



HAL
open science

Modélisation biodynamique de l'accumulation de substances persistantes par des invertébrés benthiques d'eau douce

Marc Babut, A. Ratier, N. Delorme, C. Lopes, Paul Labadie, H. Budzinski

► **To cite this version:**

Marc Babut, A. Ratier, N. Delorme, C. Lopes, Paul Labadie, et al.. Modélisation biodynamique de l'accumulation de substances persistantes par des invertébrés benthiques d'eau douce. [Rapport de recherche] irstea. 2019, pp.70. hal-02609182

HAL Id: hal-02609182

<https://hal.inrae.fr/hal-02609182v1>

Submitted on 16 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**AGENCE FRANÇAISE
POUR LA BIODIVERSITÉ**

Établissement public du ministère de l'Environnement

Programme 2016/2018 – Thème : Risques liés à la contamination chimique des milieux aquatiques - Action n° 47



Modélisation biodynamique de l'accumulation de substances persistantes par des invertébrés benthiques d'eau douce

Rapport final

Marc BABUT, Aude RATIER, Nicolas DELORME (Iristea)
Christelle LOPES (Université de Lyon, UMR CNRS 5558), Pierre LABADIE, Hélène BUDZINSKI (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC)

Février 2019



- **AUTEURS**

Marc BABUT, chercheur (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), marc.babut@irstea.fr

Aude RATIER, doctorante (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), aude.ratier@irstea.fr

Nicolas DELORME, technicien (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), nicolas.delorme@irstea.fr

Christelle LOPES, maitre de conférences (Université de Lyon, UMR CNRS 5558), christelle.lopes@univ-lyon1.fr

Pierre LABADIE, chargé de recherches (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC), pierre.labadie@u-bordeaux.fr

Hélène BUDZINSKI, directrice de recherches (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC), helene.budzinski@u-bordeaux.fr

- **CORRESPONDANTS**

AFB : Olivier PERCEVAL, Chargé de mission écotoxicologie (AFB, Direction de la recherche, de l'expertise et du développement des compétences), olivier.perceval@afbiodiversite.fr

Irstea : Marc BABUT, chercheur (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), marc.babut@irstea.fr

- **AUTRES CONTRIBUTEURS**

Khedidja ABBACCI, assistante ingénieure (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), khedidja.abbaci@irstea.fr

Marjorie LORTHOLARIE, stagiaire M2 (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie)

Véronique DUVILLARD, stagiaire M2 (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie)

Laura GARNERO, technicienne, (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), laura.garnero@irstea.fr

Hervé QUEAU, assistant ingénieur (Irstea, RiverLY, Laboratoire d'écotoxicologie), herve.queau@irstea.fr

Sylvie AUGAGNEUR, ingénieur d'études (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC) sylvie.augagneur@u-bordeaux.fr

Karyn LE MENACH, ingénieur de recherches (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC) karyn.le-menach@u-bordeaux.fr

Patrick PARDON ingénieur de recherches (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC) patrick.pardon@u-bordeaux.fr

Laurent PELUHET assistant ingénieur (Université de Bordeaux, UMR 5805 EPOC, Equipe LPTC) laurent.peluhet@u-bordeaux.fr

Droits d'usage : [accès réservé à AFB/Irstea, en attente de validation]

Niveau géographique : national

Couverture géographique : sans objet

Niveau de lecture : experts



- **RESUME**

L'utilisation de modèles toxicocinétiques (parfois désignés comme biodynamiques) dans l'étude de la bioaccumulation des contaminants présente de nombreux avantages, et ouvre la perspective d'utilisations prédictives. Toutefois, l'implémentation de ces modèles pour les contaminants organiques imposait de lever des verrous, comme la prise en compte de la biotransformation et des métabolites résultants, et d'estimer correctement l'incertitude sur les valeurs des paramètres toxicocinétiques.

Cette étude a permis de développer un cadre de modélisation générique pour décrire et prédire la bioaccumulation de composés persistants (hexachlorobiphényle, pentachlorobenzène, hexabromocyclododécane - HBCDD, pentabromodiphényl-éther) par différentes espèces d'invertébrés benthiques (insecte *Chironomus riparius*, crustacé amphipode *Gammarus fossarum*, mollusque gastéropode *Radix auricularia*).

La démarche suivie pour cette étude est passée par la mise en œuvre d'essais d'accumulation au laboratoire, qui ont fourni ensuite les données expérimentales permettant de développer le cadre de modélisation et de tester différentes hypothèses sur les voies d'exposition des organismes. L'estimation des paramètres toxicocinétiques est réalisée par inférence bayésienne à l'aide du logiciel JAGS et du package « rjags » du logiciel R ; l'échantillonnage aléatoire pour les distributions de probabilité des paramètres est effectué par l'algorithme « Markov Chain Monte Carlo ».

Les différentes hypothèses testées à partir des données expérimentales correspondent à autant de modèles, dont on peut comparer les performances. Dans l'ensemble, ces modèles ont bien reproduit les données expérimentales, sauf dans le cas de l'HBCDD, pour lequel les données expérimentales obtenues n'ont pas apporté suffisamment d'information pour estimer correctement les paramètres toxicocinétiques. Une fonction de biotransformation a également été implémentée avec succès sur la base de données issues de la littérature (aldicarbe, carbaryl, carbofuran, chlorométhyl-1 nitro-4 benzène, pyrène) ; l'inférence bayésienne a permis d'obtenir une incertitude réduite par rapport à celle des modèles originaux reposant sur une inférence classique.

Enfin, à titre de preuve de concept, le cadre de modélisation a été adapté à une estimation de la concentration dans le sédiment équivalente à la norme de qualité environnementale pour le biote du benzo(a)pyrène.

Ce modèle générique, développé dans un cadre bayésien et pouvant s'adapter à chaque couple espèce-contaminant (ou mélanges) que l'on souhaite étudier se révèle être un outil performant dans la description des toxicocinétiques de contaminants ainsi que dans l'évaluation de l'incertitude sur les paramètres et les prédictions.

- **MOTS CLES (THEMATIQUE ET GEOGRAPHIQUE)**

bioaccumulation ; invertébré benthique ; modèle toxicocinétique ; incertitude ; inférence bayésienne



- **DEVELOPMENT OF A GENERIC BIODYNAMIC MODELLING FRAMEWORK FOR THE ACCUMULATION OF PERSISTENT CHEMICALS BY FRESHWATER BENTHIC INVERTEBRATES**

- **ABSTRACT**

Toxicokinetic models (sometimes called biodynamic models) present numerous advantages for studying the bioaccumulation of chemicals; their use paves the way of predictive applications. Nevertheless, implementing such models for organic contaminants entailed to unlock several limitations, such as estimating biotransformation rates and metabolites' fate. Another current limitation of toxicokinetic models lies in the assessment of uncertainty related to toxicokinetic parameters.

