

## Contamination de l'axe fluvial par les micropolluants organiques et potentiel toxique associé

Pierre Labadie<sup>1\*</sup>, Gabriel Munoz<sup>1</sup>, Hélène Budzinski<sup>1</sup>, Christelle Clérandeau<sup>1</sup>, Laure Landi<sup>1</sup>, Jérôme Cachot<sup>1\*</sup>, Lise Fechner<sup>2</sup>, Lucie Oziol<sup>3\*</sup>, Yves Levi<sup>3</sup>, Maya Bimbot<sup>3</sup>, Viviane Huteau<sup>3</sup> et Mary-Line Jugan<sup>3</sup>

<sup>1</sup> : UMR EPOC 5805, groupe LPTC, Université Bordeaux 1, Talence

<sup>2</sup> : Irstea Antony, UR HBAN, Antony

<sup>3</sup> : LSPE, UMR 8079, UP11, Châtenay-Malabry

\* contact : p.labadie@epoc.u-bordeaux1.fr, j.cachot@epoc.u-bordeaux1.fr, lucie.oziol@u-psud.fr

Ces travaux s'inscrivent dans l'axe 4 : "les déterminants de la qualité écologique du milieu aquatique" de la phase 6 du PIREN-Seine. Les actions de recherche entreprises avaient pour objectif de poursuivre les travaux initiés en 2011 et visaient ainsi à :

- contribuer à la caractérisation de la pression chimique associée à la présence des micropolluants organiques dans différents compartiments abiotiques (colonne d'eau et sédiment), en s'intéressant également au phénomène de bioaccumulation et de transfert dans la chaîne trophique via l'étude de deux organismes modèle situés à la base du réseau trophique fluvial, le biofilm périphytique et le gammare.

- déterminer le potentiel toxique du milieu, à l'aide de tests *in vitro* (potentiels œstrogénique, thyroïdien et androgénique) et *in vivo* (biotests sur larves et embryons de medaka japonais).

- étudier l'évolution spatio-temporelle de cette contamination et des effets toxiques associés

Dans cette optique, trois sites ayant déjà fait l'objet de plusieurs campagnes de suivi ont été choisis sur l'axe fluvial de la Seine, à l'amont (Marnay) et à l'aval de l'agglomération parisienne (Bougival et Triel) pour étudier le lien entre la présence de micropolluants organiques, la bioaccumulation de ces xénobiotiques et le potentiel d'effets toxiques.

### 1 Présentation des sites et stratégie d'échantillonnage

Les trois sites choisis pour cette campagne sont situés de l'amont (Marnay à environ 200 km de Paris) à l'aval (Bougival et Triel) de Paris sur la Seine ; le site de Triel est situé à l'aval de l'ensemble des principaux rejets d'assainissement de l'agglomération parisienne et de la confluence entre la Seine et l'Oise (figure 1). Pour chaque station, trois campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en septembre 2011, avril 2012 et juillet 2012.

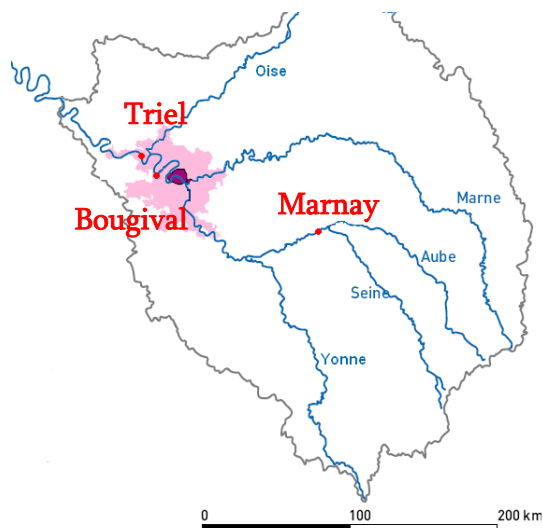


Figure 1 : Cartographie des trois sites d'étude

## 1.1 Pression chimique et bioaccumulation

L'objectif de ce travail était de contribuer à l'étude intégrée des sites pilotes de l'axe fluvial, en déterminant les niveaux de contamination du sédiment et de la colonne d'eau (par échantillonnage ponctuel et intégratif de type POCIS). Il s'agissait également de renseigner la bioaccumulation des micropolluants halogénés par le biofilm périphytique, collecté sur support artificiel et le gammare (individus transplantés) (cf. Fechner et al., 2012). Les familles de contaminants ciblées étaient les suivantes : hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB), éthers de biphényles polybromés (PBDE), pesticides organochlorés (OCP), alkylphénols, médicaments et pesticides et composés perfluoroalkylés (PFAC).

Les résultats partiels présentés ici concernent uniquement les PFAC, dont les niveaux ont été déterminés dans la phase dissoute de la colonne d'eau, le sédiment et le périphyton. Les PFAC recherchés sont listés dans le tableau 1.

Les échantillons de phase dissoute ont été extraits par extraction solide/liquide (SPE) sur cartouche polymérique greffée avec des groupements échangeurs d'anions faibles (Phenomenex Strata X-AW). Les extraits obtenus sont reconcentrés puis analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), sur un appareil Agilent 6490, avec une ionisation de type electrospray en mode négatif (Labadie et Chevreuil, 2011). En parallèle, les échantillons solides sont extraits par micro-ondes et les extraits obtenus sont purifiés sur graphite puis analysés par LC-MS/MS. Des blancs analytiques ont été réalisés en triplicat pour chaque série d'analyse et ont révélé une contamination négligeable par rapport aux niveaux déterminés dans les échantillons traités.

