n'y a aucune contamination biodisponible anormale sur les Evoissons pour les contaminants organiques recherchés. Les résultats des deux campagnes montrent qu'il n'y a aucune contamination anormale sur ce site pour les contaminants organiques recherchés (HAP, PCB et insectides).
- Il n'y a pas de contamination sur l'Yser et la Créquoise lors de la seconde campagne. A l'inverse, une contamination aux hydrocarbures HAP avait été observée pendant la première campagne. Ceci indique que la contamination de ces sites est variable dans le temps.
- Il y a une forte contamination aux hydrocarbures HAP avec 13 dépassements de seuil sur la Selle. Pour deux substances, le benzo(ghi)pérylène et l'indéno(123)pyrène, les concentrations mesurées sont supérieures aux valeurs maximales provenant de notre base de données. En comparaison, il y avait un seul dépassement de seuil lors de la première campagne ; donc la contamination est plus marquée lors de la seconde campagne. Ces résultats indiquent également, comme pour l'Yser et la Créquoise, que la contamination est variable dans le temps.
- Enfin, le site de la Deule est à nouveau caractérisé par une forte contamination, cette fois-ci uniquement aux hydrocarbures HAP avec 16 dépassements de seuils. On y retrouve les 11 hydrocarbures présents à des concentrations anormales lors de la campagne n°1. Dans le cadre de cette étude, ces résultats montrent que sur deux campagnes de mesure, il y a une contamination aux hydrocarbures qui est constante dans le temps sur ce site.

e. Mesure des effets toxiques

Le tableau ci-dessous présente les résultats d'analyse obtenus au cours des deux campagnes pour les marqueurs de toxicité. Selon la conformité ou pas, un code couleur est attribué à chaque marqueur (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)). Les cases vertes indiquent que les réponses observées sont dans la gamme de référence. En cas de non-conformité, la couleur est « orange » ou « rouge » respectivement en cas d'effet suspecté (p -value de 5%) ou d'effet avéré (p -value de 1%). La couleur « grise » indique « non calculé » (nc) pour ce marqueur.

Tableau 8: Résultats - Effets toxiques

Campagne	Campagne 1					Campagne 2				
Nom de la station	La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambecque	La Créquoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt	La Selle à Montay	La Deûle à Courrières	L'Yser à Bambecque	La Créquoise à Beaurainville	Les Evoissons à Bergicourt
Code Agence	01025000	0107800	01089000	01097500	01138300	01025000	0107800	01089000	01097500	01138300
Numéro de la station	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Mortalité (%)	6	19	56	7	8	2	5	83	1	4
Inhibition alimentaire (%)	62	47	nc	13	46	12	-22	nc	-63	-73
Inhibition AChE (%)	23,0	27,0	nc	13,0	9,0	11,9	12,1	nc	16,0	10,0
Indice de fécondité	2,4	2,3	nc	1,8	2,0	2,4	2,8	nc	nc	3,2
Cycle de mue			nc					nc	nc	
Perturbation endocrinienne			nc					nc	nc	

nc : non calculé (cf. Partie Matériels et Méthodes → [Traitement des données et analyse statistique](#)).

☐ Inhibition alimentaire

- Taux de mortalité :
- Le site de l'Yser montre une mortalité comprise entre 56% et 83% après 7 jours d'exposition, au cours de deux campagnes. Les résultats du test d'alimentation ne sont donc pas présentés pour ce site. Les effets mesurés indiquent un impact très marqué sur ce site, en lien avec la présence de contaminants.
- Campagne 1 :
- Le site de la Créquoise n'a pas d'impact sur le taux d'alimentation.
- Les sites des Evoissons, de la Deûle et de la Selle avec respectivement 46, 47% et 62% d'inhibition, ont un impact avéré et marqué sur le taux d'alimentation, à un niveau rencontré sur des sites connus pour être contaminés.
- Campagne 2 :
- Pour les quatre sites où le taux d'alimentation est présenté, aucune inhibition du taux d'alimentation n'a été observée.

☐ Neurotoxicité (inhibition AChE)

- Campagne 1 :
- Après 7 jours d'exposition, l'activité AChE est conforme à la valeur de référence pour le site des Evoissons
- Le site de la Créquoise montre une inhibition suspectée de l'activité AChE
- Les sites de la Selle et de la Deûle montrent une inhibition avérée de l'activité AChE ; ce qui indique une exposition à des insecticides de type « anti-cholinestérasique » (famille des organophosphorés et des carbamates).
- Campagne 2 :

- Il n'y a pas d'effet neurotoxique sur les sites des Evoissons et de la Selle ; ce dernier était pourtant impacté lors de la première campagne.
- Les sites de la Deûle et de la Créquoise montrent une inhibition suspectée de l'activité AChE. Les effets neurotoxiques observés lors de la première campagne soulignent la pression de type « insecticide » sur ces deux sites.
- N.B. : *L'activité AChE sur le site de l'Yser n'a pas pu être mesurée en raison de la mortalité élevée.*

