

Bioaccumulation des composés poly- et perfluoroalkylés (PFAS) chez une espèce sentinelle, le chevine : niveaux et déterminants dans la Seine

Pierre Labadie^{1*}, H. Budzinski¹, S. Guérin², N. Macorps¹, V. Rocher³

¹ CNRS/Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC

² INERIS-URCA-ULHN, UMR-I 02 Sebio

³ SIAAP

* pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Résumé

*Les organismes aquatiques sont exposés de façon chronique à de multiples micropolluants organiques, notamment dans les cours d'eau sous influence urbaine. Cette action s'inscrit dans ce contexte et se focalise sur deux familles de micropolluants partiellement réglementés : les composés fluoroalkylés (PFAS) et les chloroalcanes. Elle s'appuie sur l'utilisation de deux organismes sentinelles : le chevine *Squalius cephalus* et la moule zébrée *Dreissena polymorpha*, deux modèles biologiques complémentaires fréquemment employés pour la surveillance chimique des hydrosystèmes continentaux. Le travail réalisé en début de phase et présenté ici concerne uniquement le volet « chevine ». Les résultats confirment le caractère ubiquiste des PFAS dans le système Seine et illustrent l'influence de la métropole du Grand Paris, avec des niveaux significativement plus élevés chez les poissons collectés sur les sites à l'aval de la zone d'étude. Les profils moléculaires observés dans les sédiments mettent par ailleurs en évidence la présence de composés d'intérêt très émergent jamais recherchés jusqu'à présent dans le cadre du PIREN-Seine (et, plus largement, encore peu recherchés à l'échelle globale). Outre le site de prélèvement, l'écologie trophique des individus apparaît être un facteur de contrôle significatif de la bioaccumulation des PFAS (niveau trophique et exploitation des sources de carbone). Ces résultats seront prochainement complétés pour les chloroalcanes et des données complémentaires seront acquises pour les dreissènes.*

Points clefs

- ✓ Caractère ubiquiste des PFAS dans les sédiments et les chevines
- ✓ Détection ponctuelle de composés d'intérêt émergent alternatifs aux composés historiques
- ✓ Relations significatives entre teneurs en PFAS, niveau trophique et exploitation du carbone autochtone

Abstract

Aquatic organisms are chronically exposed to multiple organic micropollutants, particularly in waterways under urban influence. In this context, this action focuses on two families of partially regulated micropollutants: fluoroalkyl compounds (PFAS) and chloroalkanes. It relies on the use of two sentinel organisms: the European chub *Squalius cephalus* and the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, two complementary biological models frequently used for the chemical monitoring of continental hydrosystems. The work carried out since 2020 and presented here is restricted to the "chub" research action. The results confirm the ubiquitous nature of PFAS in the Seine River system and illustrate the influence of the Greater Paris metropolitan area, with significantly higher levels in fish collected at the sites furthest downstream from the study area. The molecular patterns observed in the sediments also highlight the presence of compounds of very emerging interest, never before investigated in the framework of PIREN-Seine. In addition to the sampling site, the trophic ecology of the individuals is a significant control factor for the bioaccumulation of PFAS (i.e. trophic level and exploitation of carbon sources). These results will soon be completed for chloroalkanes and complementary data will be acquired for zebra mussels.

Key points

- ✓ Ubiquitous nature of PFAS in sediments and chub in the Seine River
- ✓ Point detection of emerging compounds of interest used as alternatives to legacy compounds
- ✓ Significant relationships between PFAS levels, trophic level and autochthonous carbon exploitation

Introduction

Les enjeux résultant de la diffusion de substances toxiques dans les milieux aquatiques sont au cœur de nombreuses préoccupations scientifiques et sociétales. L'évaluation du risque écotoxicologique se heurte cependant à la complexité des processus qui gouvernent la toxicité mais aussi la biodisponibilité, la métabolisation, la bioaccumulation voire l'amplification trophique des micropolluants. La compréhension de l'écodynamique des micropolluants dans les écosystèmes dulçaquicoles s'avère d'autant plus importante que la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) et sa directive fille 2013/39/UE ont récemment introduit de nouvelles normes de qualité environnementale concernant le biote ($NQ_{E_{biote}}$), principalement définies pour les poissons (Biaudet, 2018).

Durant la phase VII du PIREN-Seine, les travaux dans ce domaine ont inclus l'étude comparative du transfert trophique de différentes familles de micropolluants, dont des composés organohalogénés d'intérêt émergent, listés pour certains dans la DCE ou la convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants (ex : PFOS ou chloroalkanes à chaîne courte) (Simmonet-Laprade et al., 2019 ; Goutte et al., 2020). Ces travaux ont été réalisés sur le bassin versant de l'Orge, soumis à de fortes pressions anthropiques altérant la qualité et la nature des habitats de la biocénose aquatique et dont la configuration permettait l'échantillonnage d'un nombre important de maillons trophiques. En parallèle, la question de la contamination de la biocénose à plus large échelle spatiale dans le bassin de la Seine n'a été traitée dans le PIREN-Seine que pour un nombre limité de familles de micropolluants, principalement des composés « historiques » tels les polychlorobiphényles (PCB) ou les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), sans que les déterminants potentiels de cette contamination n'aient systématiquement été étudiés. Or, l'acquisition de l'ensemble de ces informations contribue à une meilleure compréhension des modalités de contamination et à l'établissement d'un meilleur diagnostic de la qualité chimique des masses d'eau.

Cette action s'inscrit dans ce contexte et vise à poursuivre la collaboration avec le SIAAP (réseau MeSeine) initiée durant la phase VII du PIREN-Seine (Labadie et al., 2019). Elle s'appuiera sur l'utilisation

de deux organismes sentinelles, le chevine *Squalius cephalus* et la moule zébrée *Dreissena polymorpha*. Ces deux modèles biologiques complémentaires sont fréquemment employés pour la surveillance chimique des hydrosystèmes continentaux (Tilghman et al., 2009). Le chevine est un cyprinidé omnivore et benthopélagique, de niveau trophique relativement élevé et dont la contamination permet d'intégrer celle d'une grande partie du réseau trophique. Bivalve filtreur situé, à l'inverse du chevine, à la base du réseau trophique en tant que consommateur primaire, la moule zébrée permet quant à elle d'intégrer à la fois la contamination de la phase dissoute et celle de la phase particulaire.

L'objectif de cette action sera de proposer une étude comparative des niveaux, profils et déterminants de la contamination chez ces deux modèles biologiques susceptibles d'être employés comme bioindicateurs dans les programmes de surveillance. Elle sera réalisée selon un transect longitudinal amont-aval sur l'axe fluvial de la Seine et sera principalement centrée sur des micropolluants organohalogénés encore peu documentés dans ce système (cf. ci-après). Compte-tenu du contexte sanitaire exceptionnel et de son impact conséquent sur les activités des laboratoires de recherche jusqu'en juillet 2021, ce rapport est focalisé sur l'analyse des résultats relatifs à la contamination des chevines. Des perspectives à court terme sont présentées en conclusion.

1. Matériels et méthodes

1.1. Sites d'étude et collecte des échantillons

Les prélèvements de chevines ont été réalisés en août 2019 sur l'axe fluvial de la Seine, dans le cadre des campagnes de suivi annuelles conduites par le SIAAP (Réseau MeSeine). Des pêches électroniques ont été conduites par le bureau d'études AQUASCOP sur 4 sites retenus à la suite d'une réflexion menée conjointement par les partenaires de cette action, de façon à couvrir un large transect longitudinal amont-aval à l'échelle régionale (Tableau 1 et Figure 1) : un site à l'amont de Paris et trois sites à l'aval. Le site amont, situé sur la Marne, est ici considéré comme une référence relative, déjà considérée comme telle dans des travaux antérieurs (Labadie et al., 2019).