**Tableau 1. Composés perfluoroalkylés ciblés**

Longueur de chaîne perfluoroalkylée	Acides carboxyliques perfluorés	Sulfonates perfluorés	Autres
3 atomes C	Acide perfluorobutanoïque (PFBA)		
4 atomes C	Acide perfluoropentanoïque (PFPA)	Sulfonate de perfluorobutane (PFBS)	
5 atomes C	Acide perfluorohexanoïque (PFHxA)	–	
6 atomes C	Acide perfluoroheptanoïque (PFHpA)	Sulfonate de perfluorohexane (PFHxS)	Sulfonate de 6:2 fluorotélomère (6:2 FTS)
7 atomes C	Acide perfluorooctanoïque (PFOA)	Sulfonate de perfluoroheptane (PFHpS)	
8 atomes C	Acide perfluorononanoïque (PFNA)	Sulfonate de perfluorooctane (PFOS)	Perfluorooctane sulfonamide (FOSA) N-méthyl-perfluorosulfonamide (N-MeFOSA) N-éthyl-perfluorosulfonamide (N-EtFOSA)
9 atomes C	Acide perfluorodécanoïque (PFDA)	–	
10 atomes C	Acideperfluoroundécanoïque (PFUnA)	Sulfonate de perfluorodécane (PFDS)	
11 atomes C	Acide perfluorododécanoïque (PFDoA)	–	
12 atomes C	Acide perfluorotridécanoïque (PFTTrDA)		
13 atomes C	Acide perfluorotétradécanoïque (PFTeDA)	–	

## 1.2 Evaluation *in vitro* du potentiel de perturbation endocrinienne

Le potentiel toxicologique *in vitro* de la contamination au niveau des trois sites pilotes de l'axe fluvial a été évalué à la fois au niveau de la colonne d'eau, par échantillonnage ponctuel (campagnes de septembre 2011, juillet 2012, décembre 2012) et par échantillonnage intégratif (campagnes de septembre 2011, avril 2012, juillet 2012), et au niveau du sédiment (campagnes de septembre 2011, juin 2012). Les potentiels perturbateurs estrogénique et thyroïdien de la phase dissoute et du sédiment ont été caractérisés en utilisant deux tests cellulaires de mesure de la perturbation de l'activité transcriptionnelle de récepteurs nucléaires hormono-dépendants, les hormones endocrines induisant la majorité de leurs effets *via* la voie génomique. Il s'agit des tests sur cellules MELN (Balaguer et al. 1999) et PC-DR-LUC (Jugan et al. 2007) permettant

d'évaluer respectivement la perturbation de la transcription dépendante du récepteur ER $\alpha$  à l'estrogène E2 (le 17 $\beta$ -estradiol) et celle dépendante du récepteur TR $\alpha$ 1 à l'hormone thyroïdienne T3 (la triiodothyronine). Une large gamme de micropolluants organiques a été extraite et concentrée à partir des deux matrices, eau et sédiment. Les extraits ont ensuite été testés à des concentrations non toxiques et adaptées à la sensibilité des tests cellulaires. Les cellules ont été incubées avec les extraits pendant 18 h :

- soit en absence du ligand hormonal (E2 ou T3) du récepteur nucléaire pour évaluer le potentiel agoniste des extraits vis à vis de l'activité de ER $\alpha$  ou TR $\alpha$ 1 ;
- soit en présence du ligand hormonal du récepteur nucléaire pour évaluer les effets compétitifs des extraits vis à vis de l'activité transcriptionnelle induite par E2 ou T3 : potentiel surinducteur (ou effet potentialisateur) de type additif ou synergique ou potentiel antagoniste (résultats non illustrés, leur expression restant à valoriser).

Les activités transcriptionnelles ont été mesurées par luminescence. Les activités significativement différentes du contrôle ont été exprimées en EQuivalent Toxique (TEQ) par rapport à l'activité du ligand hormonal mesurée en parallèle (quantification à partir des paramètres de l'équation de Hill de la relation dose-réponse pour E2 ou T3). La viabilité cellulaire a été mesurée en parallèle afin de vérifier que les dilutions d'extraits testées n'engendrent aucune toxicité cellulaire. Pour plus de détails sur les matériels et méthodes, voir Gaspéri et al. (2010). Seuls les résultats significativement différents de leur témoin sont représentés.

### 1.3 Evaluation du potentiel toxique *in vivo*

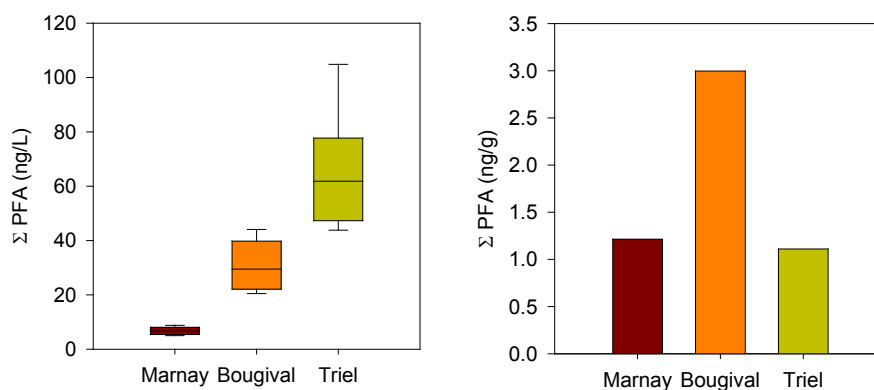
Afin d'évaluer la toxicité de la Seine en amont et en aval de Paris, des prélèvements d'eau et de sédiment ont été réalisés à Marnay, Bougival et Triel en septembre 2011, juillet et décembre 2012. L'eau a été filtrée à 0,8  $\mu$ m pour séparer la phase particulaire et la phase dissoute qui ont été analysées séparément. La toxicité de ces échantillons a été mesurée au moyen du test embryo-larvaire sur poisson médaka (MELA, Vicquelin et al., 2011) à partir d'échantillons frais ou décongelés. Les eaux et les MES collectées en décembre 2012 sont en cours d'analyse, les résultats seront présentés en 2013.

## 2 Résultats et discussion

### 2.1 Contamination de l'axe fluvial par les composés perfluoroalkylés

#### 2.1.1 Compartiments abiotiques

Les PFAC recherchés ont été détectés dans les deux compartiments abiotiques étudiés : la phase dissoute de la colonne d'eau (n=9 par station) et le sédiment (n=2 par station) (figure 2).



