

Vers de nouvelles stratégies de surveillance ?

La contribution d'Aquaref

Valeria Dulio¹, Cécile Miège², Christelle Margoum², Anne Togola³, François Lestremau¹, Christian Chauvin², Bruno Andral⁵, Selim Aït-Aïssa¹, François Brion¹, Nathalie Guigues⁴, Sophie-Lardy-Fontan⁴, Christine Feray

¹INERIS, ²IRSTEA, ³BRGM, ⁴LNE, ⁵IFREMER

Sources de pollution chimique



Milieu aquatique



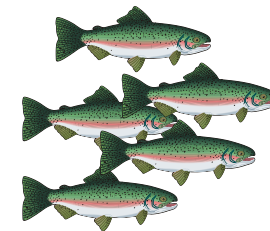
Eau
 Matières en suspension
 Sédiments
 (Bio)Transformation

Individu



Réponses biologiques (sub)individuelles
 Altérations secondaires
 Croissance, Reproduction, Développement, Pathologies...

Populations Communautés

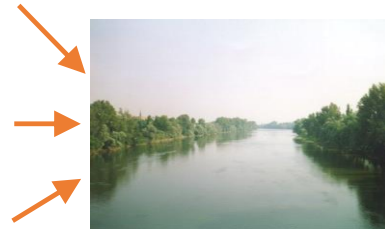


Modifications de l'abondance des espèces, structures et composition des communautés

Sources de pollution chimique



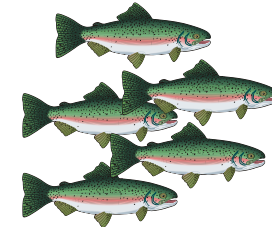
Milieu aquatique



Individu



Populations Communautés



Etat chimique

Mesures ponctuelles d'un nombre limité de substances
 Manque de représentativité, et de sensibilité des méthodes pour certains paramètres
 Pas d'effets mélange

Sources de pollution chimique



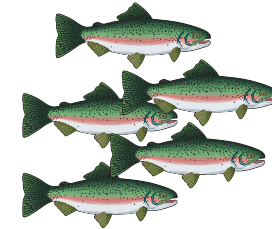
Milieu aquatique



Individu



Populations Communautés



Les indicateurs utilisés dans la DCE ne sont pas adaptés pour fournir des signaux d' « alerte » précoces

Sources de pollution



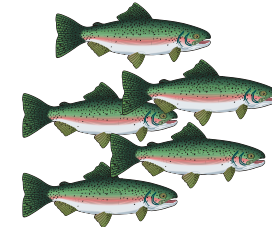
Milieu aquatique



Individu



Populations Communautés



Des effets encore mal connus et le lien entre pressions chimiques et effets observés est encore mal appréhendé

Sources de pollution



Milieu aquatique



Individu



Populations Communautés

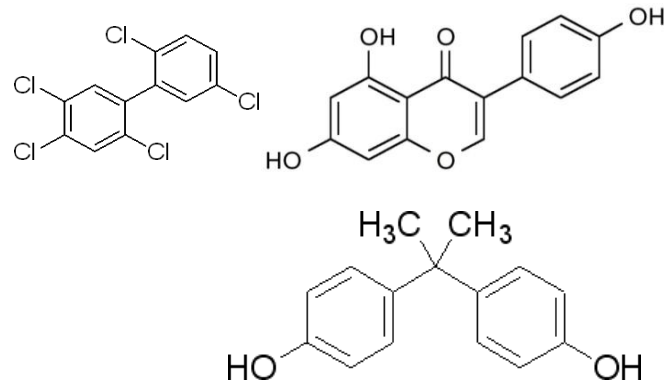


Etat écologique

Indicateurs biologiques, intégrateurs des pressions subies par le milieu, ne permettent pas d'expliquer les causes chimiques toxiques responsables des effets / évolutions observés

■ Pistes d'amélioration:

- Améliorer la **représentativité des résultats** des mesures pour mieux décrire le niveau de contamination des milieux
- Améliorer la **pertinence des substances réglementées** grâce à des techniques d'analyse plus performantes et plus intégratrices
- **Anticiper les facteurs de risque** grâce à l'application d'outils capables d'établir les liens entre pressions et effets observés
- Mettre en œuvre les **nouveaux outils de manière intégrée**

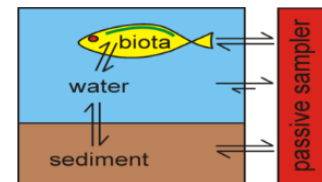


- Aspect intégratif pour la surveillance des eaux
 - Concentration moyenne pendant la durée d'exposition
 - Plus représentatif dans le temps

- Avantages par rapport à échantillons d'eaux :
 - Amélioration des limites de détection / quantification
 - Transport et conservation facilités (cas des DOM)
 - Stockage long terme (banques d'échantillons) plus facile (étude rétrospective sur les tendances)

- Peut servir de support alternatif pour la surveillance Biote (approche graduée)
 - Pour les sites où le biote n'est pas disponible
 - Pour les substances métabolisables
 - Amélioration de la comparabilité des données (= support universel)

- Peut être couplé à des analyses biologiques (bioessais in vitro) ou du screening chimique (analyses suspectées ou non ciblées)



Apports d'AQUAREF :

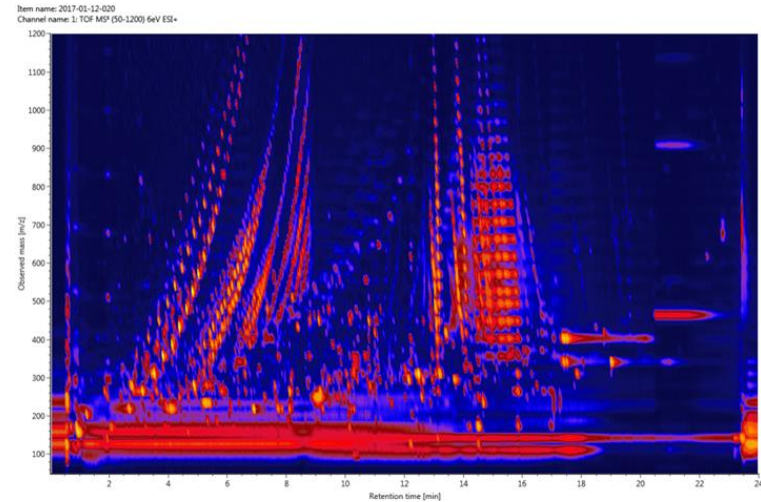
- **Recherche** sur les nouveaux outils d'échantillonnage intégratifs pour les substances orphelines (e.g. glyphosate et substances ionisées, ...) ou à plus large spectre
 - DGTorga, tiges silicone, POCIS MIP,
 - Lien avec le réseau Norman (colloque 2015 à Lyon + note de position, TrEAC 2015)

- **Démonstration** in situ (DCE compatible) -> Quel EIP pour quel objectif ?
 - EIL 2009 (HAP, pesticides, métaux)
 - Réseau de surveillance prospective -> des EIP pour les substances avec NQEeau et NQEbiote (approche graduée)

- **Transfert** vers les acteurs opérationnels
 - Formations pilotes
 - Mise en place Assurance qualité / contrôle qualité
 - Bancarisation des données EIP et métadonnées associées

Meilleure pertinence (et exhaustivité) des molécules surveillées: la chimie ciblée est-elle suffisante?