Les poissons ont été anesthésiés au MS222 avant mesure des paramètres biométriques et dissection (prélèvement du foie et du muscle dorsal : filets). Le sexe des individus a été déterminé sur le terrain lors des dissections, sur la base de la morphologie des gonades. Les échantillons de tissus ont été stockés à 4°C dans des tubes en polypropylène avant congélation, lyophilisation et broyage (broyeur à billes).

Tableau 1. Bilan de l'échantillonnage.

Date	Commune	Cours d'eau	Coordonnées GPS	n individus
28/08/2019	Gournay-sur-Marne	Marne	48°51'27.7"N 2°34'02.6"E	12 (5 ♀ ; 7 ♂)
28/08/2019	Levallois	Seine	48°54'20.9"N 2°17'23.3"E	12 (7 ♀ ; 5 ♂)
29/08/2019	Le Pecq	Seine	48°53'57.5"N 2°06'27.0"E	10 (4 ♀ ; 6 ♂)
29/08/2019	Triel-sur-Seine	Seine	48°58'29.9"N 2°00'13.5"E	12 (7 ♀ ; 5 ♂)



Figure 1. Cartographie des sites d'échantillonnage.

Par ailleurs, des échantillons composites de sédiments de surface ($\approx 0-2$ cm) ont été collectés sur chaque site pour qualifier l'état de contamination de chaque zone par le biais de ce compartiment intégrateur. Les sédiments ont été échantillonnés à l'aide d'une cuillère en inox et conservés à 4°C dans des barquettes en aluminium avant congélation.

1.2. Analyse des PFAS

La méthode d'analyse mise en œuvre a été adaptée de travaux antérieurs (Simmonet-Laprade et al., 2019), modifiée pour permettre l'extraction d'une plus large gamme de composés historiques et d'intérêt émergent : le solvant d'extraction est ici du méthanol additionné d'hydroxyde de sodium. Ainsi, outre les acides carboxyliques et sulfoniques perfluoroalkylés, ce travail a inclus de nombreux PFAS d'intérêt émergent : fluorotélomères (FTSA) et bétaines polyfluoroalkylées (FTAB, composés zwitterioniques utilisés historiquement dans les formulations de mousse anti-incendie) ainsi que des composés considérés comme des alternatives aux composés historiques : NaDONA, FPePA, PFECHS¹... Cette méthode repose sur l'extraction des analytes assistée par ultrasons, la purification des extraits sur cartouches échanges d'anions et graphite (graphite seulement dans le cas des sédiments). L'analyse est ensuite réalisée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), avec une quantification par étalonnage interne (dilution isotopique). Les analyses du biote ont été réalisées sur le muscle dorsal (filet) et le foie, après lyophilisation et broyage au broyeur à billes ; les analyses sur le sédiment ont été réalisées après lyophilisation, tamisage à 2 mm et broyage.

1.3. Analyses des isotopes stables (C et N)

Pour chaque échantillon de muscle dorsal, l'analyse des rapports isotopiques du carbone et de l'azote a été réalisée sur une prise d'essai d'environ 0.2 mg. Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre ThermoFinnigan Delta V EAIRMS équipé d'une interface Conflo IV. Pour chaque échantillon, l'abondance relative des isotopes stables (notation δ , exprimée en ‰) est calculée selon l'équation suivante :

$$\delta X = [(R_{\text{éch}}/R_{\text{standard}})-1] * 1000,$$

où X correspond à l'isotope lourd (¹³C ou ¹⁵N) et R correspond au rapport d'abondance entre les isotopes lourd et léger d'un élément donné (¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N). Le Vienna Pee Dee Belemite et l'azote atmosphérique ont respectivement été utilisés comme standards pour le calcul du $\delta^{13}\text{C}$ et du $\delta^{15}\text{N}$.

¹ NaDONA : dodécafluoro-3H-4,8-dioxanonanoate de sodium ; FPePA : 3-Perfluoropentyl propanoic acid (5:3) ; PFECHS : sulfonate de perfluoro-4-éthylcyclohexane

1.4. Analyses statistiques

Les différences entre stations ont été testées à l'aide de tests non paramétriques de Kruskal-Wallis et Mann-Whitney, suivis de tests post-hoc Dunn avec une correction de Bonferroni. L'analyse des facteurs de contrôle de la bioaccumulation a été faite via une analyse de covariance (ANCOVA). L'ensemble de ces analyses a été réalisé à l'aide du logiciel R.

2. Résultats

2.1. Biométrie

Les caractéristiques biométriques des individus échantillonnés sont résumées dans le Tableau 2. L'objectif était de travailler sur des individus présentant des caractéristiques contrastées, tant pour la taille (proxy de l'âge) que pour la masse, afin de pouvoir étudier l'impact de ces deux facteurs sur les niveaux d'imprégnation. Au vu de la forte dispersion des valeurs mesurées, cet objectif a été atteint ; à titre d'exemple, toutes stations confondues, on observe un écart-type relatif de 27 % pour la taille des individus femelles (rapport max/min : 2,8) et de 64 % (rapport max/min : 9) pour la masse.

Tableau 2. Caractéristiques biométriques des chevaines échantillonnées sur l'axe fluvial.

		n	Taille (mm)	Masse (g)
Gournay	♂	7	237 ± 52 (191–317)	152 ± 99 (73–296)
	♀	5	331 ± 110 (197–500)	495 ± 474 (73–1295)
Levallois	♂	5	284 ± 61 (204–354)	258 ± 143 (86–419)
	♀	7	324 ± 78 (260–487)	458 ± 497 (177–1572)
Le Pecq	♂	6	237 ± 63 (170–305)	172 ± 127 (47–327)
	♀	4	326 ± 115 (176–456)	463 ± 350 (56–912)
Triel	♂	5	239 ± 45 (182–295)	166 ± 90 (67–284)
	♀	7	284 ± 70 (206–431)	312 ± 296 (96–973)
Toutes stations confondues	♂	23	248 ± 56 (170–354)	183 ± 115 (47–419)
	♀	23	314 ± 86 (176–500)	422 ± 393 (56–1572)

2.2. Signature isotopique des chevaines

Les valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$ sont respectivement comprises entre -24,26 à -27,82 ‰ (moyenne -26,70 ± 0,74 ‰) et de 9,40 à 13,32 ‰ (moyenne 11,47 ± 0,90 ‰) (Figure 2). La large gamme de valeurs pour le $\delta^{13}\text{C}$ est en bon accord avec la variété des sources de carbone utilisées par le chevaine, espèce omnivore. Des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus négatives sont principalement liées à l'utilisation de matière organique détritique, une source de carbone *a priori* plus liée aux sédiments et aux apports terrigènes (Finlay, 2001). Les rapports isotopiques de l'azote sont significativement différents entre sites, avec des valeurs $\delta^{15}\text{N}$ plus élevées à Triel qu'au Pecq et à Gournay-Sur-Marne. Cet enrichissement en $\delta^{15}\text{N}$ sur le site de Triel est peut-être lié aux apports de la station d'épuration Seine Aval, située à quelques kilomètres en amont, mais il peut également être lié au fait que les chevaines capturés sur ce site s'alimentent à un niveau trophique plus élevé que sur les autres sites.