**Figure 2 : Niveaux de PFAA ( $\Sigma$  20 composés) dans la phase dissoute de la colonne d'eau (ng/L, n=9) et dans le sédiment (ng/g poids sec, n=2)**

Les résultats obtenus mettent en évidence l'ubiquité des PFAC sur le tronçon fluvial étudié. Dans la colonne d'eau, les niveaux de PFAC varient de 5 à 100 ng/L. On observe ainsi un gradient positif de l'amont à l'aval, associé à l'augmentation de la pression anthropique sur l'écosystème fluvial et déjà documenté pour d'autres familles de contaminants organiques. Les niveaux observés à Triel sont ainsi en moyenne 9,5 fois plus élevés que ceux observés à Marnay, des niveaux intermédiaires étant observés à Bougival. Les résultats obtenus indiquent que les niveaux de contamination sont globalement très voisins des valeurs moyennes et médianes déterminées pour ces mêmes composés au niveau européen (122 sites d'étude, cf. Loos et al., 2009) (Tableau 2).

Les niveaux de PFAC observés dans la Seine à l'occasion de ces trois campagnes présentent une faible variabilité temporelle (écart-type relatif 20-32 %). Ceci est potentiellement dû aux faibles différences de conditions hydrologique entre les trois campagnes, ces dernières étant un des facteurs de contrôle de la dynamique des PFAC dans la Seine (Labadie et Chevreuril, 2011).

**Tableau 2. Comparaison des niveaux observés dans la Seine avec ceux les moyennes européennes**

	Moyenne européenne (ng/L) (Loos et al., 2009).	Médiane européenne (ng/L) (Loos et al., 2009)	Marnay	Bougival	Triel
PFHxA	4	0	0.5 ± 0.1	2.9 ± 0.9	4.6 ± 1.6
PFHpA	1	1	0.2 ± 0.0	1.2 ± 0.3	2.2 ± 0.5
PFOA	12	3	0.5 ± 0.1	2.7 ± 0.8	4.2 ± 1.4
PFNA	2	1	0.2 ± 0.3	0.6 ± 0.5	0.6 ± 0.5
PFOS	39	6	2.8 ± 0.4	11.6 ± 2.0	18.3 ± 3.0
PFDA	1	0	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.4
PFUnA	0	0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1

Le profil moléculaire observé dans la phase dissoute de la colonne d'eau est représenté pour chacune des stations sur la figure 3. Conformément aux observations réalisées en 2010 sur la Seine à Paris (suivi de crue au niveau du Quai d'Austerlitz), le PFOS (isomères linéaire + ramifiés) et le PFHxS, suivis du PFOA, sont les composés majoritaires au niveau de Marnay et de Bougival. On observe également une contribution non négligeable des acides carboxyliques à plus courte chaîne (C<sub>5</sub>-C<sub>7</sub>).

Un point notable est la très forte augmentation de l'abondance relative du 6:2 FTS à Triel. Ce fluorotélomère est employé depuis quelques années comme alternative aux composés à chaîne perfluoroalkyle plus longue, en raison de son caractère *a priori* moins persistant et moins bioaccumulable (Dupont, 2012). Les niveaux élevés de 6:2 FTS observés à Triel, en moyenne 11 fois supérieurs à ceux observés à Bougival, pourraient résulter de l'influence d'une source industrielle située dans le bassin de l'Oise. Cette hypothèse devra être confirmée en réalisant des campagnes et analyses complémentaires.

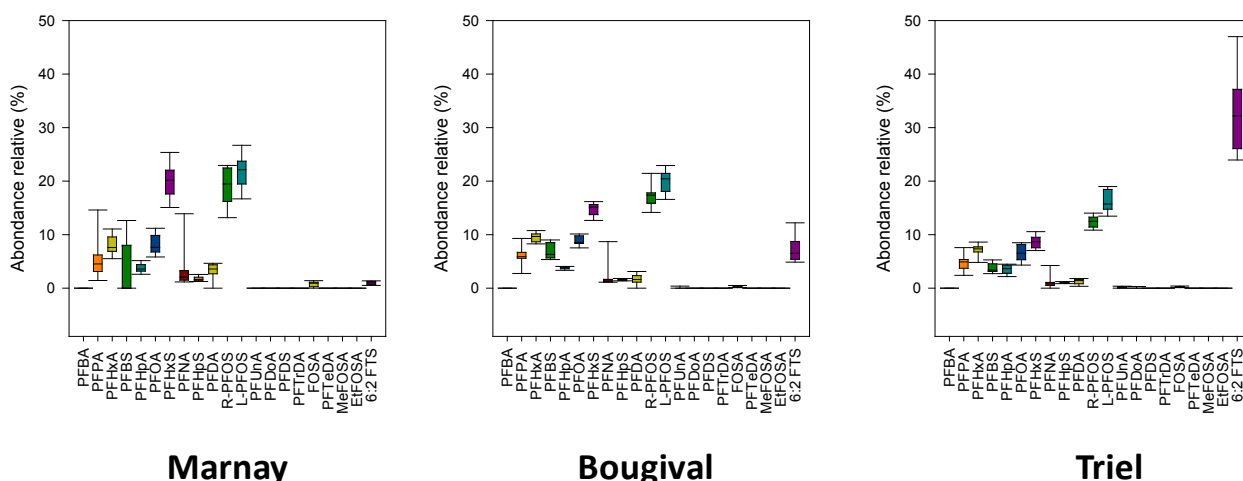


Figure 3. Profil moléculaire des PFAC observé dans la phase dissoute de l'eau de Seine

Les PFAC ont également été quantifiés dans le sédiment, à des niveaux de l'ordre du ng/g pour la somme des composés (figure 2). Là encore, ces niveaux sont proches de ceux typiquement observés dans les cours d'eau européens (Beskoski et al., 2013). Contrairement aux observations faites sur la colonne d'eau, les niveaux sédimentaires ne mettent pas en évidence de gradient amont/aval. Ceci est peut-être dû au fait que certains facteurs de contrôle de l'adsorption des PFAC n'ont encore pas été pris en compte (ex : granulométrie ou teneur en carbone organique). Des analyses complémentaires seront ainsi réalisées en 2013 pour approfondir ces résultats.

