

TITRE : Effet cocktail, influence de mélange de polluants organiques persistants et de leurs métabolites sur l'écotoxicologie. (ACRONYME : POPMETABOTOX).

INSCRIT DANS L'AXE THEMATIQUE 3 : Eco-dynamique et toxicologie environnementale

PARTICIPANTS

| | |
|------------------------|--|
| LCE – UMR 7376 | Laure MALLERET* (MC), Pascal WONG-WAH-CHUNG (Pr), Fanny DESBIOLLES (Doctorante) |
| IMBE- UMR 7263 IRD 237 | Isabelle LAFFONT-SCHWOB* (MC), Carole DI GIORGIO (MC), Laetitia DE JONG (MC), Xavier MOREAU (MC), Marie- Dominique SALDUCCI (Tech) |

*Porteur par équipe

PRINCIPAUX RESULTATS

Aujourd'hui, les normes de qualité s'appuient sur des seuils de toxicité établis pour chaque substance prise individuellement et ne tiennent pas compte ni de potentiels **effets additifs ni de potentiels effets synergiques ou antagonistes entre polluants** en mélange. De plus, ces seuils ne sont que très rarement déterminés pour les produits de dégradation de polluants générés après émission dans l'environnement, alors que l'on sait pertinemment que **certains métabolites** (biotiques ou abiotiques) sont **plus toxiques** que leurs composés parents. Enfin, les tests écotoxicologiques courants ciblent l'évaluation d'une toxicité surtout aiguë, alors que dans le milieu environnemental naturel le vivant est plutôt soumis à des flux de polluants persistants ou pseudo-persistants, rejetés vers le milieu à faible dose mais en continu, induisant davantage une **toxicité chronique**.

En réponse à cette problématique nous avons évalué l'apport de deux espèces biologiques représentatives d'eau douce adaptées au suivi à long terme en raison de leur capacité de reproduction rapide : la **macrophyte Lemna minor L.** et le **Métazoaire Hydra attenuata Pall.** Les effets sur ces modèles d'un antiépileptique communément utilisé : la carbamazépine, et de deux de ses produits de dégradation, ont été évalués pour les composés pris séparément et en mélange à des concentrations élevées d'une part (proche de l'EC50, dizaines de mg/L), et à des teneurs équivalentes à celles retrouvées dans l'environnement d'autre part (centaines de ng/L). La plupart des effets pris en compte ont été mesurés par des **méthodes non destructives** permettant un suivi sur de longues périodes, afin d'évaluer les effets délétères de l'exposition à long terme, qui ne pourraient pas être détectés par les bioessais classiques.

Pour *L. minor*, qui est une espèce déjà employée dans un test normalisé, la nouveauté de l'approche a consisté à faire un suivi non destructif (mesures par le fluorimètre multiplex FORCE-A®) de phytométabolites primaires et secondaires, comme indicateurs des variations précoces de l'état physiologique de l'espèce végétale. Les résultats montrent une modification du bilan azote / carbone en présence de carbamazépine et d'un de ses métabolites et un stress métabolique lié au second métabolite, après deux semaines d'exposition. Toutefois, des effets n'ont pu être constatés qu'à des niveaux plutôt élevés comparativement aux concentrations environnementales. Pour *H. attenuata*, l'intérêt du test proposé était de sélectionner des réponses à différents niveaux d'organisation biologique: (1) taux de reproduction de la population, (2) étapes morphologiques montrant l'intoxication, (3) état d'équilibre oxydatif, en utilisant des mesures de lipides ; la peroxydation et la capacité antioxydante totale reflétant l'efficacité des mécanismes de défense et (4) distribution d'un neurotransmetteur impliqué dans le comportement alimentaire, la sérotonine. Sur deux semaines d'exposition de *H. attenuata*, les résultats montrent un **effet potentialisateur des molécules en**

mélange à faible dose et une mise en place rapide de mécanismes de défense efficaces indépendamment des systèmes antioxydants. Les effets biologiques n'ont pas pu être classés en utilisant une échelle de toxicité classique, car moins de 20% de la population exposée présente des signes de toxicité. Cependant, la diminution significative des taux de reproduction suggère un effet préoccupant à long terme sur la condition physique de la population. Enfin, l'exposition de 21 jours à l'antiépileptique et ses métabolites seuls ou en mélange et à faible dose est associée à une diminution de la présence de la 5-HT au niveau de l'hypostome et de la cavité gastrique des hydres.