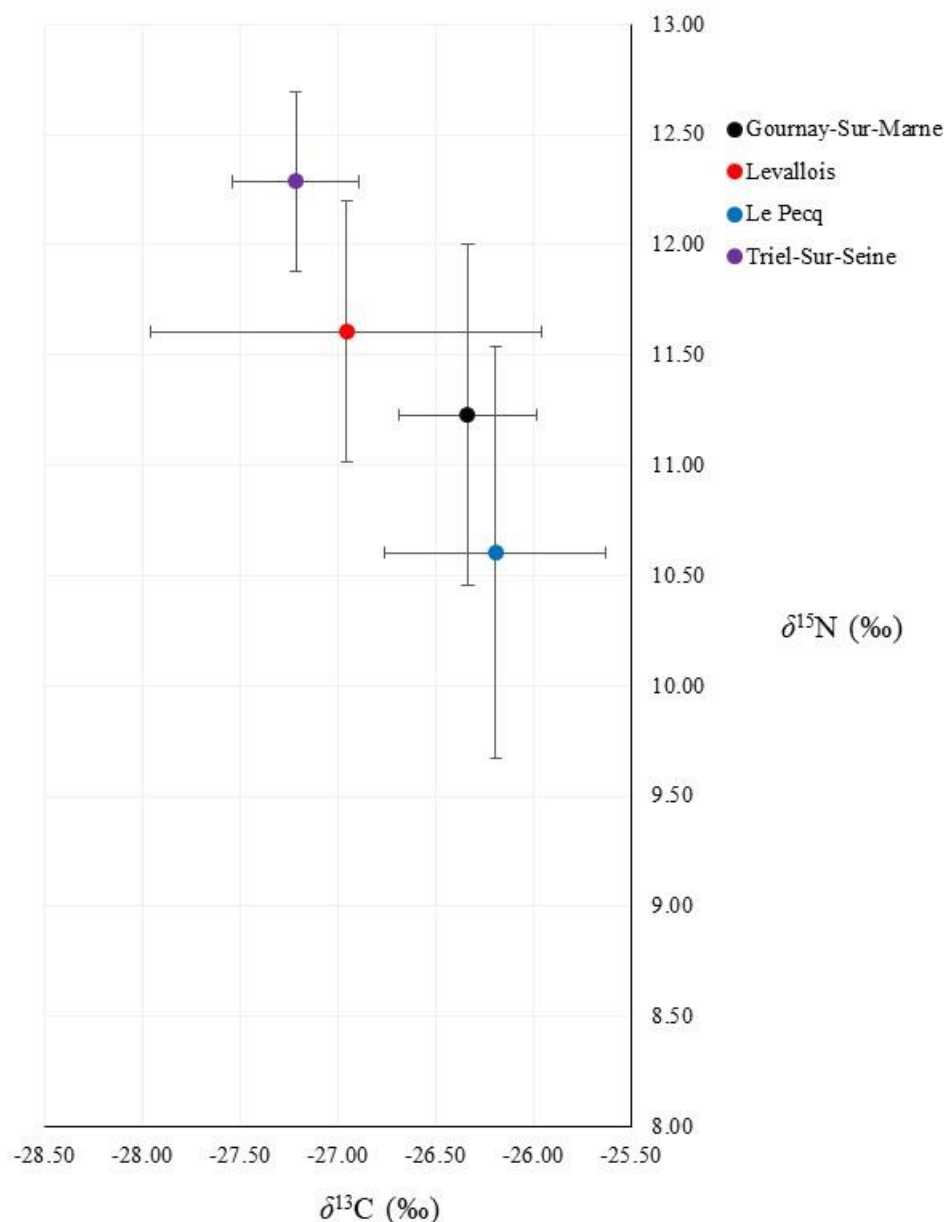


Figure 2. Rapport isotopiques de l'azote et du carbone dans les muscles de chevaines.

2.2. Etat de contamination du sédiment

Parmi les 36 PFAS analysés, 17 ont été détectés dans les sédiments. Le L-PFOS, le Br-PFOS, le PFDoDA et le 6:2 FTAB ont été systématiquement détectés ; le 5:3 FTCA (produit de dégradation de PFAS de structure plus complexe) a été détecté sur tous les sites sauf Le Pecq tandis que le 8:2 FTAB était détecté sur deux sites (Levallois et Triel-sur-Seine). Les composés alternatifs aux acides fluoroalkylés (PFAA) tels que les 6:2 et 8:2 CI PFESA ou GenX n'ont jamais été détectés, mais l'ADONA a été quantifié sur deux sites à des niveaux très faibles ($< 0,04 \text{ ng g}^{-1}$). Les concentrations totales ($\sum\text{PFAS}$) étaient comprises entre $0,78$ et $6,7 \text{ ng.g}^{-1}$, les composés individuels étant généralement inférieurs au ng.g^{-1} , à l'exception du 6:2 FTAB à Triel-Sur-Seine ($1,70 \pm 0,07 \text{ ng.g}^{-1}$). Les concentrations étaient du même ordre de grandeur que celles observées précédemment dans la Seine et l'Orge (moyenne $\sum\text{PFAS} = 2,28 \pm 2,31 \text{ ng.g}^{-1}$) (Munoz et al., 2018 ; Simonnet-Laprade et al., 2019). Sur tous les sites, les profils moléculaires sont dominés par le 6:2 FTAB qui représente $46 \pm 19 \%$ de $\sum\text{PFAS}$, suivi par le 5:3 FTCA et le L-PFOS ($18 \pm 14 \%$ et $14 \pm 4 \%$, respectivement) ; ceci fournit clairement la preuve de la contribution non négligeable de PFAS d'intérêt émergent sur la zone d'étude.

Un profil particulier de PFAS a été observé à Triel-sur-Seine, marqué par une présence plus importante de 6:2 FTSA ($2,6 \pm 0,8$ % de Σ PFAS), en bon accord avec des travaux antérieurs (Munoz et al., 2018) et potentiellement en lien avec l'activité de production de fluoropolymères dans le bassin de l'Oise.

Sur la base des teneurs exprimées en ng g^{-1} de poids sec, ces résultats ne mettent pas en évidence de tendance spatiale significative à l'aval de Paris (*i.e.* gradient amont-aval) même si les échantillons prélevés à Triel et Levallois sont significativement plus contaminés que les deux autres sites (*Figure 3*). Par ailleurs, comme indiqué précédemment et afin de tenter de refléter au mieux l'évolution des usages de PFAS, la liste des composés recherchés ici diffère sensiblement de celle retenue dans les travaux antérieurs réalisés sur l'axe fluvial (Munoz et al., 2018). De nombreux composés alternatifs aux composés historiques ont été recherchés et la différence observée entre le suivi réalisé en 2016 et celui présenté ici peut en partie s'expliquer par l'abondance relative de composés tels que le FPePA (produit intermédiaire de biotransformation) et surtout les bétaines (6:2 et 8:2 FTAB) qui représentent par exemple plus de 36 à 51 % de la teneur totale en PFAS sur les trois sites aval (*Figure 4*). Ces composés n'avaient pas été recherchés précédemment dans les travaux réalisés dans le cadre du PIREN-Seine, mais leur contribution significative à la teneur totale en PFAS en divers sites du réseau hydrographique national avait été mise en évidence (Munoz et al., 2016). On notera néanmoins la très faible fréquence de détection voire l'absence de détection de la majorité des composés « alternatifs » recherchés, ce qui illustre la faiblesse actuelle (mais probablement amenée à augmenter) de l'émission de ces composés dans le bassin de la Seine.