### 2.1.2 Compartiment biologique : exemple du biofilm périphytique

La figure 4 présente les niveaux de contamination du biofilm périphytique par les PFAC. Ces niveaux sont compris entre 5 et 32 ng/g poids sec et augmentent de l'amont à l'aval, l'amplitude du gradient étant cependant moindre que pour la colonne d'eau. Les niveaux déterminés dans le périphyton sont de 2 à 11 fois supérieurs à ceux observés dans le sédiment, ce qui reflète probablement l'adsorption des PFAC sur les microorganismes et la matrice d'expolymère constitutifs du périphyton, riche en carbone organique, ainsi que leur accumulation intracellulaire (Fechner, 2012). Aucune variation saisonnière n'a été mise en évidence sur les trois stations d'étude et ce résultat devra être confirmé par une quatrième et dernière campagne réalisée en décembre 2012 (non exploitée à ce jour).

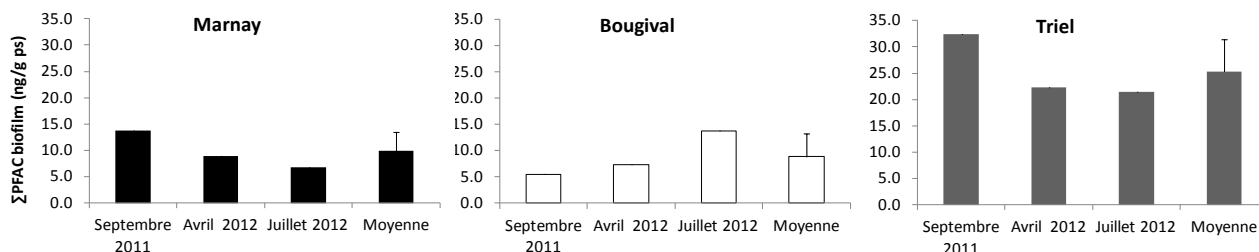
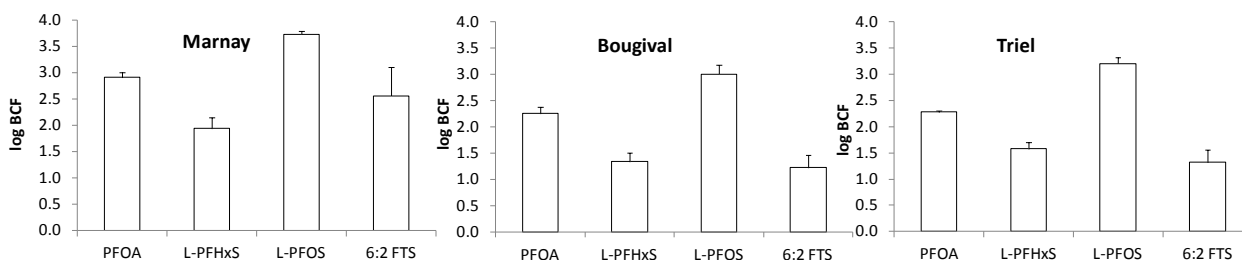


Figure 4. Niveaux totaux de PFAC dans le périphyton collecté sur les sites de Marnay, Bougival et Triel (exprimés en ng/g poids sec de biofilm)

La relation entre les niveaux de contamination de la colonne d'eau et celle du périphyton a été appréhendée quantitativement pour chaque composé détecté à la fois dans la colonne d'eau et dans le biofilm périphytique. Pour cela, on a calculé le facteur de bioconcentration (BCF), défini par l'équation suivante :  $BCF = C_{\text{biofilm}}/C_{\text{eau}}$ , où  $C_{\text{biofilm}}$  est la teneur déterminée dans le biofilm et exprimée en ng/g poids sec et où  $C_{\text{eau}}$  est la concentration déterminée dans la phase dissoute exprimée en ng/L. Les résultats obtenus pour les quatre PFCA les plus abondants sur l'ensemble des sites d'étude sont représentés sur la figure 5.



**Figure 5. Facteurs de bioconcentration des principaux PFAC détectés dans la colonne d'eau et le biofilm périphytique**

Les valeurs de BCF les plus élevées sont observées pour l'isomère linéaire du PFOS (noté L-PFOS), qui représente à lui seul plus de 70 % de la somme des PFCA dans le périphyton (moyenne pour l'ensemble des stations). La valeur du log BCF pour le L-PFOS varie ainsi entre 2,8 et 3,8 et s'avère ainsi similaire à celle déterminée pour des algues benthiques dans la région des Grands Lacs d'Amérique du Nord (Kannan et al. 2005). Des valeurs plus faibles sont observées pour le PFOA et le PFHxS, en bon accord avec les observations faites pour d'autres organismes aquatiques (Labadie et Chevreuil, 2011 ; Kelly et al., 2009).

On notera que le 6:2 FTS présente généralement des BCF plus faibles que les autres composés, ce qui semble cohérent avec son caractère *a priori* moins bioaccumulable que le PFOS ou le PFHxS (Dupont, 2008). Néanmoins, les niveaux déterminés dans le biofilm, compris entre 35 et 3000 pg/g, sont supérieurs aux limites de quantification (voisines de 30 pg/g) et mettent en évidence la bioaccumulation de ce fluorotélomère. Ces observations devront être confirmées sur la quatrième campagne (décembre 2012) et devront également être complétées par des études réalisées sur d'autres niveaux trophiques (ex : gammare).