This study consisted in developing a generic modelling framework for describing and simulating the bioaccumulation of persistent chemicals (hexachlorobiphényl, pentachlorobenzène, hexabromocyclododécane – HBCDD, pentabromodiphényl-ether) by various freshwater benthic invertebrate species (an insect, *Chironomus riparius*, an amphipod, *Gammarus fossarum*, and a gastropod mollusk, *Radix auricularia*).

The study was based on a series of laboratory experiments, which provided bioaccumulation data suitable for model calibration, as well as for testing various hypotheses on exposure pathways. Toxicokinetic parameters are estimated through Bayesian inference with the RJAGS software and the "rjags" package in R language via Markov Chain Monte Carlo sampling.

Each hypothesis tested on the basis of experimental data corresponds to a model, allowing then to compare the performance. Overall, these models fit well the experimental data, except for HBCDD: in that case the experimental data did not bring enough information for estimating correctly the toxicokinetic parameters. A biotransformation function was also successfully implemented on the basis of data from the literature (aldicarbe, carbaryl, carbofuran, 4 nitrobenzyl chloride, pyrene). In that case, Bayesian inference yielded a reduced uncertainty compared to the original models, which used classical inference.

Finally, as a "proof of concept", the modelling framework was adapted for estimating the benzo(a)pyrene concentration in bottom sediment equivalent to the biota environmental quality standard for this substance.

This generic Bayesian modelling framework can be adapted to various species-contaminant pairs (or even to mixtures), and appears as an effective tool for describing contaminant kinetics, as well as for assessing the uncertainty related to model parameter estimation, or for predictions.

- **KEY WORDS (THEMATIC AND GEOGRAPHICAL AREA)**

Bioaccumulation; benthic invertebrate; toxicokinetic model; uncertainty; Bayesian inference



- **SYNTHESE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE**

La modélisation de la bioaccumulation de contaminants, notamment à partir du sédiment, est susceptible de nombreuses applications, telles que transposition de mesures d'un compartiment à un autre, transposition d'une norme de qualité établie pour un organisme à un autre compartiment (par ex. sédiment), estimation de l'efficacité d'un traitement du sédiment etc.

Nous avons construit un cadre de modélisation flexible permettant de représenter, pour différents contaminants organiques, ce processus de bioaccumulation à partir du sédiment pour trois espèces d'invertébrés représentatives des milieux d'eau douce. La formule générique du modèle est décrite par la formule :

$$\frac{dC(t)}{dt} = \sum_{i=1}^n (k_i \times C_i(t)) - \sum_{j=1}^p (k_j \times C(t))$$

avec $C(t)$ la concentration (ng g^{-1} , exprimée par rapport à la masse fraîche) dans l'organisme entier au temps t (en jours), n le nombre de sources de contaminants pour l'organisme, k_i le taux d'absorption pour la source de contamination i , $C_i(t)$ la concentration du contaminant dans la source i au temps t , p le nombre de voies d'élimination et k_j le taux d'élimination correspondant au processus j .

L'absorption de contaminants par la nourriture est un processus particulièrement important pour les contaminants peu solubles. La constante (taux) d'absorption d'un contaminant par cette voie est influencée d'une part par un taux d'ingestion de nourriture (IR), d'autre part par l'efficacité d'assimilation du contaminant (AE) au niveau de l'organe digestif. Ce dernier paramètre est toutefois délicat à déterminer expérimentalement, mais peut être estimé à l'aide du modèle – si les autres données apportent suffisamment d'information.

La croissance est considérée comme une voie d'élimination, dans la mesure où elle conduit à une dilution du contaminant. La biotransformation est aussi un processus d'élimination ; cependant dans ce cas le modèle ne prend pas en compte le devenir du (ou des) métabolites formés lors de ce processus. Pour y remédier, il faut adjoindre au modèle décrivant la cinétique du composé parent un modèle décrivant la cinétique du ou des métabolites.

La démarche suivie pour construire le cadre de modélisation a consisté en expérimentations en conditions contrôlées, et en test de différents modèles sur les jeux de données, pour identifier les voies d'exposition les plus plausibles, et le cas échéant le taux de métabolisation et les paramètres relatifs aux métabolites. Trois espèces d'invertébrés ont été utilisées : le chironome (*Chironomus riparius*, insecte dont la larve vit dans le sédiment), le gammare (*Gammarus fossarum*, crustacé amphipode) et un mollusque gastéropode (*Radix auricularia*). Ces trois espèces ont notamment des modes d'alimentation différents, et leur capacité à métaboliser les contaminants organiques est également variable. En ce qui concerne le processus de biotransformation, nous avons eu recours à des données déjà publiées, ce qui a élargi la gamme d'espèces, notamment à des invertébrés marins.

Le cadre de modélisation résumé ci-dessus a été développé sous un code « open source » (langage R) ; l'estimation des paramètres est faite par inférence bayésienne, ce qui permet d'estimer l'incertitude associée à chaque paramètre (intervalle de crédibilité à 95%).

Les substances étudiées, et les valeurs médianes des paramètres toxicocinétiques estimés à l'aide des modèles, sont présentés dans les tableaux ci-dessous (entre crochets les intervalles de crédibilité à 95%) ; dans ces tableaux, k_s désigne le taux d'absorption à partir du sédiment, k_g le taux de croissance, k_e correspond au taux d'élimination. Lorsque des voies complémentaires d'absorption des contaminants ont été envisagées, on a estimé les taux d'absorption pour chacune de ces voies : k_l pour l'absorption à partir de la litière, et k_w à partir de l'eau.

A- Paramètres toxicocinétiques pour le chironome (*Chironomus riparius*) :

Substance	CAS#	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	k_g (j ⁻¹)	k_e (j ⁻¹)
PCB 153	35065-27-1	0.47 [0.36-0.80]	0.12 [0.03-0.36]	0.12 [0.04-0.39]
ΣHBCDD	25637-99-4	0.19 [0.06-13.8]	0.17 [0.09-0.96]	0.26 [0.00-73.6]

B- Paramètres toxicocinétiques pour le gammare (*Gammarus fossarum*) :

Substance	CAS#	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	k_l (ng g ⁻¹ jr ⁻¹)	k_e (j ⁻¹)
Pentachlorobenzène	608-93-5	-	0.03 [0.02 – 8.38]	0.30 [0.20 – 0.43]
PCB 153	35065-27-1	0.07 [0.06-0.09]	0.01 [0.01-0.016]	0.18 [0.13-0.23]
ΣHBCDD	25637-99-4	0.001 [1.57*10 ⁻⁵ - 0.016]	-	0.012 [1.45*10 ⁻⁵ -0.93]
BDE 99	60348-60-9	0.03 [0.02-0.04]	0.01 [0.009-0.014]	0.22 [0.16-0.28]

Dans le cas du pentachlorobenzène, on a testé une exposition uniquement par les feuilles, ce qui est assez peu réaliste.