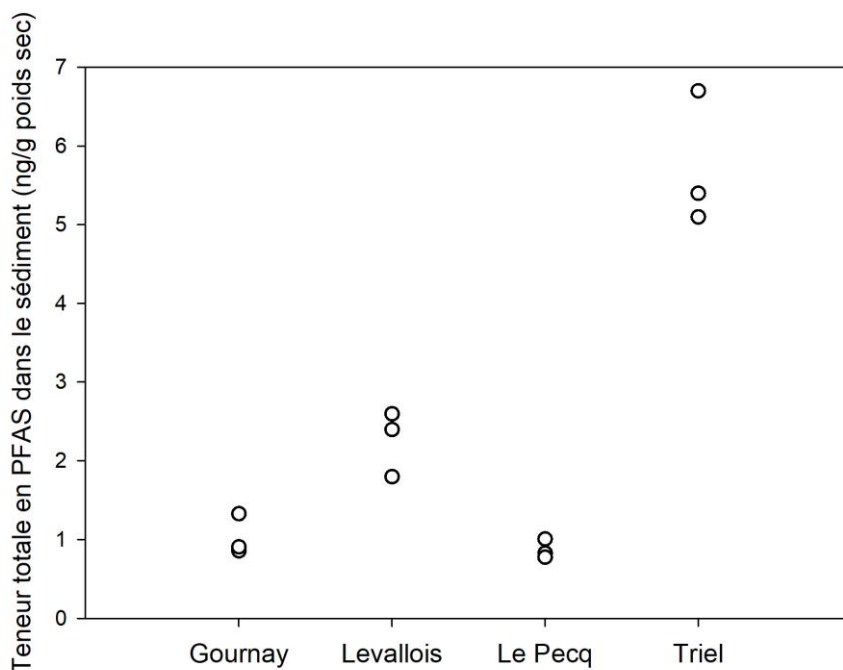


Figure 3. Contamination des sédiments collectés sur l'axe fluvial ($n=3$ par station).

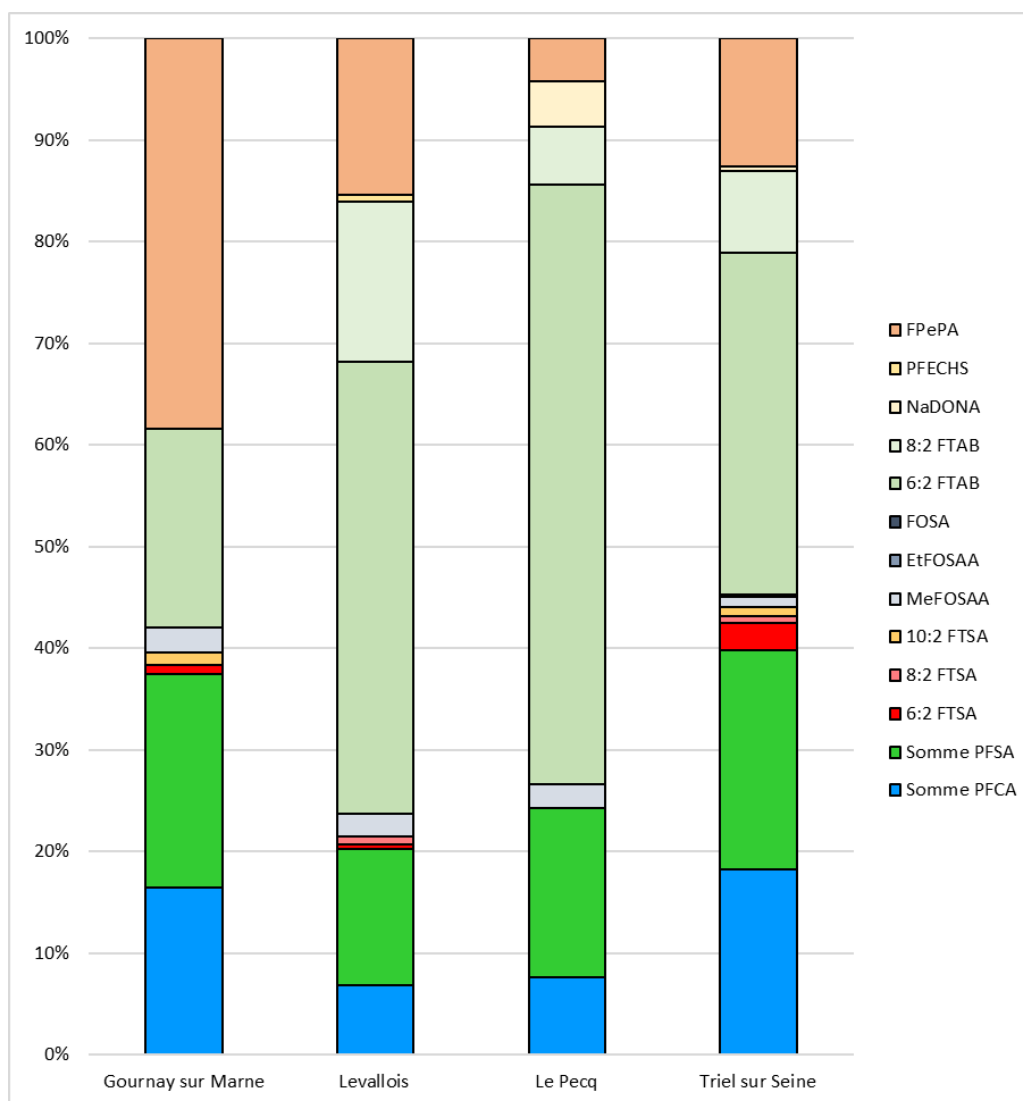


Figure 4. Profil moléculaire des PFAS dans les sédiments (PFSA : sulfonates ; PFCA : carboxylates ; FTSA : fluorotélomères sulfonates ; FTAB : bétaines ; pour la définition de l'ensemble des acronymes, cf. Buck et al., 2011).

2.3. Etat de contamination des chevaines : niveaux et profils

Les résultats acquis à ce jour sur les chevaines concernent les teneurs musculaires et hépatiques des PFAS (Figure 5). Les individus collectés à Gournay apparaissent significativement moins contaminés que ceux échantillonnés sur les trois sites aval, pour lesquels aucune différence significative de niveaux n'est observée. Ces observations confortent les résultats acquis durant la phase VII du PIREN-Seine qui montraient une augmentation significative des concentrations de PFAS dans la phase dissoute de la colonne d'eau et le biofilm (Munoz et al., 2018), suggérant des apports conséquents au sein de la métropole du Grand Paris. Ces niveaux sont globalement plus faibles que ceux récemment déterminés sur le secteur aval de l'Orge, considéré comme un point chaud de contamination pour les PFAS à l'échelle régionale (Simonnet-Laprade et al., 2019). Comme observé précédemment chez le cheveine et d'autres espèces de poissons, les teneurs déterminées dans les foies sont, pour un même individu, supérieures aux teneurs musculaires (rapport variant de 1,1 à 20) en raison de l'affinité des PFAS pour certains types de protéines hépatiques (Houde et al., 2011 ; Labadie et Chevreuil, 2011) (Tableau 3).