D'autre part, les **effets génotoxiques et clastogéniques** d'un mélange de pesticides comprenant le glyphosate et l'atrazine, ainsi que leurs métabolites, l'acide aminométhylphosphorique (AMPA) et la déséthyl-atrazine (DEA), ont été évalués chez la souris. Le test des micronoyaux sur les réticulocytes et le test des comètes sur le foie, les reins, le poumon et le cerveau ont été effectués avec le mélange et comparés aux résultats obtenus avec les composés pris séparément. On constate une absence d'effet en présence des composés pris individuellement à 1 mg.kg⁻¹. A l'inverse, pour cette même dose globale, le mélange de pesticides a produit une augmentation significative des mutations chromosomiques et un fort accroissement des ruptures de brin d'ADN.

L'ensemble des résultats obtenus lors de ce projet soulignent les limites des stratégies toxicologiques classiques basées sur le test de molécules prises individuellement et démontrent les effets qui peuvent être induits par les cocktails de polluants. Le développement **d'outils écotoxicologiques** sensibles, tels que ceux envisagés dans ce projet, doit être encouragé, afin d'évaluer correctement les effets biologiques complexes liée à **l'exposition chronique aux polluants, présents en mélanges et à faibles concentrations dans les masses d'eau**.

PUBLICATION

A. Roustan, F. Desbiolles, L. Malleret, P. Wong-Wah-Chung, I. Laffont-Schwob, C. Laurant, C. Di Giorgio. Genotoxic synergy of glyphosate, atrazine and their environmental metabolites in mice. Soumis à Food and Chemical Toxicology.

CONGRES

- DESBIOLLES Fanny, De JONG Laetitia, MOREAU Xavier, LAFFONT-SCHWOB Isabelle, MALLERET Laure, WONG-WAH-CHUNG Pascal. Non-destructive biological and chemical traits to track down long term effects of environmentally relevant low concentrations of pharmaceutical mixtures using two freshwater species. Poster, SETAC Europe 26th Annual Meeting, 22-26 May 2016, Nantes.
- Marie-Éléonore Petit and Fanny Desbiolles, Véronique Masotti, Laetitia De Jong, Xavier Moreau, Marie-Dominique Salducci, Laurent Vassalo, Laure Malleret, Pascal Wong-Wah-Chung, Isabelle Laffont-Schwob. Ecological strategies for water resource management: from water quality status assessment to water remediation engineering. Poster, SFEcologie 2016, 24-27 October 2016, Marseille.
- DESBIOLLES Fanny, De JONG Laetitia, MOREAU Xavier, LAFFONT-SCHWOB Isabelle, MALLERET Laure, WONG-WAH-CHUNG Pascal. Innovative bioassays to assess chronic exposure to pharmaceuticals and metabolites at environmental concentrations. Soumis pour PharmWat 2017, 4-7 September 2017, Praha.

SUITE DONNEE AU PROJET

Les essais réalisés lors de ce projet sur lentilles et hydres vont être poursuivis dans le cadre de la thèse de Fanny Desbiolles. Une première tentative de dépôt de projet CNRS PEPs FaiDoRa a été faite en 2016, mais non retenue. Forts des résultats acquis cette année et en fonction des appels d'offre à venir, nous allons monter un autre projet en commun sur le même type d'appel d'offre (EC2CO par exemple).