La bioaccumulation des micropolluants organiques dans le périphyton est relativement peu documentée à ce jour, contrairement à celle des contaminants métalliques. Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail sont ainsi doublement originaux puisque (i) ils permettent de mettre en évidence la bioaccumulation des PFCA dans cet « organisme » modèle, situé à la base du réseau trophique fluvial et (ii) ils nous apportent des éléments sur l'écodynamique de ces micropolluants. La bioaccumulation observée suggère en effet que les organismes se nourrissant de biofilm, tels que certains invertébrés et poissons benthiques, peuvent être exposés aux PFAC via la voie dissoute mais également via la voie trophique.

## 2.2 Potentiel perturbateur endocrinien de l'axe fluvial

### 2.2.1 Potentiel perturbateur estrogénique

Le potentiel perturbateur endocrinien de la phase dissoute et du sédiment présenté dans la figure 6 correspond à leurs effets agonistes de l'activité du récepteur ER $\alpha$  (potentiel estrogénique).

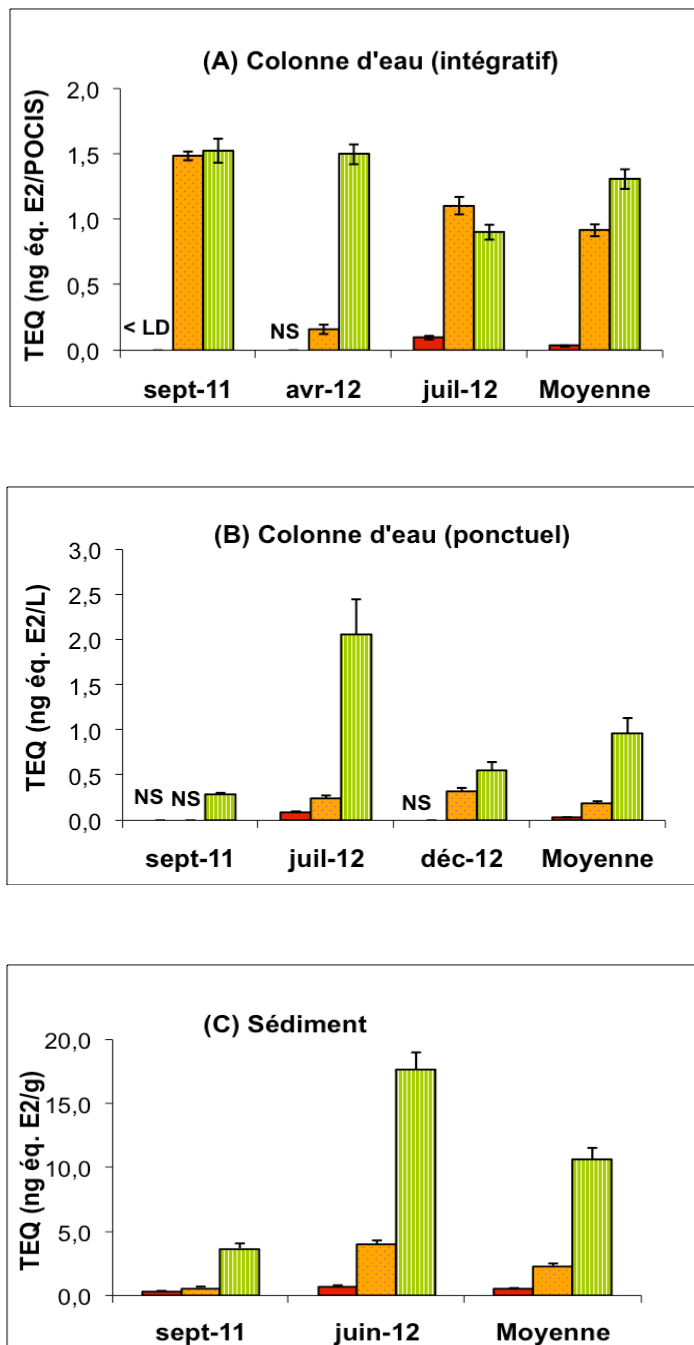
Quelle que soit la matrice considérée, un gradient d'activité estrogénique peut être observée d'amont en aval, l'activité étant globalement plus élevée en aval (Triel) qu'en amont (Marnay), et significativement plus importante à Triel sur l'ensemble des campagnes pour les sédiments et la colonne d'eau, mais seulement en échantillonnage ponctuel. En effet, le prélèvement intégratif d'eau sur membrane POCIS engendre en moyenne une moindre différence entre les activités de Triel et Bougival (Fig. 6A). L'échantillonnage en mode intégratif semble permettre une meilleure quantification des effets toxiques qu'en mode ponctuel, surtout ceux au niveau de Marnay et de Bougival (Fig. 6A et B). Par comparaison aux deux sites en aval, l'activité estrogénique de Marnay est quasi nulle dans l'ensemble, n'étant pas toujours détectable ou significative selon les campagnes.

Le gradient d'activité amont/aval, ainsi que les niveaux de TEQ quantifiés, confirment ce qui a déjà été observé lors de campagnes antérieures sur l'axe Seine (Gaspéri et al. 2010). Les estrogènes pourraient être responsables du potentiel estrogénique des eaux de surface en Ile de France (Cargouët et al. 2004; Miège et al. 2009; Oziol et al. 2009), mais l'effet d'autres contaminants reconnus comme PE au niveau des sites les plus impactés par la pollution (cas de Triel-sur-Seine) reste à considérer.

Les activités transcriptionnelles induites en présence de sédiment sont elles toutes quantifiables, quel que soit le site considéré (Fig. 6C). Les extraits testés à des dilutions non toxiques pour les cellules permettent de mettre en évidence des activités plus importantes au niveau du sédiment que de la phase dissoute. Les niveaux d'activité pour les effets estrogéniques du sédiment sont du même ordre de grandeur que ceux déjà observés en France (Kinani et al. 2010).