L'HBCDD n'ayant été que peu accumulé, les valeurs des paramètres sont assez incertaines, comme le montrent les larges intervalles de crédibilité à 95%.

C- Paramètres toxicocinétiques pour le radix (*Radix auricularia*) :

Substance	CAS#	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	k_e (j ⁻¹)
PCB 153	35065-27-1	0.047 [0.044 - 0.050]	0.0000007 [0.0000000002 – 0.004]
BDE 99	60348-60-9	0.030 [0.026 - 0.036]	0.000001 [0.0000000002 - 0.669]

D- Biotransformation

La biotransformation d'un contaminant est assimilable à une voie d'élimination, caractérisée par un taux noté k_m . Lorsqu'un seul métabolite est formé dans l'organisme, ce même taux permet de décrire la cinétique de croissance de sa concentration. Le métabolite a son propre taux d'élimination (k_{em}). Il est utile de compléter la modélisation toxicocinétique des contaminants « parents » en prenant également en considération les métabolites formés, parce qu'ils peuvent être eux-mêmes toxiques (et parfois réglementés : par exemple dans le contexte de la directive 2000/60/CE le paramètre « DDT » inclut ses métabolites DDE et DDD).

Les valeurs médianes des paramètres toxicocinétiques pour plusieurs composés parents et leurs métabolites sont présentés dans les tableaux ci-dessous (entre crochets les intervalles de crédibilité à 95%). Ces paramètres ont été estimés par inférence bayésienne à partir de données de la littérature (expérimentations sur un polychète (ver marin), *Nereis diversicolor*, exposé au sédiment, et le gammare *Gammarus pulex*, exposé par l'eau.

Parent	Métabolite	CAS#	Espèce	k_w (L kg _{org} ⁻¹ j ⁻¹)	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	k_{ep} (j ⁻¹)	k_m (j ⁻¹)	k_{em} (j ⁻¹)
Pyrène	Hydroxy-pyrène	129-00-0	<i>N. diversicolor</i>	-	0.49 [0.34-0.69]	1.25 [0.84-1.85]	0.05 [0.03-0.08]	0.18 [0.0005-0.38]
Aldicarbe	Aldicarbe-sulfone	116-06-3	<i>G. pulex</i>	4.02 [2.29-8.29]	-	2.17 [0.08-8.12]	2.29 [1.25-3.96]	5.89 [3.54-9.73]
Carbofuran	Hydroxy-carbofuran	1563-66-2	<i>G. pulex</i>	30.0 [4.15-75.2]	-	48.1 [6.21-97.0]	16.6 [11.1-34.5]	0.396 [0.34-0.46]
Carbaryl	Naphtol-sulfate	63-25-2	<i>G. pulex</i>	28.41 [19.34-53.41]	-	2.99 [0.70-9.08]	2.84 [2.25-3.60]	0.33 [0.27-0.40]

Cette approche est également applicable aux substances pour lesquelles plusieurs métabolites sont formés, comme dans l'exemple ci-dessous chez *G. pulex* (trois métabolites formés, notés 1, 2 et 3).

Parent	CAS#	k_w (L kg _{org} ⁻¹ j ⁻¹)	k_{ep} (j ⁻¹)	$k_m(1)$ (j ⁻¹)	$k_{em}(1)$ (j ⁻¹)	$k_m(2)$ (j ⁻¹)	$k_{em}(2)$ (j ⁻¹)	$k_m(3)$ (j ⁻¹)	$k_{em}(3)$ (j ⁻¹)
Chlorométhyl-1 nitro-4 benzène	100-14-1	474 [349-1007]	13.33 [2.56-126.8]	0.89 [0.64-1.25]	0.56 [0.41-0.74]	38.35 [22.74-68.47]	3.94 [2.32-7.34]	40.91 [29.97-57.43]	2.39 [1.88-3.06]

Le taux d'absorption d'un contaminant à partir de la nourriture inclut d'une part le taux d'ingestion de nourriture (noté *IR*), d'autre part l'efficacité d'assimilation (*AE*), c'est-à-dire la proportion du contaminant ingéré qui passe dans les tissus. Il peut être utile de déterminer ces deux variables pour certaines applications, par exemple lorsqu'on veut prédire l'efficacité d'un traitement visant à diminuer la biodisponibilité d'un contaminant (par exemple ajout de charbon actif à des sédiments contaminés).

Nous avons déterminé des *IR* pour *G. fossarum* de valeur 0.237 mg mg⁻¹ j⁻¹ [0.141-0.333] et 0.239 [0.038 – 0.487] dans le cadre des essais impliquant PCB153 et PBDE99. Les *AE* respectives sont estimées à 5.3% [3.5-9.3%] et 4.9% [], valeurs basses mais compatibles avec celles déjà publiées. Le résultat que nous avons obtenu ne paraît pas absurde, et pas moins incertain que ceux publiés jusqu'ici, eu égard aux biais méthodologiques des différentes méthodes possibles. Par contre il apparaît clairement contre-indiqué d'utiliser directement des valeurs d'*IR* et a fortiori d'*AE* tirées de la littérature.

Ce modèle générique, développé dans un cadre bayésien et pouvant s'adapter à différents couples espèce-contaminant, s'est révélé être un outil performant dans la description des toxicocinétiques de contaminants ainsi que dans l'évaluation de la variabilité des données et de l'incertitude sur les paramètres et les prédictions. A prise en compte de la biotransformation et la prise en charge des métabolites formés dans le modèle constitue une avancée importante.

Parmi diverses applications pratiques possibles, le modèle générique pourrait aider à interpréter les données de surveillance des milieux, notamment pour les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP). En effet, les HAP sont généralement analysés dans les sédiments, et il existe un historique conséquent de mesures de ce type dans les différents bassins hydrographiques français. Cependant, la directive 2013/039 spécifie que pour certains de ces contaminants hydrophobes, la norme de qualité environnementale concerne le biote (*NQE_{biote}*), c'est-à-dire généralement des poissons de niveau trophique 4, et dans le cas des HAP des invertébrés tels que des mollusques. Modifier le protocole de surveillance pour les HAP, voire pour d'autres contaminants, conduirait à perdre la continuité du suivi. Cette difficulté peut être contournée en utilisant le modèle biodynamique soit pour transposer la *NQE* au sédiment, soit pour estimer la concentration dans un organisme modèle correspondant aux concentrations mesurées dans le sédiment.