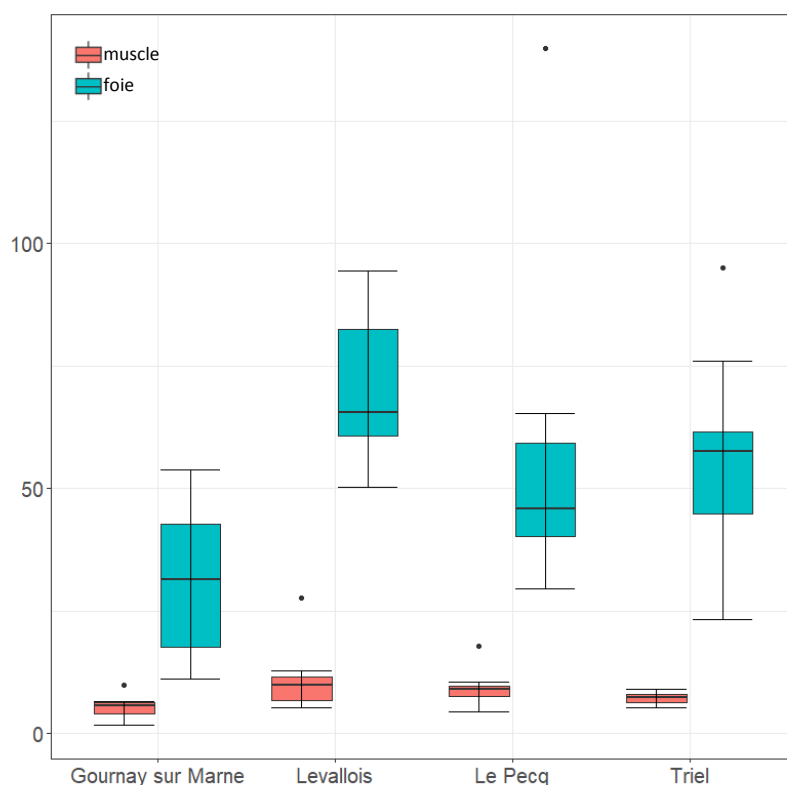


Figure 5. Teneurs totales en PFAS dans les tissus de chevaine (muscles et foies), exprimées en ng/g de tissus frais.

Chez les chevaines, le profil moléculaire est légèrement dominé par les carboxylates (rapport médian carboxylates/sulfonates : 1,2) dans les tissus musculaires, tandis qu'une tendance inverse est observée dans les foies (rapport médian carboxylates/sulfonates : 0,5), en bon accord avec les travaux antérieurs sur la distribution tissulaire de ces composés (Houde et al., 2011) (synthèse tous sites confondus : Figure 6). Le composé majoritaire reste l'isomère linéaire de l'acide perfluooctane sulfonique (L-PFOS), à ce jour le seul composé de la famille pour lequel une NQE_{biote} a été définie ($9,1 \text{ ng g}^{-1}$ poids frais). Pour la chevaine, les teneurs en PFOS dans l'organisme entier peuvent être estimées à l'aide d'un facteur correctif ($\times 1,908$; cf. Babut et al., 2016). Sur cette base, il ressort que la médiane du rapport teneur organisme entier / NQE_{biote} est de 0,6 et que seuls trois individus prélevés à Levallois dépassent la NQE_{biote} , (7 %).

Les composés alternatifs ont été très peu détectés dans les tissus de chevaine (Tableau 3). Ainsi, le 11Cl-PF3OUdS (11-chloroeicosafuoro-3-oxaundécane-1-sulfonate de potassium), issu de la formulation F53-B (ECHA, 2020) (substitut du PFOS) n'a été détecté que dans un seul échantillon de foie (Le Pecq) à un niveau très faible ($0,2 \text{ ng g}^{-1}$ poids frais), tandis que le PFECHS (substitut au PFOS) n'a été détecté que dans 8 échantillons de foie ($0,5\text{--}0,7 \text{ ng g}^{-1}$ poids frais). Autre composé d'intérêt émergent, le 8:2 FTAB (bétaine polyfluorée employée notamment dans les formulations de mousse anti-incendie) a été détecté uniquement dans trois échantillons collectés à Triel à des niveaux très faibles ($0,13\text{--}0,42 \text{ ng g}^{-1}$ poids frais). Ce composé était également présent dans les sédiments de ce même site d'étude, mais dans des proportions plus importantes (10-15 % de la teneur totale en PFAS), ce qui peut s'expliquer i) par la moindre bioaccessibilité de ce composé ou ii) sa biotransformation à la base du réseau trophique (ex : biofilm ou macroinvertébrés) ou chez la chevaine.

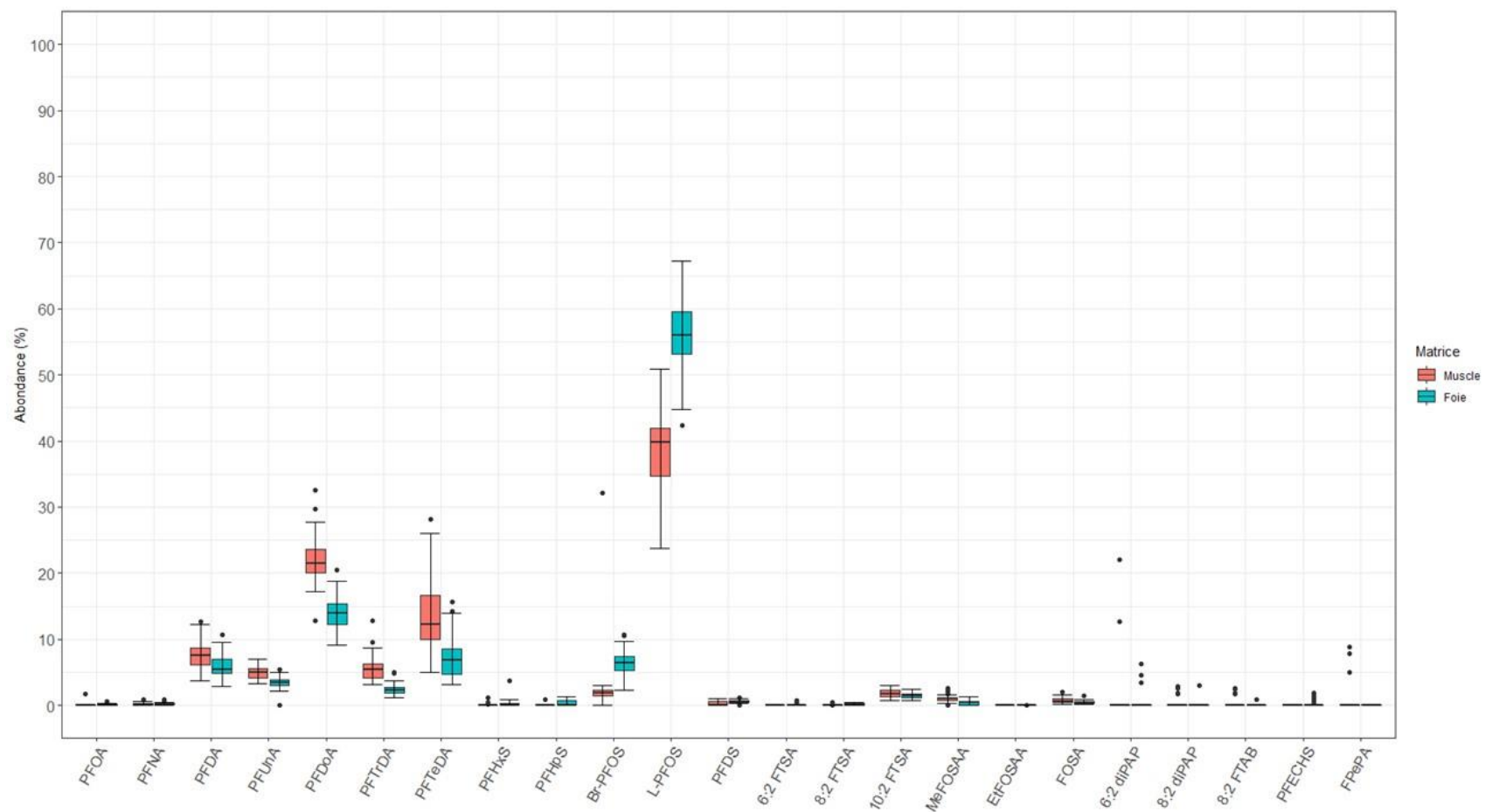


Figure 6. Profil moléculaire (abondance relative, %) des PFAS dans les tissus de chevaines tous site confondus (n=46). Carboxylates : PFOA à PFTeDA), sulfonates (PFHxS à PFDS), autres composés 6 :2 FTSA à FPePA).