Aucune différence saisonnière n'est observable pour les sédiments, les résultats présentés étant issus de seulement deux campagnes réalisées plutôt en période estivale (début septembre 2011 et fin juin 2012). Néanmoins, les TEQ quantifiés en juin sont nettement plus élevés qu'en septembre (Fig. 6C). D'ailleurs, l'activité de la colonne d'eau est largement supérieure en juillet qu'aux autres saisons, du moins pour Triel en échantillonnage ponctuel (Fig. 6B). En prélèvement intégratif, les variations saisonnières d'activité sont les plus marquées pour les sites les moins contaminés (Bougival et Marnay). Elles restent à confirmer avec l'activité de sédiments et de POCIS issus de la campagne de prélèvement de décembre 2012 (résultats qui figureront dans le rapport bilan PIREN Seine 2014).

Concernant le potentiel de l'eau ou du sédiment à perturber l'activité estrogénique de E2, aucun effet antagoniste vis-à-vis de cette activité n'a pu être observé. Par contre, des effets surinducteurs vis-à-vis de cette activité ont pu être mis en évidence, surtout au niveau du sédiment. Des extraits d'eau de surface se sont aussi avérés capables de potentialiser l'activité transcriptionnelle induite par E2, fait déjà observé sur l'axe Seine (Gaspéri et al., 2010). Ces résultats pourront être présentés dans le rapport bilan PIREN Seine 2014. Ils sont globalement en accord avec le potentiel estrogénique du milieu au niveau de l'axe fluvial, étant ubiquistes pour les sédiments, mais pour l'instant jamais présents au niveau de la colonne d'eau à Marnay.



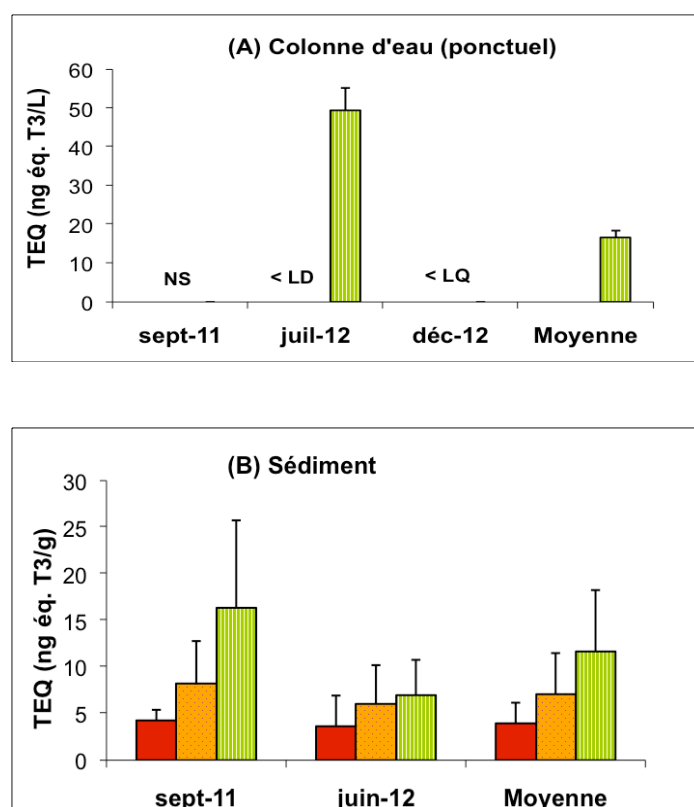
**Figure 6. Potentiel agoniste estrogénique de la colonne d'eau (en ng eq. E2/L) par échantillonnage intégratif (A) ou ponctuel (B), et des sédiments (en ng/g) (C) pour les sites de Marnay (motif plein), Bougival (motif pointillé) et Triel (motif hachuré) (exprimé en TEQ induits par rapport au contrôle en absence d'hormone) (Moyennes ± SEM n = 1 à 3).**

### 2.2.2 Potentiel perturbateur thyroïdien

Le potentiel perturbateur thyroïdien de la phase dissoute et du sédiment est présenté dans la figure 7. Les TEQ quantifiés correspondent aux activités agonistes de l'activité du récepteur TR $\alpha$ 1 (potentiel thyroïdien). Comme aucune activité des extraits POCIS sur cellules PC-DR-LUC n'a été observée, ces résultats ne sont pas présentés. En échantillonnage ponctuel, seul Triel lors de la campagne estivale a montré une très forte activité thyroïdienne (TEQ voisins de 50 ng éq. T3/L) (Fig. 6A). Cette activité est en adéquation avec le potentiel estrogénique élevé correspondant pour cet extrait d'eau (Fig. 6B). L'échantillonnage intégratif devrait pour autant être plus représentatif d'une contamination en continu du milieu. De ce fait, la contamination de la colonne d'eau par des composés perturbateurs thyroïdiens semble peu probable, fait confirmant nos travaux antérieurs (Jugan et al., 2009).

Par contre, le potentiel perturbateur thyroïdien du sédiment est quantifiable, significatif et ubiquiste le long de l'axe Seine. Comme pour les effets estrogéniques, un gradient d'activité croissant est observé d'amont en aval (Marnay < Bougival < Triel).

En raison du log Kow relativement élevé des composés thyroïdiens, il est logique de retrouver des activités significatives au niveau du compartiment sédiment par comparaison au compartiment eau. A notre connaissance, aucune étude publiée n'a montré d'effet perturbateur thyroïdien de sédiments sur l'activité transcritionnelle hormono-dépendante. Les variations saisonnières de l'activité du sédiment pourront peut-être être mises en évidence avec les futures données issues de la campagne de décembre.



**Figure 7. Potentiel agoniste thyroïdien de la colonne d'eau (en ng éq. T3/L) par échantillonnage ponctuel (A) et des sédiments (en ng/g) (B) pour les sites de Marnay (motif plein), Bougival (motif pointillé) et Triel (motif hachuré) (exprimé en TEQ induits par rapport au contrôle en absence d'hormone) (Moyennes  $\pm$  SEM n = 2 à 3).**

Le potentiel perturbateur endocrinien du milieu évalué le long de l'axe Seine est ubiquiste dans les sédiments, notamment au niveau de Triel. Les perturbations endocriniennes observées au niveau de l'écosystème touchent à la fois les axes estrogénique et thyroïdien, mais aussi androgénique. Pour la suite des travaux, nous proposons donc d'évaluer le potentiel perturbateur androgénique *in vitro* du milieu, autant au niveau de la colonne d'eau que du sédiment. Les premiers résultats préliminaires réalisés sur le test cellulaire MDA-kb2 (Wilson et al., 2002) montrent des effets perturbateurs androgéniques en accord avec ceux observés au niveau de l'axe estrogénique.