La directive 2013/039/UE stipule que le benzo(a)pyrène doit être considéré comme un indicateur (*marker*) pour l'ensemble des autres HAP. L'évaluation de la conformité d'une masse d'eau, pour le benzo(a)pyrène, pourrait se faire à l'aide du modèle développé dans cette étude, utilisé

- soit pour déterminer une concentration dans le sédiment équivalent à la *NQE_{biote}*.
- soit pour estimer les concentrations dans un organisme benthique à partir des concentrations mesurées dans le sédiment.

A titre de « preuve de concept », nous avons testé la deuxième option à partir de données expérimentales disponibles dans la littérature pour deux organismes, la larve du chironome *Chironomus tentans* et le crustacé amphipode *Hyalella azteca*. Ce chironome présente des concentrations inférieures ou égales à la *NQE_{biote}* jusqu'à 25 ng g⁻¹ (ps) de benzo(a)pyrène dans le sédiment ; cependant *C. tentans* est capable de biotransformer le benzo(a)pyrène, et à 25 ng g⁻¹ (ps) de benzo(a)pyrène dans le sédiment, la concentration de ce métabolite dans les larves excède largement la *NQE_{biote}*. Pour la hyalèle, en revanche, il ne faudrait pas dépasser 19 ng g⁻¹ ps de benzo(a)pyrène dans le sédiment pour que les hyalèles n'accumulent pas plus que la *NQE_{biote}*.

Cette concentration équivalente à la *NQE_{biote}* ne devrait pas être utilisée telle quelle, dans la mesure où nous ne savons pas à quel point la cinétique d'accumulation du benzo(a)pyrène de la hyalèle est similaire à celle de crustacés amphipodes autochtones comme le gammare. Il y a une deuxième source (majeure) d'incertitude sur cette cinétique d'accumulation du benzo(a)pyrène à partir du sédiment, qui est l'influence de la matière

organique sur la biodisponibilité. Quelques développements complémentaires, par exemple des essais in situ suivis du couplage des résultats au modèle, sont encore nécessaires.

Table des matières

1	Introduction	11
1.1	Qu'est-ce qu'un modèle « biodynamique » ?	12
1.1.1	Aspects théoriques, exemples d'application.....	12
1.1.2	Limitations du modèle biodynamique original.....	14
1.2	Questions scientifiques.....	14
2	Objectif.....	14
3	Démarche.....	15
3.1	Acquisition de données expérimentales	15
3.1.1	Espèces modèles	15
3.1.2	Substances modèles.....	15
3.1.3	Design expérimental	16
3.1.4	Analyse des contaminants.....	18
3.2	Cadre de modélisation.....	19
3.2.1	Cadre général	19
3.2.2	Fonction de biotransformation	19
3.3	Ajustement des modèles aux données expérimentales par inférence bayésienne	20
4	Résultats.....	21
4.1	Construction du modèle : 1 ^{ère} étape, preuve de concept avec le PCB 153	21
4.1.1	Hypothèses.....	21
4.1.2	Données expérimentales pour le PCB153	24
4.1.3	Résultats de l'ajustement des modèles et discussion	26
4.2	Deuxième étape : de l'intérêt de déterminer le taux d'ingestion et l'efficacité d'assimilation ?.....	28
4.2.1	Approche expérimentale.....	28
4.2.2	Prise en compte du taux d'ingestion dans les modèles	30
4.3	Troisième étape : prise en compte de la biotransformation	31
4.3.1	Détermination du k_m	31
4.3.2	Résultats (modèle) et discussion.....	32
4.4	Application à des composés halogénés	36
4.4.1	Pentachlorobenzène	36
4.4.2	Hexabromocyclododécane (HBCDD).....	37
4.4.3	BDE99	40
5	Discussion & perspectives.....	43
5.1	Performance du modèle	43
5.2	Comparaison au terrain	44
5.3	Vers des applications opérationnelles.....	46
5.3.1	Mise en œuvre des directives 2000/60 et 2013/039	46
5.3.2	Sédiments contaminés	47
5.4	Perspectives.....	48
6	Glossaire, sigles & abréviations.....	49

7	Index des tableaux et figures	51
8	Annexes.....	52
8.1	Dispositifs d'enrichissement du sédiment et des feuilles d'aulne.....	52
8.2	Code du modèle.....	53
8.3	Valorisation.....	65
9	Bibliographie	66

1 Introduction

L'étude de la bioaccumulation des contaminants connaît un regain d'intérêt depuis quelques années. Celui-ci s'explique en partie par la recherche sur les contaminants émergents (Poma *et al.*, 2014), et, pour une autre part, par une demande de la sphère réglementaire, autour de la mise en œuvre de la surveillance des milieux (e.g. directive 2013/39 UE), et plus généralement dans une perspective d'évaluation des risques environnementaux.

A l'exception de quelques contaminants persistants et fortement hydrophobes (hydrocarbures polycycliques aromatiques - HAP, polychlorobiphényles - PCB, dichloro-diphényl-trichloréthane - DDT), il reste difficile de comparer les résultats d'études d'accumulation au laboratoire et dans l'environnement réel (Belzunce-Segarra *et al.*, 2015; Burkhard *et al.*, 2012), en raison notamment de la variabilité des conditions environnementales. L'extrapolation des connaissances acquises au laboratoire à l'environnement est cependant un élément critique de l'évaluation des risques environnementaux, qu'il parait par conséquent nécessaire de maîtriser pour les composés émergents.

Le concept de modèle biodynamique, introduit pour expliquer la variabilité de la bioaccumulation des métaux par les organismes aquatiques (Luoma et Rainbow, 2005; Reinfelder *et al.*, 1998), parait de nature à pallier cette difficulté. Ce type de modèle a connu ces dernières années des développements concernant d'autres familles de contaminants, telles que PCB (Janssen *et al.*, 2010; McLeod *et al.*, 2008) ou HAP (Bourgeault et Gourlay-Francé, 2013).

L'application de ce type de modèle a ainsi permis par exemple de prédire l'effet du traitement *in situ* de sédiments contaminés par des PCB par du charbon actif (CAG), dont l'effet est de diminuer la biodisponibilité des PCB (Janssen *et al.*, 2011). Après avoir comparé des communautés benthiques de sites impactés et non impactés, identifié des taxons exposés en fonction de leurs modes d'alimentation, l'application du modèle à ces groupes faunistiques en fonction de plusieurs scénarios de traitement au CAG a permis de prédire les concentrations accumulées par ces taxons après traitement. Ces niveaux accumulés en fonction des scénarios de traitement permettent de calibrer le traitement au niveau souhaité, ou en tous cas de vérifier sa faisabilité.