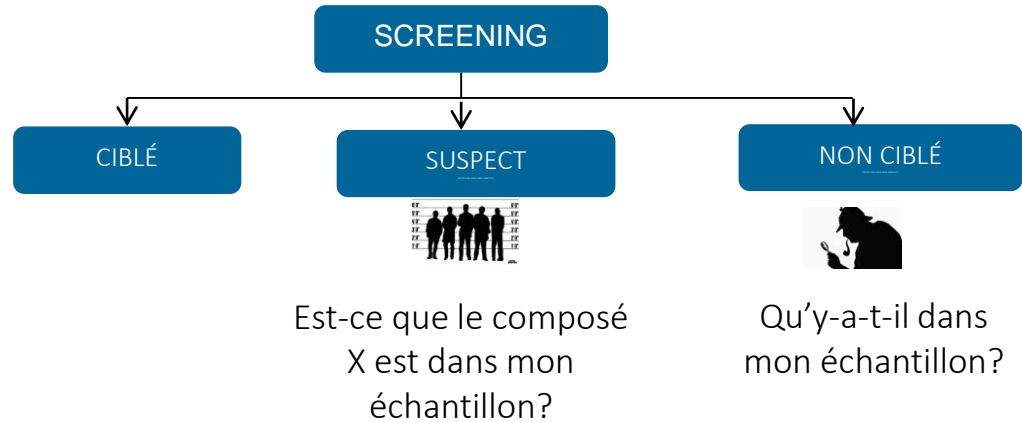
- La complexité de notre environnement est un facteur crucial qu'il faut prendre en compte
- Un choix prédéfini des substances à rechercher peut amener à passer à coté de substances d'intérêt
 - Travaux AQUAREF sur les métabolites pertinents et produits de transformation
 - Appui technique au CEP pour la priorisation des substances pertinentes à surveiller



- Nouvelles perspectives avec les techniques spectrométrie de masse haute résolution:
 - Acquisition de l'intégralité de l'information présente dans l'extrait ou dans l'échantillon
 - Sensibilité instrumentale compatible avec les niveaux de contamination environnementale

Des nouvelles perspectives avec les techniques d'analyse non-ciblée (HRMS)

- Différentes stratégies possibles pour l'identification des substances:
 - criblage en mode « suspect »
 - criblage en mode « non ciblé »
- Valeur ajoutée du criblage non-ciblé:
 - Il est possible de rechercher des substances (initialement non recherchées) de manière rétrospective: des nouvelles perspectives s'ouvrent pour la priorisation des substances
 - Comparaison empreintes chimiques vs empreintes toxicologiques (effets observés / outils biologiques)



Notes de Position (2015): UTILISATION DE LA SPECTROMETRIE DE MASSE HAUTE RESOLUTION POUR LE CRIBLAGE ENVIRONNEMENTAL

■ Actions à court terme

- **Exercice de démonstration (RSP-action DEMO) et d'acquisition des données brutes sur tous les échantillons de l'étude prospective 2018** (RSP action NTS-EMNAT) afin de permettre une analyse rétrospective sur les échantillons collectés
- **Priorisation des substances:** à partir d'information qualitatives et semi-quantitatives dans les spectres on pourra sélectionner les substances plus fréquemment détectées (pré-priorisation)

■ Actions à moyen-terme pour pérenniser et maximiser l'exploitation des données

- Travaux en cours au niveau du réseau NORMAN – **Digital Sample Freezing Platform (DSFP) – échantillothèque digitale** de spectres de masse échantillons géo-référenciés
- **Travaux d'AQUAREF pour préparer la bancarisation, le partage et l'exploitation des données issues d'analyse HRMS au niveau national et international**

■ Actions à court terme

- **Exercice de démonstration (RSP-action DEMO) et d'acquisition des données brutes sur tous les échantillons de l'étude prospective 2018** (RSP action NTS-EMNAT) afin de permettre une analyse rétrospective sur les échantillons collectés
- **Priorisation des substances:** à partir d'information qualitatives et semi-quantitatives dans les spectres on pourra sélectionner les substances plus fréquemment détectées (pré-priorisation)
- **Actions à moyen-terme** pour pérenniser et maximiser l'exploitation des données
 - Travaux en cours au niveau du réseau NORMAN – **Digital Sample Freezing Platform (DSFP) – échantillothèque digitale** de spectres de masse échantillons géo-référenciés
 - **Travaux d'AQUAREF pour préparer la bancarisation, le partage et l'exploitation des données issues d'analyse HRMS au niveau national et international**

■ Quels besoins méthodologiques?