### 2.3 Evaluation du potentiel toxique *in vivo*

Les résultats obtenus pour les sédiments ont été rassemblés dans le Tableau 3. Une toxicité aiguë importante apparaît pour les sédiments collectés à Triel en septembre 2011 et juillet 2012. Le sédiment collecté à Triel en décembre 2012 présente une toxicité moindre qui se traduit par des effets subaigus de type malformations squelettiques et réduction de taille. Cet échantillon de sédiment est plus grossier que les deux précédents et a été collecté sur un site différent en raison principalement du niveau d'eau important en Seine en décembre 2012. Une toxicité plus légère est mesurée sur le site de Bougival et sur celui de Marnay qui se traduit par des effets subaigus et plus particulièrement une réduction de la taille de la tête des larves et une fréquence plus importante de malformations squelettiques. Des effets significatifs sur la durée de développement ont également été observés pour le sédiment de Bougival.

**Tableau 3 : Toxicité des sédiments collectés en Seine sur embryons et larves de poisson Médaka. Seuls les résultats significativement différents du sédiment témoin (Sédiment de Yville-sur-Seine) apparaissent dans le tableau. En gris les effets aigus en blanc les effets subaigus.**

	sept-11			juil-12			déc-12		
	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel
Viabilité embryonnaire			↘			†			
Viabilité larvaire			†			†			
Taux d'éclosion			↘			↘			
Age embryonnaire à l'éclosion		↘	†		↗				
Rythme cardiaque			↘			↘			
Longueur totale			†			†			
Taille de la tête			†	↘	↘	†	↘	↘	↘
Rapport Tête/ Longueur			†			†			
Surface sac vitellin			†			†	↗		
Individus malformés	↗	↗	†			†			↗

Les résultats obtenus pour les matières en suspension (MES) sont rassemblés dans le Tableau 4. Aucune toxicité n'est observée pour les MES collectées en juillet 2012. Une légère toxicité subaiguë a été mesurée pour les échantillons collectés à Triel et Bougival en septembre 2011. En revanche, aucune toxicité n'est mesurée à Marnay quelle que soit la période de prélèvement.

**Tableau 3 : Toxicité des matières en suspension collectées en Seine sur embryons et larves de poisson Médaka. Seules les réponses significativement différentes du témoin (filtre sans particules) apparaissent dans le tableau. En gris les effets aigus en blanc les effets subaigus.**

	sept-11			juil-12		
	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel
Embryonnaire						
Larvaire						
Taux d'éclosion						
Age embryonnaire à l'éclosion		↗				
Rythme cardiaque						
Longueur totale						
Taille de la tête						
Rapport Tête/ Longueur						
Surface sac vitellin			↘			
Individus malformés						

Les résultats obtenus pour les eaux filtrées sont rassemblés dans le Tableau 4. Une toxicité aiguë ou subaiguë a été observée à Triel et Bougival pour les deux périodes de prélèvement. L'échantillon d'eau de Triel de septembre 2011 présentait une toxicité plus marquée avec notamment des effets létaux sur embryons de médak. Les eaux collectées à Marnay ne présentaient pas de toxicité quelle que soit la période de prélèvement.

**Tableau 4 : Toxicité de l'eau filtrée de Seine sur embryons et larves de poisson Médaka. Seules les réponses significativement différentes du témoin (eau de source) apparaissent dans le tableau. En gris les effets aigus en blanc les effets subaigus.**

	sept-11			juil-12		
	Marnay	Bougival	Triel	Marnay	Bougival	Triel
Embryonnaire			↘			
Larvaire						
Taux d'éclosion						
Age embryonnaire à l'éclosion						
Rythme cardiaque						
Longueur totale						
Taille de la tête					↘	↘
Rapport Tête/ Longueur					↘	
Surface sac vitellin						
Individus malformés		↗				

Il ressort de cette étude que le sédiment représente le compartiment le plus toxique et que cette toxicité augmente de l'amont (Marnay) vers l'aval (Triel) de Paris. Des fluctuations temporelles de toxicité sont observées qui pourraient être liées aux conditions (différentes pour le prélèvement de décembre 2012). Les eaux collectées en aval de Paris apparaissent modérément toxiques. Une légère toxicité a également été mesurée pour les particules en suspension mais celle-ci varie dans le temps et demande donc à être confirmée.

## Conclusions

Les travaux réalisés en 2012 ont permis de poursuivre le projet initié en 2011 visant à étudier la pression chimique associée à la présence des micropolluants organiques dans les compartiments abiotiques et biotiques de l'écosystème fluvial de la Seine et à déterminer *in vitro* et *in vivo* le potentiel toxique du milieu.

Les données acquises en 2011 et 2012 montrent une cohérence entre la pression chimique et la mesure du potentiel toxique ou perturbateur endocrinien. En effet, toutes les mesures tendent à distinguer le site amont (Marnay) des deux sites situés en aval de Paris. La distinction entre les sites de Bougival et Triel est moins nette, tant pour les niveaux de contamination que pour les réponses écotoxiques.

Ce jeu de données sera complété en 2013 avec la réalisation d'analyses supplémentaires. Celles-ci seront notamment réalisées sur les échantillons prélevés à l'occasion d'une quatrième campagne conduite en décembre 2012 ; elles permettront ainsi de mieux appréhender la variabilité saisonnière des différentes réponses écotoxiques mesurées, en lien avec celle de la pression chimique.