De même, la modélisation biodynamique a permis d'explorer les relations entre taux d'absorption de cations métalliques (Cu, Cd) et toxicité (Croteau et Luoma, 2009). Par ailleurs, l'élaboration de seuils de qualité dans les compartiments environnementaux utilisés pour la surveillance, élément clé de la gestion de l'environnement depuis plusieurs décennies, serait grandement améliorée par l'utilisation de concentrations critiques dans les tissus (*critical body residue*, CBR), notamment pour les contaminants associés aux sédiments (Meador *et al.*, 2011; Sappington *et al.*, 2011). Cependant, une des difficultés rencontrées dans ce type d'approche est le manque de précision des prédictions des modèles, souvent rudimentaires, utilisés pour relier les concentrations dans le milieu (sédiment) et les concentrations tissulaires (Meador *et al.*, 2002). Là aussi, l'application de modèles biodynamiques permettrait de mieux évaluer la bioaccumulation, et d'affiner les concentrations environnementales correspondant aux CBR en fonction des conditions environnementales.

De façon générale, pour les composés organiques émergents ou non, il parait essentiel de développer les concepts et outils visant à formaliser les liens entre la contamination de l'environnement (eau, sédiment), l'exposition des organismes, la bioaccumulation et le devenir de ces composés dans les organismes, autant que

leur toxicité. Parmi les applications opérationnelles de ces concepts et outils, on peut notamment retenir les points suivants :

- La surveillance de certaines substances prioritaires au titre de la directive 2000/60 pour l'eau serait plus pertinente dans le biote, alors que leurs normes de qualité environnementale (NQE) se rapportent à l'eau. Une des parades possibles consisterait à transposer la NQE au biote à l'aide d'un modèle tenant compte des facteurs environnementaux.
- De même, les sédiments sont souvent utilisés dans les réseaux de surveillance des milieux aquatiques pour les substances hydrophobes ; dans ce cas également, il serait utile de disposer d'un outil (modèle) permettant soit de transposer la NQE biote au sédiment, soit de prédire le risque de dépassement de la NQE à partir d'observation du sédiment.
- Par ailleurs la bioaccumulation des composés persistants reste un domaine insuffisamment développé de l'évaluation des risques des sédiments contaminés, notamment par les substances bioamplifiées dans les chaînes trophiques aquatiques. Il conviendrait de développer des outils permettant de prédire les concentrations tissulaires à différents niveaux trophiques, en commençant par les invertébrés benthiques.

1.1 Qu'est-ce qu'un modèle « biodynamique » ?

1.1.1 Aspects théoriques, exemples d'application

La construction originale du modèle biodynamique part de l'hypothèse que la cinétique de bioaccumulation nette résulte de trois processus concurrents (Luoma et Rainbow, 2005) : l'absorption sous forme dissoute, l'absorption par voie alimentaire, et les pertes. Celles-ci peuvent provenir de la dilution par la croissance (biodilution) (Spacie et Hamelink), de processus métaboliques modifiant la forme du contaminant (biotransformation) (Kühnert *et al.*, 2013), et de l'excrétion. Dans l'hypothèse de cinétiques de premier ordre, ces processus sont décrits par l'Équation 1 :

$$\frac{dC_{org}}{dt} = [(k_w \times C_w) + (AE \times IR \times C_{food})] - (k_e + g) \times C_{org}(t)$$

Équation 1

avec C_{org} la concentration interne, k_w le taux d'absorption par l'eau, C_w la concentration dans l'eau, AE l'efficacité d'assimilation, IR le taux d'ingestion de nourriture, C_{food} la concentration dans la nourriture, k_e le taux d'élimination, et g le taux de croissance¹. Dans ce cas il n'y a pas de biotransformation.

Dans cette équation, les termes k_w , k_e ou AE sont spécifiques du contaminant et de l'organisme, tandis que les termes IR et g sont caractéristiques des organismes, sous réserve toutefois que le contaminant n'ait pas d'effet sur l'alimentation.

Dans cette expression, il n'y a qu'une seule source de nourriture, et l'organisme ne grandit pas sur la période considérée. Il est assez facile de compléter le modèle sur ces deux points : s'il y a plusieurs sources de nourriture, le deuxième terme de l'équation gardera la même forme mais tiendra compte de la proportion de chaque source de nourriture dans l'alimentation. De même, la croissance étant équivalente à une diminution nette de la concentration accumulée (biodilution), son effet est pris en compte dans le troisième terme de l'**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**, qui devient : $(k_e + g) * C_{org}$, avec g le taux de croissance, et dans l'hypothèse où la croissance est constante au cours du temps. Certains auteurs regroupent l'ensemble des pertes par dépuración et dilution par la croissance dans une constante unique (k_{e+g}) égale à la somme des deux (exemple dans (Janssen *et al.*, 2010)).

Cette approche présente une différence importante avec un modèle cinétique de bioaccumulation à deux compartiments (Landrum, 1989) : ici on prend en considération plusieurs voies d'exposition, et le comportement de l'organisme, alors que le modèle classique considère que la partition vers les lipides englobe toutes les voies d'exposition.

Un modèle biodynamique plus complet, tenant compte de plusieurs sources de nourriture et de la croissance de l'organisme, est donné par l'**Erreur ! Source du renvoi introuvable.** (d'après (Wang et Rainbow, 2008)) :

¹ Cette équation (de même que la suivante) est similaire à la présentation originale ; par la suite, nous avons préféré harmoniser le libellé des paramètres, et note le taux de croissance k_g

$$\frac{dC_{org}}{dt} = (k_u * C_w(t)) + \sum_{i=1}^n (p_i * AE_i * IR_i * C_{food,i}(t)) - ((k_e + g) * C_{org}(t))$$

Équation 2

où n est le nombre de sources d'alimentation, p_i est la proportion de la source d'alimentation i , AE_i l'efficacité d'assimilation de la source i , IR_i le taux d'ingestion de la source i et $C_{food,i}$ la concentration dans la source i .

Cependant, ce modèle repose implicitement sur deux hypothèses : (i) que pour chaque voie d'exposition l'accumulation est due à une diffusion à travers une membrane (branchiale, digestive), et (ii) qu'il y a conservation de la masse, en d'autres termes que le composé absorbé n'est pas dégradé par l'organisme.

Depuis l'article fondateur de S. Luoma et P. Rainbow (Luoma et Rainbow, 2005), au moins une quinzaine d'études utilisant ce concept et visant les invertébrés ont été publiées. Elles concernent principalement des éléments-trace (arsenic, métaux), et quelques contaminants organiques (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**, par ordre chronologique).