- Amélioration des techniques d'exploitation des données
- Définition des critères pour l'identification des composés (indices de confiance)
- Protocoles harmonisés pour l'exploitation des données qualitatives et (semi)-quantitatives à partir des spectres HRMS
- **Un EIL au sein d'un groupe national d'utilisateurs de la recherche**

■ Actions à court terme

- **Exercice de démonstration (RSP-action DEMO) et d'acquisition des données brutes sur tous les échantillons de l'étude prospective 2018** (RSP action NTS-EMNAT) afin de permettre une analyse rétrospective sur les échantillons collectés
- **Priorisation des substances:** à partir d'information qualitatives et semi-quantitatives dans les spectres on pourra sélectionner les substances plus fréquemment détectées (pré-priorisation)

■ Actions à moyen-terme pour pérenniser et maximiser l'exploitation des données

- Travaux en cours au niveau du réseau NORMAN – Digital Spectroscopy Reference



Collaboration avec le réseau européen NORMAN

<http://www.norman-network.net>

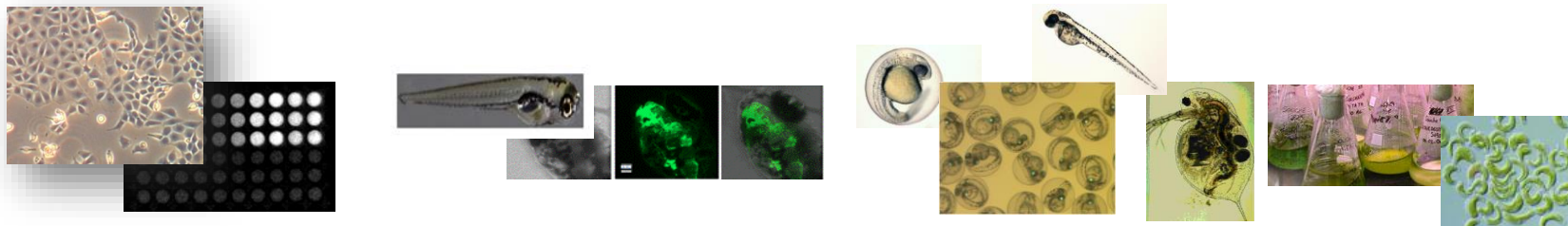
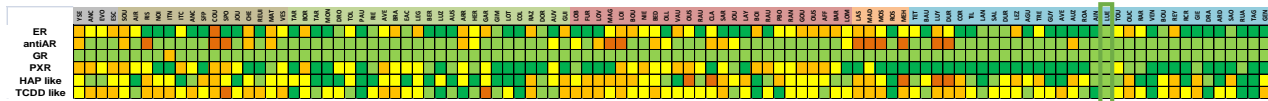
des données
niveau national et international

■ Quels besoins méthodologiques?

- Amélioration des techniques d'exploitation des données
- Définition des critères pour l'identification des composés (indices de confiance)
- Protocoles harmonisés pour l'exploitation des données qualitatives et (semi)-quantitatives à partir des spectres HRMS
- **Un EIL au sein d'un groupe national d'utilisateurs de la recherche**

Bioessais :

- Méthodes intégratives
- Prise en compte des substances connues et inconnues et de leurs interactions potentielles (effets de mélange)
- Outils de criblage (dépistage) pour l'aide à la priorisation des sites
- Signaux d'alerte précoces
- Identification de familles de substances responsables des effets observés dans le milieu
- Support à l'évaluation de l'état / qualité des eaux et sédiments: lien entre état chimique et état écologique