## Références

Balaguer, P., François, F., Comunale, F., Fenet, H., Boussioux, A.-M., Pons, M., Nicolas, J.-C., Casellas, C., 1999. Reporter cell lines to study the estrogenic effects of xenoestrogens. *Sci. Total Environ.* 233, 47-56.

Beskoski, V.P., Takemine, S., Nakano, T., Slavkovic Beskoski, L., Gojgic-Cvijovic, G., Ilic, M., Miletic, S., Vrvic, M.M., 2013. Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Panevo (Serbia) industrial area. *Chemosphere*, sous presse.

Cargouët, M., Perdiz, D., Mouatassim-Souali, A., Tamisier-Karolak, S., Levi, Y., 2004. Assessment of river contamination by estrogenic compounds in Paris area (France). *Sci. Total Environ.* 324, 55-66.

DuPont Surface Protection Solutions, Dupont™ Capstone® repellents and surfactants, Product stewardship detail, [http://www2.dupont.com/Capstone/en\\_US/assets/downloads/K-20614-3\\_Capstone\\_Stewardship\\_Detail\\_Brochure.pdf](http://www2.dupont.com/Capstone/en_US/assets/downloads/K-20614-3_Capstone_Stewardship_Detail_Brochure.pdf), 2012

Fechner, L. 2012. Acquisition de tolérance et modification de structure des communautés périphytiques : une réponse précoce à la pression urbaine dans les milieux aquatiques, Thèse de doctorat.

Fechner, L. et al. 2012. Evaluation intégrée de la pression chimique en Seine et de son impact par diverses réponses écotoxiques. Rapport d'activité PIREN-Seine 2011, [http://www.sisyphes.upmc.fr/piren/rapports\\_2011/ecologie\\_ecotox](http://www.sisyphes.upmc.fr/piren/rapports_2011/ecologie_ecotox)

Gaspéri, J., Moreau-Guigon, E., Labadie, P., Blanchard, M., Teil, M. J., Tlili, K., Quoc Dinh, T., Tran, C., Alliot, F., Desportes, A., Bourges, C., Chevreuil, M., Cladière, M., Lorgeoux, C., Miège, C., Bados, P., Coquery, M., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Karolak, S., Levi, Y., 2010. Contamination de la Seine par les micropolluants organiques : évolution selon les conditions hydriques et l'urbanisation. PIREN Seine : rapport de synthèse 2007 - 2010.

Jugan, M.L., Levy-Bimbot, M., Pomerance, M., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J. P., Levi, Y., 2007. A

new bioluminescent cellular assay to measure the transcriptional effects of chemicals that modulate the alpha-1 thyroid hormone receptor. *Toxicol. In Vitro* 21, 1197-1205.

Jugan, M.L., Oziol, L., Bimbot, M., Huteau, V., Tamisier-Karolak, S., Blondeau, J.P., Levi, Y., 2009. In vitro assessment of thyroid and estrogenic endocrine disruptors in wastewater treatment plants, rivers and drinking water supplies in the greater Paris area (France) *Sci. Total Environ.* 407(11), 3579-3587.

Kannan, K., Tao, L., Sinclair, E., Pastva, S.D., Jude, D.J., Giesy, J.P., 2005. Perfluorinated Compounds in Aquatic Organisms at Various Trophic Levels in a Great Lakes Food Chain. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 48, 559-566.

Kelly, B.C., Ikonou, M.G., Blair, J.D., Surrige, B., Hoover, D., Grace, R., Gobas, F.A.P.C., 2009. Perfluoroalkyl Contaminants in an Arctic Marine Food Web: Trophic Magnification and Wildlife Exposure. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4037-4043.

Kinani, S., Bouchonnet, S., Creusot, N., Bourcier, S., Balaguer, P., Porcher, J.-M., Aït- Aïssa, S., 2010. Bioanalytical characterisation of multiple endocrine- and dioxin-like activities in sediments from reference and impacted small rivers. *Environ. Pollut.* 158, 74-83.

Labadie, P., Chevreuril, M., 2011. Partitioning behaviour of perfluorinated alkyl contaminants between water, sediment and fish in the Orge River (nearby Paris, France). *Environ. Pollut.* 159, 391-397.

Labadie, P., Chevreuril, M., 2011. Biogeochemical dynamics of perfluorinated alkyl acids and sulfonates in the River Seine (Paris, France) under contrasting hydrological conditions. *Environ. Pollut.* 159, 3634-3639.

Loos, R., Gawlik, B.M., Locoro, G., Rimaviciute, E., Contini, S., Bidoglio, G., 2009. EU-wide survey of polar organic persistent pollutants in European river waters. *Environ. Pollut.* 157, 561–568.

Miège, C., Gabet, V., Coquery, M., Karolak, S., Jugan, M.L., Oziol, L., Levi, Y., Chevreuril, M., 2009. Evaluation of estrogenic disrupting potency in aquatic environments and urban wastewaters by combining chemical and biological analysis. *TrAC* 28, 186-195.

Oziol, L., Miège, C., Bados, P., Bimbot, M., Huteau, V., Schiavone, S., Karolak, S., Coquery, M., Levi, Y., 2009. Evaluation du potentiel perturbateur endocrinien des eaux de la Seine et en sortie du bassin versant de l'Orge : analyses chimiques et biologiques. *PIREN Seine : rapport de synthèse 2007 - 2010.*

Vicquelin L., Leray-Forget J., Peluhet L., LeMenach K., Deflandre B., Anschutz P., Etcheber H., Morin B., Budzinski H., Cachot J., 2011. A new spiked sediment assay using embryos of the Japanese medaka specifically designed for a reliable toxicity assessment of hydrophobic chemicals. *Aquatic Toxicology*, 105 : 235-245.

Wilson, V.S., Bobseine, K., Lambright, C.R., Gray LE Jr., 2002. A novel cell line, MDA-kb2, that stably expressed an androgen- and glucocorticoid-responsive reporter for the detection of hormone receptor agonists and antagonists. *Toxicol. Sci.* 66(1), 69-81.