Substance	Organisme	Remarques	Réf.
PCB, HAP	moules	Données cinétiques théoriques ; l'objet principal de l'étude concerne les membranes SPMD	(Booij <i>et al.</i> , 2006)
PCB	<i>Macoma balthica</i> <i>Corbicula fluminea</i>	Modes d'alimentation différents. Effet du CAG sur la biodisponibilité <i>in situ</i> .	(McLeod <i>et al.</i> , 2008)
Ag, Cd, Zn	<i>Arenicola marina</i>	Comparaison modèle / mesures <i>in situ</i> (estuaires UK)	(Casado-Martinez <i>et al.</i> , 2009a)
Ag, Cd, Zn	<i>A. marina</i>	Isotopes radioactifs – mesures k_u , k_e , pour les 2 voies d'exposition, et AE. Comparaison mesures <i>in situ</i>	(Casado-Martinez <i>et al.</i> , 2009b)
As	<i>A. marina</i>	Isotopes – mesures k_u , k_e , pour les 2 voies d'exposition. IR dérivé de la taille et % COT. Comparaison avec des mesures <i>in situ</i>	(Casado-Martinez <i>et al.</i> , 2010)
PCB	<i>Neanthes arenaceodentata</i>	k_u eau-sédiment ; effet CAG sur la biodisponibilité, croissance et aux de lipides	(Janssen <i>et al.</i> , 2010)
Nanoparticules d'Ag	<i>Daphnia magna</i>	Absorption dépendante de la concentration d'exposition ; AE dépend de la spéciation (nanoAg>Ag), de même que k_e . Élimination par 2 voies.	(Zhao et Wang, 2010)
PCB	<i>N. arenaceodentata</i> <i>M. balthica</i> <i>Mytilus edulis</i>	Traits bioécologiques favorisant l'exposition ; lien avec l'accumulation en fonction des traits et de scénarios d'exposition impliquant CAG ou non	(Janssen <i>et al.</i> , 2011)
Ni	<i>Gammarus pulex</i>	Accumulation à partir de l'eau ; détermination expérimentale de k_u et k_e . Influence des ions majeurs. Le modèle est modifié pour tenir compte de la dépendance à la concentration (saturation)	(Lebrun <i>et al.</i> , 2011)
Cu	<i>G. pulex</i>	Accumulation à partir de l'eau ; détermination expérimentale de k_u et k_e . Influence des ions majeurs. Le modèle tient compte de la saturation (en cas de forte exposition)	(Lebrun <i>et al.</i> , 2012)
HAP	<i>Dreissena polymorpha</i>	Exposition long terme <i>in situ</i> . Modèle / pyrène : hypothèse que le niveau d'accumulation dépend de l'état physiologique des organismes	(Bourgeault et Gourlay-Francé, 2013)
Ag, As, Cd, Cu, Zn	<i>A. marina</i>	Exposition au laboratoire (sédiments naturels) comparés à accumulation <i>in situ</i> . Plateau non atteint en 28 jours au laboratoire.	(Casado-Martinez <i>et al.</i> , 2013)
Cd / ¹⁰⁹ Cd	<i>Hyalella azteca</i>	Exposition au laboratoire, Tetramin [®] vs périphyton frais ; comparaison AE, IR, efficacité du modèle.	(Golding <i>et al.</i> , 2013)
PBDE ²	<i>G. pulex</i>	Exposition en microcosme (eau et nourriture). Absorption majoritaire par l'eau. Détermination expérimentale de k_u et k_e ; faible métabolisme du BDE47, le plus accumulé.	(Lebrun <i>et al.</i> , 2014)
Pb	<i>G. pulex</i>	Accumulation par l'eau ; effet du Ca ²⁺ ; comparaison à organismes <i>in situ</i> .	(Urien <i>et al.</i> , 2015)

Tableau 1 – Études identifiées utilisant explicitement le concept de modèle biodynamique et questions scientifiques abordées

Ces études ont donc majoritairement concerné des métaux, et un petit nombre de composés hydrophobes.

À l'exception des nanoparticules d'argent (Zhao et Wang, 2010), aucun composé d'intérêt émergent n'a été étudié à l'aide de ce type de modèle, alors même que bien souvent la détection dans les organismes aquatiques, et donc la compréhension de la bioaccumulation, sont des étapes critiques du « parcours » de ces composés d'intérêt émergent (Babut, 2016). Ce sont essentiellement quelques composés organiques au devenir assez connu qui ont été étudiés.

² Polybromo-diphényl-éthers

Les organismes pour lesquels des modèles biodynamiques ont été décrits sont des vers polychètes, des mollusques bivalves, et moins fréquemment des crustacés, principalement amphipodes.

1.1.2 Limitations du modèle biodynamique original

Une des limitations importantes du modèle biodynamique, tel qu'appliqué jusqu'à présent, concerne la biotransformation des composés absorbés. Dans le cas des éléments métalliques, la question ne se pose pas vraiment : le métal peut être partiellement pris en charge par des protéines (Baudrimont *et al.*, 2003; Croteau *et al.*, 2002), la formulation générale du modèle biodynamique à l'échelle de l'organisme (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) reste donc valide, dans la mesure où le métal lui-même n'est pas transformé, mais associé à une molécule organique. En cas de besoin (par ex. étude de la toxicité) le modèle peut d'ailleurs être affiné pour tenir compte de la biodisponibilité interne (Croteau et Luoma, 2009). Il en va différemment des composés organiques qui seraient métabolisés, puisque dans ce cas une partie du composé parent disparaît du pool accumulé. C'est ce qui expliquerait la forte surestimation des concentrations de pyrène accumulées par les dreissènes encagées dans l'expérimentation rapportée par (Bourgeault et Gourlay-Francé, 2013). Lebrun et co-auteurs concluent *a contrario* que la biotransformation n'est pas importante dans le cas du gammare et du BDE47 (Lebrun *et al.*, 2014), mais ce PBDE résultant lui-même de la métabolisation de composés plus bromés (Hakk et Letcher, 2003), il aurait pu être intéressant dans leur cas de s'intéresser aussi à d'autres congénères.

D'autre part, lorsque le processus d'accumulation, par l'eau ou par voie trophique, met en jeu des sites de liaison spécifiques au niveau des membranes ou des organes de stockage, la concentration accumulée va dépendre non seulement de la concentration d'exposition, mais également de la disponibilité (ou de la saturation) des sites de liaison. Ce mécanisme a notamment été décrit pour des métaux (Lebrun *et al.*, 2011), et pour des composés perfluorés (Liu *et al.*, 2011). Notons que si le taux d'absorption est déterminé par régression des taux d'absorption à plusieurs concentrations, comme chez (Casado-Martinez *et al.*, 2009b), on disposerait d'emblée des données nécessaires pour tester cette hypothèse de dépendance à la concentration.