Tableau 3. Niveau de PFAS, gamme de concentration/médiane dans le muscle et le foie des chevaines (DF : fréquence de détection ; ND : non détecté). pf : poids frais.

	Muscle (n = 46)			Foie (n = 46)		
	DF (%)	Gamme (ng.g ⁻¹ pf)	Médiane (ng.g ⁻¹ pf)	DF (%)	Gamme (ng.g ⁻¹ pf)	Médiane (ng.g ⁻¹ pf)
PFHxA	0	<0.02	<0.02	0	<0.02	<0.02
PFHpA	2	<0.005 – 0.02	<0.005	0	<0.005	<0.005
PFOA	2	<0.06 – 0.13	<0.06	33	<0.06 – 0.26	<0.06
PFNA	28	<0.03 – 0.11	<0.03	91	<0.03 – 0.78	0.12
PFDA	100	0.09 – 1.6	0.58	100	0.56 – 10	2.8
PFUnDA	100	0.06 – 1.2	0.35	96	<0.53 – 5.1	1.7
PFDoDA	100	0.37 – 5.0	1.6	100	1.6 – 18	7.0
PFTTrDA	100	0.07 – 1.6	0.39	100	0.25 – 3.3	1.0
PFTeDA	100	0.22 – 3.8	0.90	100	0.66 – 12	3.1
PFBS	0	<0.07	<0.07	0	<0.42	<0.42
PFHxS	11	<0.02 – 0.10	<0.02	42	<0.17 – 1.6	<0.17
PFHpS	2	<0.05 – 0.09	<0.05	44	<0.32 – 0.66	<0.32
Br-PFOS	93	<0.06 – 3.29	0.14	100	1.1 – 7.6	3.2
L-PFOS	100	0.63 – 13.3	2.6	100	5.8 – 94	28.7
PFDS	28	<0.06 – 0.27	<0.06	98	<0.10 – 1.5	0.27
4:2 FTSA	0	<0.004	<0.004	0	<0.02	<0.02
6:2 FTSA	0	<0.12	<0.12	18	<0.12 – 0.37	<0.12
8:2 FTSA	22	<0.01 – 0.03	<0.01	58	<0.02 – 0.42	0.08
10:2 FTSA	100	0.03 – 0.24	0.13	100	0.16 – 1.5	0.74
FOSAA	0	<0.008	<0.008	0	<0.05	<0.05
MeFOSAA	96	<0.05 – 0.09	0.07	58	<0.28 – 0.50	0.31
EtFOSAA	0	<0.15	<0.15	24	<0.002 – 0.02	<0.002
FOSA	100	0.01 – 0.14	0.05	100	0.04 – 0.70	0.20
MeFOSA	0	<0.01	<0.01	0	<0.06	<0.06
6:2 diPAP	4	<1.0 – 2.1	<1.0	7	<1.0 – 4.0	<1.0
8:2 diPAP	9	<0.08 – 0.27	<0.08	2	<0.21 – 1.2	<0.21
6:2 FTAB	0	<0.34	<0.34	0	<2.0	<2.0
8:2 FTAB	9	<0.13 – 0.20	<0.13	2	<0.47 – 0.77	<0.47
HFPO-DA	0	<0.30	<0.30	0	<0.35	
ADONA	0	<0.01	<0.01	0	<0.01	<0.01
6:2 Cl-PFESA	0	<0.01	<0.01	0	<0.06	<0.06
8:2 Cl-PFESA	0	<0.006	<0.006	2	<0.20 – 0.22	<0.20
PFECHS	0	<0.19	<0.19	20	<0.46 – 0.66	<0.46
5:3 FTCA	7	<0.09 – 0.75	<0.09	0	<0.36	<0.36
ΣPFAS	100	0.22 – 3.8	7.4	100	11 – 140	54

2.4. Déterminants de la contamination des chevaines

Afin d'étudier les facteurs de contrôle de la bioaccumulation des PFAS chez le chevine et leurs interactions, une analyse de type ANCOVA a été réalisée sur la base des données musculaires ; ces dernières permettent en effet une meilleure intégration temporelle des signaux isotopiques (Hette-Tronquart, 2012). Comme évoqué plus haut, le facteur « site d'échantillonnage » est un déterminant important des niveaux de PFAS dans les poissons. Il a donc été inclus comme variable qualitative dans cette analyse, de même que le facteur « sexe » (*i.e.* M/F). Seuls les PFAS avec une fréquence de détection > 90 % (PFCA C₁₀–C₁₄, PFOS, 1 FOSA et 10:2 FTSA) ont été considérés (réponse quantitative). Les variables explicatives quantitatives étaient la longueur des poissons et les proxies de l'écologie trophique ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$). Le facteur « masse » n'a pas été inclus car il était fortement corrélé avec la longueur (Figure S5) ; or, cette dernière est souvent utilisée comme un proxy pour l'âge des individus, s'avérant ainsi plus pertinente pour l'étude de la bioaccumulation. Les variables ont été centrées et réduites pour estimer leur contribution relative aux modèles de régression. Pour chaque modèle, les variables significatives ont été déterminées par une analyse de la somme des carrés de type III et l'amélioration des modèles par l'élimination des variables non significatives a été évaluée par un test F partiel (Tableau 4).

Tableau 4. Modèles de régression pour les PFAS sélectionnés (PFDA, PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA, PFOS, 10:2 FTSA et FOSA). CI : intervalle de confiance.

Variables	R ² ajusté (p-value)	Variables (p-value)	Coefficient (95% CI)
PFDA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.336); $\delta^{15}\text{N}$ (0.163); $\delta^{13}\text{C}$ (0.006) / Site (<0.0001); Sexe (0.529)	
	$\delta^{13}\text{C}$ / Site	$\delta^{13}\text{C}$ (0.005) / Site (<0.0001)	$\delta^{13}\text{C}$: 0.39 (0.12–0.66)
PFUnDA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.290); $\delta^{15}\text{N}$ (0.014); $\delta^{13}\text{C}$ (<0.001) / Site (<0.0001); Sexe (0.869)	
	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site	$\delta^{13}\text{C}$ (<0.001); $\delta^{15}\text{N}$ (0.016) / Site (<0.0001)	$\delta^{13}\text{C}$: 0.49 (0.23–0.76) $\delta^{15}\text{N}$: 0.36 (0.07–0.66)
PFDoDA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.873); $\delta^{15}\text{N}$ (0.002); $\delta^{13}\text{C}$ (0.004) / Site (<0.0001); Sexe (0.777)	
	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site	$\delta^{13}\text{C}$ (0.003); $\delta^{15}\text{N}$ (<0.001) / Site (<0.0001)	$\delta^{13}\text{C}$: 0.41 (0.15–0.67) $\delta^{15}\text{N}$: 0.61 (0.32–0.90)
PFTrDA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.550); $\delta^{15}\text{N}$ (0.004); $\delta^{13}\text{C}$ (0.005) / Site (<0.001); Sexe (0.924)	
	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site	$\delta^{13}\text{C}$ (0.004); $\delta^{15}\text{N}$ (<0.001) / Site (<0.001)	$\delta^{13}\text{C}$: 0.39 (0.14–0.65) $\delta^{15}\text{N}$: 0.66 (0.37–0.95)
PFTeDA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.311); $\delta^{15}\text{N}$ (0.004); $\delta^{13}\text{C}$ (0.006) / Site (0.005); Sexe (0.807)	
	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site	$\delta^{13}\text{C}$ (0.006); $\delta^{15}\text{N}$ (<0.001) / Site (<0.001)	$\delta^{13}\text{C}$: 0.38 (0.12–0.64) $\delta^{15}\text{N}$: 0.72 (0.43–1.01)
PFOS	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.687); $\delta^{15}\text{N}$ (0.031); $\delta^{13}\text{C}$ (<0.001) / Site (<0.001); Sexe (0.274)	
	$\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site	$\delta^{13}\text{C}$ (<0.001); $\delta^{15}\text{N}$ (<0.001) / Site (<0.0001)	$\delta^{13}\text{C}$: 0.52 (0.27–0.78) $\delta^{15}\text{N}$: 0.52 (0.23–0.80)
10:2 FTSA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.721); $\delta^{15}\text{N}$ (0.566); $\delta^{13}\text{C}$ (0.734) / Site (<0.0001); Sexe (0.854)	
	Site	Site (<0.0001)	
FOSA	Longueur, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ / Site, Sexe	Longueur (0.356); $\delta^{15}\text{N}$ (0.432); $\delta^{13}\text{C}$ (0.483) / Site (<0.0001); Sexe (0.956)	
	Site	Site (<0.0001)	