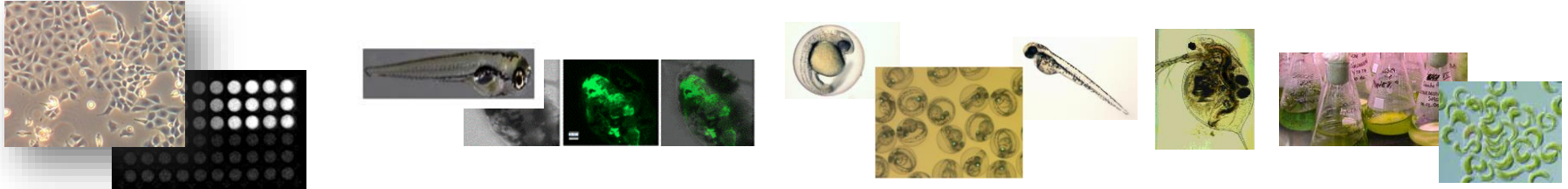
■ Apports d'AQUAREF:

■ Opérationnalité

- Application dans les **études prospectives nationales**: Campex2012 (eaux de surface + sédiments), RPS5 (eaux de surface) en couplage avec EIP et analyse chimique

■ Harmonisation et inter-comparaison des méthodes

- **GT national Bioessais** (en lien avec sous-groupe EBM du WG Chemicals, DG-ENV): inventaire des outils, critères d'évaluation des performances, sélection des bioessais pour application réglementaire
- Définition de **valeurs seuils** pour l'interprétation des données (activité PE dans un premier temps)
- Projet européen SPI « Estrogen monitoring » sur la caractérisation de l'activité œstrogénique dans les eaux de surface et rejets: **démonstration du lien surveillance chimique-surveillance biologique**



- Développer les techniques d'exposition in-situ – *Caging*
 Cours d'eau, plans d'eau

Gammares

Technique effective, à développer

Diatomées

A explorer et développer

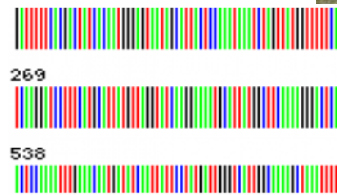
Intérêt : contexte multi-pressions réel



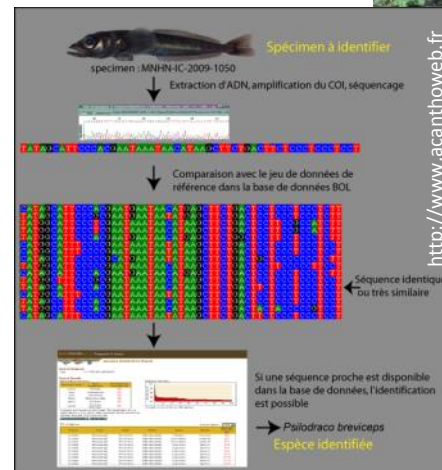
- ADN environnemental
 - ADN pouvant être extrait à partir d'échantillons environnementaux
 - Permet de détecter la présence d'espèces (espèces rares, invasives) / biodiversité
 - A explorer comme technique pour la surveillance DCE

- ADN Barcoding
 - Technique de taxonomie moléculaire permettant la caractérisation génétique d'un individu à partir de son génome
 - Amélioration du rapport coût/information pour les méthodes biocénotiques
 - Nouvelles perspectives à développer

Nouveaux sujets pour les équipes Aquaref ?



www.gt-ibma.eu



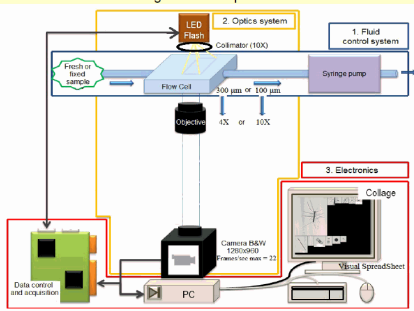
FlowCAM/PhytoImage : Optimisation de l'identification et du dénombrement du micro-phytoplancton avec un système couplé de numérisation et d'analyse d'images

- FlowCAM : Flow Cytometer and CAMera : appareil d'acquisition et de numérisation des images
- ZooPhytoImage : Module de traitement d'images et Module de reconnaissance automatique des particules et de classification