De plus, à côté de ces limites « fonctionnelles » du modèle biodynamique original appliqué aux composés organiques, l'incertitude sur les valeurs des paramètres reste difficile à évaluer, d'autant plus qu'ils sont en partie interdépendants.

1.2 Questions scientifiques

Les questions à résoudre pour la formulation de modèles biodynamiques applicables à une large gamme de substances organiques et des organismes variés concernent :

- a. La connaissance des organismes (leur nourriture, conditions de croissance ...).
- b. La connaissance des voies d'exposition (distinction entre l'accumulation par l'eau et par la voie trophique).
- c. La connaissance des capacités métaboliques des organismes vis-à-vis des composés étudiés, qui peuvent varier en fonction des espèces et des composés.
- d. Une éventuelle dépendance à la concentration (ou d'une saturation) lors de l'accumulation (intégration de l'effet de la concentration d'exposition aux paramètres cinétiques).

Le présent rapport et les publications associées concernent les points a à c ci-dessus ; bien qu'évoqué dans le projet initial, le point d n'a pu être abordé dans le temps imparti à cette étude.

2 Objectif

L'objectif principal est de développer un cadre de modélisation pour décrire ou prédire la bioaccumulation de composés persistants par différentes espèces d'invertébrés benthiques. Ce cadre de modélisation devra donc pouvoir s'adapter facilement, sans revoir le code à chaque fois, et prendre en considération, selon les cas :

- les traits de vie contrôlant l'exposition des organismes aux contaminants, i.e. prendre en compte plusieurs voies d'exposition ;
- les différentes voies conduisant à la diminution des concentrations tissulaires, soit la croissance des organismes, l'élimination (excrétion) et la biotransformation.

Il conviendra aussi de pouvoir estimer l'incertitude associée aux valeurs déterminées pour les paramètres des modèles issus de ce cadre de modélisation.

3 Démarche

3.1 Acquisition de données expérimentales

3.1.1 Espèces modèles

Le choix a initialement porté sur trois phylum, représentant des habitats (voies d'exposition et des capacités métaboliques *a priori* différentes : une larve d'insecte (*Chironomus riparius*, espèce modèle largement utilisée en écotoxicologie), un crustacé amphipode (*Gammarus fossarum*), espèce modèle également employée en monitoring actif, et un mollusque (*Physa* spp). Le chironome fait l'objet d'un élevage dans le laboratoire d'écotoxicologie à Irstea depuis de nombreuses années, ce qui permet de mettre en place aisément des tests impliquant un grand nombre de larves. L'approvisionnement en gammares est assuré par prélèvement d'individus calibrés dans une cressonnière préservée de contaminations anthropiques (St Maurice-de-Remens, 01) ; les individus prélevés sont stabulés environ trois semaines au laboratoire, puis les individus mâles sont sélectionnés pour les tests.

Après contact avec un chercheur du LEHNA (Université Lyon 1) qui a développé un élevage de physes, des adultes ont été prélevées dans un étang du parc de Miribel en mai 2017, et implantées au laboratoire. Avant de mettre en place des tests d'accumulation et d'élimination, il importait de stabiliser l'élevage (maintenance des adultes, reproduction) et déterminer les modalités d'exposition ; cependant, des difficultés persistantes de maintenance de cette espèce au laboratoire ont conduit à abandonner cette option à la fin de l'automne 2017. Une espèce alternative (*Radix auricularia*), pour laquelle il était possible de collecter des adultes en quantité suffisante sur le site d'approvisionnement en gammares, a ensuite été acclimatée, et utilisée pour un test d'accumulation réalisé en juillet 2018.

3.1.2 Substances modèles

Les substances testées sont présentées au Tableau 2. Le PCB 153 fait ici office de composé de référence : son comportement est largement connu, notamment sous l'angle de la bioaccumulation, bien qu'il y ait moins de connaissances sur des invertébrés que sur les vertébrés.

Le pentachlorobenzène est une substance prioritaire au titre de la directive 2000/60 fixant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau (DCE), dont la norme de qualité environnementale (NQE) devrait s'appliquer au poisson, compte tenu de ses caractéristiques physico-chimiques. Cependant la littérature concernant cette substance est très limitée. Il a donc paru intéressant de l'étudier, tout en mettant au point le protocole des tests sur chironome et gammare. L'hexabromocyclododécane (HBCDD) et le 2,2',4,4',5-pentabromodiphényl-éther (BDE99) sont deux retardateurs de flamme ; le deuxième fait partie du paramètre « PBDE » au titre de la DCE, avec une NQE ciblant le biote (P.E. et C.E., 2013). La biotransformation du BDE99 en un composé moins bromé (notamment le BDE 47) a été observée chez certains poissons (Stapleton *et al.*, 2004a ; Tomy *et al.*, 2004), tandis qu'elle a été suspectée chez une espèce de gammare (Tlili *et al.*, 2012). Le test gammare impliquant cette substance visait ainsi à confirmer la biotransformation par cette espèce. Enfin le pyrène a été choisi également pour tester la biotransformation ; cet hydrocarbure polycyclique aromatique est couramment recherché dans les sédiments dans le cadre de la surveillance des milieux aquatiques.

Substance	N° CAS	Log K_{ow} ³	Chironome	Gammare	Radix
Pentachlorobenzène (PeCB)	608-93-5	5.18		x	
2,2',4,4',5,5' Hexachlorobiphényle (PCB 153)	35065-27-1	7.22	x	x	x
Hexabromocyclododécane (HBCDD) ⁴	25637-99-4	5.63	x	x	
2,2',4,4',5-penta- bromodiphényl éther (BDE-99)	60348-60-9	6.84		x	x
Pyrène	129-00-0	4.88		x	

Tableau 2 – Substances chimiques et espèces invertébrées testées dans le cadre de cette étude

Les substances modèles sélectionnées sont hydrophobes, voire très hydrophobes, comme le signale coefficient de partage octanol-eau (log K_{ow}).

3.1.3 Design expérimental

Toutes les configurations espèce*substances testées ont en commun au moins une modalité d'exposition impliquant le sédiment. Environ 50 litres de sédiment non contaminé ont été prélevés pour chacun des essais et enrichi au laboratoire (cf. section 8.1) avec les substances à tester. Le sédiment enrichi est ensuite mis en place dans les aquariums et laissé à reposer pendant une semaine avant d'introduire les organismes. La même opération est faite en parallèle avec du sédiment non enrichi (aquarium contrôle).