☐ Indice de fécondité, cycle de mue et perturbation endocrinienne

- Campagne 1 :
- Ces résultats montrent qu'aucun impact significatif sur la fécondité et le cycle de mue n'a été observé pour le site de Selle à Montay, avec des valeurs conformes à notre gamme de référence.
- Pour les sites de la Créquoise et les Evoissons, un impact spécifique sur la fécondité a été observé.
- Enfin, le site de la Deûle exerce une pression de type « perturbation endocrinienne », en lien avec le retard spécifique observé sur le cycle de mue et la croissance ovocytaire.
- Campagne 2 :
- Les effets sur la fécondité ne sont plus observés pour les sites de La Selle et Les Evoissons.
- Enfin, la présence de perturbateurs endocriniens est confirmée sur le site de La Deûle.
- N.B. : *Ces marqueurs n'ont pas pu être mesurés sur le site de l'Yser au cours des deux campagnes et sur le site de la Créquoise pendant la deuxième campagne. Après 14 jours d'exposition, la forte mortalité n'a pas permis d'obtenir au moins 10 femelles pour l'analyse des marqueurs.*

5. CONCLUSION

Pertinence de la Créquoise et des Evoissons en tant que site de référence :

- ❖ Les résultats montrent que sur ces deux sites de référence il n'y a pas de contamination biodisponible anormale pour les métaux recherchés (hormis une faible contamination, ponctuelle, à l'argent sur les Evoissons).
- ❖ Concernant les contaminants organiques, une faible contamination par deux hydrocarbures HAP a été observée ponctuellement lors de la première campagne sur la Créquoise à Beaurainville.
- ❖ Il n'y a pas d'effet sur l'alimentation des gammarès sur le site de la Créquoise. A l'inverse, un effet avéré et marqué est observé ponctuellement sur le site des Evoissons.
- ❖ Il n'y a pas de pression de type neurotoxique sur le site des Evoissons. A l'inverse, un effet neurotoxique est suspecté à deux reprises sur le site de la Créquoise. Ce type de pression indique la présence d'insecticides anticholinestérasiques (composés carbamates et organophosphorés).
- ❖ Sur le site de la Créquoise, une toxicité létale a été observée chez les femelles exposée 14 jours lors de la deuxième campagne. Cet effet n'a cependant pas été observé lors de la première campagne ; ce qui indique une variabilité de la toxicité du milieu au cours du temps. Il y a un effet sur le nombre d'embryons lors de la première campagne sur les Evoissons et la Créquoise. Cet impact n'est plus observé sur les Evoissons lors de la deuxième campagne.
- ❖ Sur la base seule des résultats de cette étude, le site des Evoissons à Bergicourt semblerait plus pertinent que la Créquoise à Beaurainville comme site de référence.

Impact des substances et en particulier des pesticides sur le biote :

- ❖ Les effets neurotoxiques mesurés sur la Selle, la Deûle et la Créquoise indiquent la présence d'insecticides anticholinestérasiques.
- ❖ Les désynchronisations spécifiques entre le cycle de mue et la surface des œufs qui ont été mesurées sur La Deûle indiquent la présence de composés de type « perturbateurs endocriniens ». Dans la littérature scientifique, les pesticides sont reconnus ou fortement suspectés de pouvoir interférer et perturber les processus de régulation hormonale en lien avec la mue et la reproduction des crustacés, et plus largement des arthropodes.

Application des outils dans un contexte de contrôle d'enquête sur des sites à contamination variable et parfois faible :

- ❖ Les outils mis en place permettent d'identifier des sites avec une contamination anormale ou des effets toxiques comme la Deule qui est caractérisée par une contamination constante aux hydrocarbures HAP et par la présence d'insecticides anti-AChE et de perturbateurs endocriniens lors des deux campagnes.
- ❖ Le site de la Créquoise montre peu de différences de contamination organique et aucune différence de contamination métallique entre les deux campagnes. De la même manière, l'impact toxique est semblable entre les deux campagnes avec une absence d'effet sur l'alimentation et des effets spécifiques sur l'AChE (neurotoxicité) et la reproduction.
- ❖ Les résultats obtenus sur le site de la Selle montrent la présence d'une contamination biodisponible anormale pour plusieurs hydrocarbures. Ici, la contamination est très variable, passant de 1 à 13 dépassements de seuil entre les deux campagnes. A l'inverse, en terme d'impact toxique, les effets sont marqués lors de la première campagne (alimentation et neurotoxicité) tandis qu'il n'y a plus d'effet lors de la seconde campagne.

- ❖ La mesure de l'ACHé dans les gammarès est un outil qui permet de suivre l'exposition à des insecticides pour lesquels la présence peut-être très variable dans le temps. C'est le cas dans cette étude, avec des effets neurotoxiques plus marqués en Juillet lors de la première campagne.



Contacts

Guillaume JUBEAUX

Responsable scientifique et technique

guillaume.jubeaux@biomae.fr

04.37.43.13.79

06.78.76.93.54

Laurent VIVIANI

Responsable administratif et financier

laurent.viviani@biomae.fr

04.37.43.13.79

06.89.73.41.14