Pour tous les composés testés, les modèles de régression se sont avérés significatifs lorsque toutes les variables explicatives étaient incluses. Le R² était compris entre 0,47 et 0,54 et le site d'échantillonnage étant hautement significatif pour tous les composés. Lorsque ce dernier n'est pas pris en compte, les modèles de régression ne sont significatifs que pour le PFDoDA, le PFTrDA, le PFTeDA et le PFOS (R² = 0,11, 0,18, 0,23, 0,30 et 0,25 respectivement).

Le transfert maternel est probablement une voie d'élimination importante des PFAS chez les poissons (cf. exemple de l'esturgeon chinois ; Peng et al., 2010), ce qui pourrait induire des niveaux et des patrons d'accumulation spécifiques au sexe ; par ailleurs, l'expression de certaines protéines contrôlant le transport actif des PFAS peut être différente entre mâles et femelles (De Witt et al, 2015). Ici, cependant, le sexe n'était pas une variable significative, indiquant ainsi que la bioaccumulation des PFAS chez le chevine européen était indépendante du sexe pour les stades de vie considérés dans notre étude (principalement des individus

immatures) comme cela a été observé ailleurs (Gewurtz et al., 2012 ; Pan et al., 2014 ; Arinaitwe et al., 2020 ; Schultes et al., 2020).

La longueur du poisson était un facteur de contrôle de la bioaccumulation des PFAS significatif chez un autre cyprinidé, le barbeau *Barbus barbus* (Babut et al., 2017), ou chez la sole commune *Solea solea* (Munoz et al., 2017a) : des niveaux plus élevés ont été trouvés chez les petits individus en raison de taux d'élimination plus faibles et de la dilution par la croissance. Or, dans cette étude, le facteur « longueur » n'était significatif pour aucun composé. Une explication plausible pourrait provenir de l'absence de très jeunes juvéniles dans notre jeu d'échantillon (aucun individu de moins de 17 cm).

Pour le FOSA et le 10:2 FTSA, le site d'échantillonnage était la seule variable significative, les différences interindividuelles étant ainsi principalement liées à la contamination du site. Inversement, la bioaccumulation du PFDA dépend également du $\delta^{13}\text{C}$ alors que la bioaccumulation du PFUnDA, PFDoDA, PFTrDA, PFTeDA et PFOS est significativement liée au $\delta^{13}\text{C}$ et au $\delta^{15}\text{N}$. L'influence du $\delta^{15}\text{N}$ est cohérente avec la bioamplification de ces composés chez les poissons, comme observé dans divers environnements aquatiques (Simonnet-Laprade et al., 2019 ; Penland et al., 2020 ; Pan et al., 2021). En accord avec Babut et al. (2017), nous montrons ainsi ici que le régime alimentaire est un facteur de contrôle majeur de la bioaccumulation des PFAS chez une espèce de poisson dulçaquicole omnivore. En outre, la transformation des données a permis de classer les coefficients des modèles afin de déterminer leur poids relatif. Nous avons constaté que les intervalles de confiance à 95 % des coefficients des régressions se chevauchaient pour $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$. Ainsi, nos résultats indiquent que les deux facteurs présentaient des poids similaires et que l'utilisation des sources de carbone est aussi importante que la position trophique pour expliquer la variabilité intra-spécifique de la bioaccumulation des PFAS chez le cheveine européen. Des valeurs de $\delta^{13}\text{C}$ plus négatives sont liées à une importance accrue de l'origine détritrique de la matière organique, donc une source de carbone plutôt liée aux sédiments (Finlay, 2001). Or, des coefficients positifs ont été déterminés pour la variable $\delta^{13}\text{C}$ (Tableau 4) : les niveaux de PFAS ont ainsi tendance à augmenter avec $\delta^{13}\text{C}$, suggérant que les chevaines se nourrissant plus sur des sources de carbone autochtones telles que le biofilm ou d'invertébrés s'alimentant sur le biofilm sont plus contaminés. Cette hypothèse serait cohérente avec l'importante accumulation de PFAS dans le périphyton, précédemment observée dans la Seine (Munoz et al., 2018).

Ainsi, outre le site d'échantillonnage, les habitudes alimentaires semblent être un paramètre majeur contrôlant les niveaux de PFAS chez une espèce sentinelle telle le cheveine, dans un cours d'eau sous influence urbaine dans lequel les niveaux de PFAS dissous varient rapidement en fonction des conditions hydrologiques (Munoz et al., 2018). L'influence relative de chaque paramètre méritera d'être étudiée sur différentes populations de chevaines et complétée par la prise en compte d'autres variables pertinentes telles que l'exposition par la respiration ou la teneur en phospholipides (Armitage et al., 2013).

Conclusion

Ces travaux ont étudié la présence d'une liste étendue de PFAS dans les sédiments et les poissons dans la Seine, le long d'un transect longitudinal à l'aval de Paris et en considérant une référence relative amont sur la Marne. Les résultats obtenus confirment le fait que le Grand Paris a une forte influence sur les apports de PFAS dans la Seine. Nous montrons ici la présence de PFAS d'intérêt émergent tels que les FTABs, FTSA ou 5:3 FTCA dans les sédiments et, dans une moindre mesure (moins fréquemment), chez les chevaines. L'omniprésence du 10:2 FTSA chez ces derniers confirment les résultats originaux obtenus précédemment dans le bassin de l'Orge. Ces résultats soulignent la nécessité de disposer de méthodes d'analyse appropriées portant sur des listes étendues de composés ciblés afin de mieux documenter la présence des PFAS et leur dynamique dans les hydrosystèmes.

Les niveaux de PFAS dans les poissons dépendent du site d'échantillonnage, mais leur écologie trophique explique de manière significative une partie des variations interindividuelles observées ; niveau trophique et utilisation de sources de carbone semblant avoir un poids similaire dans les conditions de l'étude. Cependant, ces facteurs ne sont pas suffisants pour expliquer complètement la variabilité des niveaux de PFAS chez les chevaines. Afin d'approfondir l'étude de cette variabilité, les travaux futurs pourraient prendre en considération l'exposition via la respiration (en s'intéressant en parallèle aux niveaux de PFAS dissous et à leur variations spatio-temporelles) et la métabolisation de précurseurs fluoroalkylés réactifs. La normalisation des teneurs en PFAS par rapport aux teneurs en phospholipides ou en certaines protéines (protéines de transport des acides gras ou albumine) mériterait également d'être explorée. Par ailleurs, une approche de modélisation basée sur l'estimation des activités pourrait fournir une approche prédictive de la

contamination d'organismes sentinelles tels que le chevaine, à large échelle spatiale, sur la base de niveaux observés dans les compartiments abiotiques (i.e. eau et sédiment) (Gobas, 2020).