FlowCAM® (Flow Cytometry and CAMera)

Benchtop B2 Series FlowCAM® (Fluid Imaging Technologies)

- Pompe seringue externe C71
- Caméra N&B haute résolution :
 - Résolution : 1280x960
 - Nb images maximal par seconde = 22 fr/sec



Benchtop B2 Series FlowCAM

ZooPhytoImage

<http://www.sciviews.org/zooimage>

Logiciel développé par l'UMONS

- « Boîte à outils » sous une interface graphique (développé en R)
- Traitement d'images d'origine variée et avec des caractéristiques différentes



Images processing and thumbnails generation

Training set, recognition tool and performances

Spatial and temporal analysis of series

Évolution de l'interface utilisateur

Traitement d'images

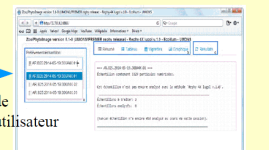
- Méthodes de segmentation et de détection de contours
- Génération de vignettes (une image par particule)
- paramètres caractéristiques des particules (taille, forme, niveaux de gris,...)

Set d'apprentissage et outil de reconnaissance

- Classification supervisée basée sur un set d'apprentissage
- Algorithme Random Forest
- Module de correction d'erreur et de dénombrement des colonies

Analyse de nouveaux échantillons

- Abondances, biomasse, spectres de taille



- Stockage des données → vérification ou nouvelles analyses
- Réduction de la pénibilité et de l'erreur « observateur »
- Temps d'analyse réduit → multiplication des analyses → suivi à haute résolution

■ Les capteurs : lesquels et pour quelles applications ?

Mode de fonctionnement des capteurs

Haute fréquence
/ continu

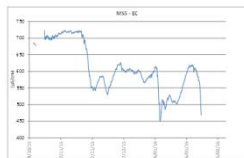


Instantané /
portable



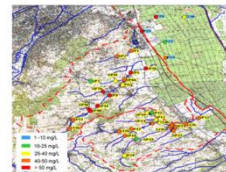
Exemples pour la mesure en continu :

- ◆ Alerte de dépassement de seuils
- ◆ Alerte en cas de pollution accidentelle
- ◆ Evaluation de l'impact d'ouvrage ou de conditions environnementales (temps de pluie)



Exemples pour la mesure instantanée :

- ◆ Identification de sources de contamination
- ◆ Cartographie d'une zone géographique
- ◆ Optimisation / représentativité de la station de mesure



■ Les travaux Aquaref

Connaissance

Inventaire des capteurs et kits commercialement disponibles (2012, 2016, 2017)

Synthèses bibliographiques sur les nouveaux capteurs en développement (2008 – 2016)

Caractérisation des matières organiques par les sondes spectrophotométriques UV-Vis (2016-2018)

Choix de capteurs

Note sur le choix d'un capteurs (2013)

Evaluation des performances

Synthèse des protocoles existants (2013)

Essais de performances (2013-2015)

Eaux superficielles

Eaux marines

Tests de nouveaux capteurs (à venir)

Mise en œuvre opérationnelle

Guide de bonnes pratiques pour l'installation et la mise en œuvre de dispositifs de mesure en continu (2017)

- Des nouvelles techniques qui progressent très rapidement et qui pourront **révolutionner la future surveillance** et l'étude de la biodiversité
 - **Compréhension des liens** entre la présence des substances chimiques dans l'environnement et les effets observés
 - Montée en puissance des **outils biologiques: signaux d'alerte** pour prévenir les effets néfastes sur les populations
- AQUAREF doit **rester acteur de la recherche**
 - Pour être force de proposition au niveau national et européen dans les nouvelles stratégies de surveillance
 - Pour garantir la qualité de la donnée et assurer le transfert vers l'opérationnel
- **Collaboration au niveau international** (réseau NORMAN) et avec le monde académique : est indispensable pour avancer de manière efficace

Merci de votre attention !

et merci à tous les collègues AQUAREF