Des travaux en cours permettront de développer une approche expérimentale similaire pour d'autres composés réglementés dans le cadre de la Convention de Stockholm sur les Polluants Organiques Persistants : les chloroalcanes à chaîne courte (SCCP) et leur substituts (chloroalcanes à chaîne moyenne, MCCP). Les résultats, en cours d'acquisition, seront présentés en 2022. De même, les résultats prochainement obtenus sur un autre modèle biologique, la moule zébrée *Dreissena polymorpha*, seront également présentés en 2022 et mis en perspective par rapport aux teneurs observées dans les matières en suspension (échantillonnage intégratif) et aux résultats obtenus sur les chevaines. Cette approche permettra une étude comparative de la spatialisation de la contamination et permettra de discuter de la pertinence de l'utilisation de ces modèles dans les stratégies de surveillance.

Bibliographie

Arinaitwe, K., Koch, A., Taabu-Munyaho, A., Marien, K., Reemtsma, T., Berger, U., 2020. Spatial profiles of perfluoroalkyl substances and mercury in fish from northern Lake Victoria, East Africa. *Chemosphere* 260, 127536.

Armitage, J. M.; Arnot, J. A.; Wania, F.; Mackay, D. Development and Evaluation of a Mechanistic Bioconcentration Model for Ionogenic Organic Chemicals in Fish. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2013, 32 (1).

Babut, M.; Labadie, P.; Simonnet-Laprade, C.; Munoz, G.; Roger, M.-C.; Ferrari, B. J. D.; Budzinski, H.; Sivade, E. Per- and Poly-Fluoroalkyl Compounds in Freshwater Fish from the Rhône River: Influence of Fish Size, Diet, Prey Contamination and Biotransformation. *Science of the Total Environment* 2017, 605–606, 38–47.

Biaudet – Mise en place de la surveillance biote dans les milieux aquatiques : Propositions de limites de quantification – Rapport AQUAREF 2018 - 47 p.

Buck, R. C.; Franklin, J.; Berger, U.; Conder, J. M.; Cousins, I. T.; de Voogt, P.; Jensen, A. A.; Kannan, K.; Mabury, S. A.; van Leeuwen, S. P. J. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances in the Environment: Terminology, Classification, and Origins. *Integrated Environmental Assessment and Management* 2011, 7 (4), 513–541.

DeWitt, J. C. *Toxicological Effects of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances*; Springer, 2015.

ECHA, The Use of PFAS and Fluorine-Free Alternatives in Fire-Fighting Foams, 2020. <https://echa.europa.eu/fr/fluorine-free-foams>

Finlay, J.C., 2001. Stable-Carbon-Isotope Ratios of River Biota: implications for Energy Flow in Lotic Food Webs. *Ecology* 82, 1052–1064.

Gewurtz, S.B., De Silva, A.O., Backus, S.M., McGoldrick, D.J., Keir, M.J., Small, J., Melymuk, L., Muir, D.C.G., 2012. Perfluoroalkyl Contaminants in Lake Ontario Lake Trout: Detailed Examination of Current Status and Long-Term Trends. *Environ. Sci. Technol.* 46, 5842–5850. <https://doi.org/10.1021/es3006095>

Gobas, F. A. A Framework for Assessing Bioaccumulation and Exposure Risks of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Threatened and Endangered Species on Aqueous Film Forming Foam (AFFF)–Impacted Sites. Strategic Environmental Research and Development Program, Alexandria, VA, USA.

Goutte, A.; Alliot, F.; Budzinski, H.; Simonnet-Laprade, C.; Santos, R.; Lachaux, V.; Maciejewski, K.; Le Menach, K.; Labadie, P. Trophic Transfer of Micropollutants and Their Metabolites in an Urban Riverine Food Web. *Environ. Sci. Technol.* 2020, 54 (13), 8043–8050. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c01411>.

Hette-Tronquart. Organisation trophique des peuplements piscicoles des cours d'eau, approche par l'analyse

des isotopes stables. (2012) Thèse de doctorat. <https://hal.archives-ouvertes.fr/tel-02598296>

Houde, M.; De Silva, A. O.; Muir, D. C. G.; Letcher, R. J. Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environmental Science & Technology* 2011, 45 (19), 7962–7973. <https://doi.org/10.1021/es104326w>.

Labadie, P.; Chevreuil, M. Partitioning Behaviour of Perfluorinated Alkyl Contaminants between Water, Sediment and Fish in the Orge River (Nearby Paris, France). *Environmental Pollution* 2011, 159 (2), 391–397. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.10.039>.

Labadie P., Simonnet-Laprade C., Maciejewski K., Lachaux V., Molbert N., Le Menach K., Budzinski H., Alliot F., Chevreuil M., Azimi S., Guérin S., Rocher V., Santos R., Goutte A., Transfert trophique de micropolluants organiques dans des cours d'eau urbains dans Devenir des contaminants : piégeage, transformation, bioaccumulation et effets écotoxicologiques, Gelabert & Goutte (eds.), Rapports de synthèse de la phase VII du PIREN-Seine, Volume 6, 2019.

Munoz, G.; Giraudel, J.-L.; Botta, F.; Lestremau, F.; Dévier, M.-H.; Budzinski, H.; Labadie, P. Spatial Distribution and Partitioning Behavior of Selected Poly- and Perfluoroalkyl Substances in Freshwater Ecosystems: A French Nationwide Survey. *Science of the Total Environment* 2015, 517, 48–56.

Munoz, G.; Duy, S. V.; Labadie, P.; Botta, F.; Budzinski, H.; Lestremau, F.; Liu, J.; Sauvé, S. Analysis of Zwitterionic, Cationic, and Anionic Poly- And Perfluoroalkyl Surfactants in Sediments by Liquid Chromatography Polarity-Switching Electrospray Ionization Coupled to High Resolution Mass Spectrometry. *Talanta* 2016, 152, 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.02.021>.

Munoz, G.; Fechner, L. C.; Geneste, E.; Pardon, P.; Budzinski, H.; Labadie, P. Spatio-Temporal Dynamics of per and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) and Transfer to Periphytic Biofilm in an Urban River: Case-Study on the River Seine. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2018, 25 (24), 23574–23582.

Pan, C.-G., Zhao, J.-L., Liu, Y.-S., Zhang, Q.-Q., Chen, Z.-F., Lai, H.-J., Peng, F.-J., Liu, S.-S., Ying, G.-G., 2014. Bioaccumulation and risk assessment of per- and polyfluoroalkyl substances in wild freshwater fish from rivers in the Pearl River Delta region, South China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 107, 192–199

Schultes, L., Sandblom, O., Broeg, K., Bignert, A., Benskin, J.P., 2020. Temporal Trends (1981–2013) of Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Total Fluorine in Baltic cod (*Gadus morhua*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 39, 300–309

Simonnet-Laprade, C.; Budzinski, H.; Maciejewski, K.; Le Menach, K.; Santos, R.; Alliot, F.; Goutte, A.; Labadie, P. Biomagnification of Perfluoroalkyl Acids (PFAAs) in the Food Web of an Urban River: Assessment of the Trophic Transfer of Targeted and Unknown Precursors and Implications. *Environ Sci Process Impacts* 2019, 21 (11), 1864–1874.

Tilghman, A., Garric, J., Coquery, M. (2009). La mesure des contaminants dans le biote : avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental. Cemagref, 49 p.