Différentes sources de sédiment non contaminé ont été exploitées au cours de ce projet :

- Lac d'Aiguebelette (Savoie) pour l'essai avec le PeCB ; sédiment très carbonaté, avec une faible teneur en matière organique.
- Parc de Miribel (Rhône), étang des Libellules, pour l'essai avec le PCB 153 ; sédiment fin, chargé en matière organique ; beaucoup de macrophytes.
- Parc de Miribel, ruisseau du Rizan pour les autres tests ; sédiment fin, teneur en matière organique faible.

Dans le cas du gammare, une voie d'exposition par la nourriture préférentielle (litière) a également été testée indépendamment du sédiment. Dans ce cas, les feuilles ont également été enrichies par la substance à tester selon un procédé voisin de celui employé pour le sédiment, et placées dans des aquariums sans sédiment.

Ces protocoles ont été conçus de façon à recueillir des données susceptibles d'informer sur les taux d'ingestion (IR). Ce sujet est développé dans la section 4.2.

³ Sources : Hazardous substances data bank [<https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>] ou portail des substances chimiques / Ineris [<https://substances.ineris.fr/fr/>]

⁴ A noter que l'HBCDD est un mélange technique, comprenant principalement trois isomères notés α , β et γ

- Essais sur chironomes (Figure 1)

Cet essai se fait sur des larves au stade L4 ; ce stade a une durée d'environ une semaine lorsque la température est à l'optimum, 21°C. En conséquence, seule la phase d'accumulation, pendant laquelle les chironomes sont exposés au sédiment enrichi, a été implémentée. Quatre cents chironomes au stade L4 sont introduits dans chaque aquarium, à raison d'un aquarium contrôle et sept aquariums contenant du sédiment enrichi.

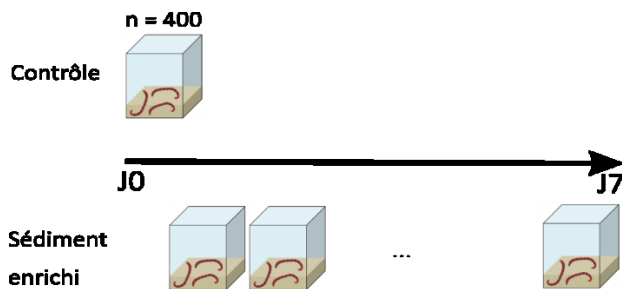


Figure 1- Design expérimental pour les essais sur chironome

Les aquariums sont placés dans un bain-marie à 21°C, en conditions statiques. La photopériode a été fixée à 16:8 h.

Tous les jours pendant une semaine, un aquarium test est retiré du bain-marie ; les chironomes sont récupérés par tamisage et comptés ; une dizaine de larves sont également pesées, et leur taille est déterminée par analyse d'image, afin de calculer le taux de croissance. Les tubes digestifs sont obtenus par dissection sur 10 larves. Une aliquote de sédiment est également prélevée. Les chironomes et le sédiment sont ensuite lyophilisés. Un litre d'eau est prélevé et congelé au début et en fin de test.

- Essais sur gammares

Ces essais ont été conduits en général en deux phases, une phase d'exposition et une phase de dépuraction (Figure 2), avec renouvellement de l'eau. Plusieurs modalités d'exposition ont été testées en parallèle :

- Feuilles d'aulne enrichies sans sédiment (condition E1),
- Sédiment enrichi et feuilles non enrichies (condition E2).
- Un aquarium contenant du sédiment enrichi et des feuilles non enrichies mais aucun gammare (condition E3) a également été mis en place.

Des dispositifs d'encagement de gammares ont été implantés dans les aquariums avec des disques calibrés de feuilles d'aulne, pour déterminer les taux d'alimentation.

Ces essais ont été conduits sur deux semaines, sauf exception signalées dans la partie résultats : une semaine pour la phase d'accumulation, une autre pour la dépuraction. Trois cents gammares mâles sont introduits dans chaque aquarium (huit en tout, dont six pour l'exposition des gammares aux feuilles ou au sédiment enrichis). A la fin de la phase d'exposition, les gammares restants dans les aquariums tests sont transférés dans des aquariums contenant soit du sédiment non contaminé, soit des feuilles non contaminées. Une centaine de gammares sont prélevés à intervalle régulier dans les aquariums contenant du sédiment ou des feuilles enrichies, puis lyophilisés. La survie est déterminée par comptage à la fin de l'essai.

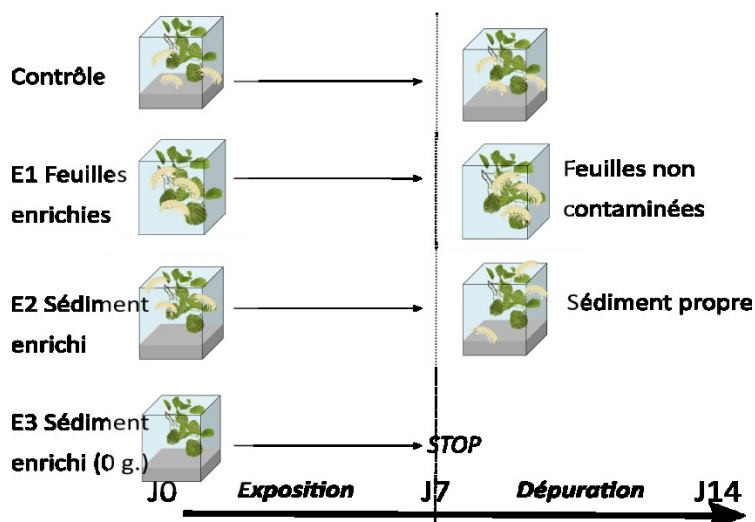


Figure 2- Design expérimental pour les essais sur gammare

Des aliquots de sédiment et de feuilles sont prélevés et lyophilisés dans les différents aquariums ; de même des échantillons d'eau sont collectés et congelés pour analyse.

- Essai sur Radix

Comme pour le gammare, cet essai est réalisé en deux phases (Figure 3) ; au terme de la première (phase d'exposition, 9 jours), les organismes exposés au sédiment enrichi sont transférés dans un aquarium contenant du sédiment non contaminé et laissés à dépurier pour une durée équivalente à la phase d'exposition, soit neuf jours. Le test a été réalisé à 13°C, avec une photopériode de 16:8 heures. Les organismes ne sont pas nourris pendant le test, ni d'ailleurs pendant la phase d'acclimatation : on suppose que le biofilm qui se forme sur les parois des aquariums ou en surface du sédiment leur suffit.

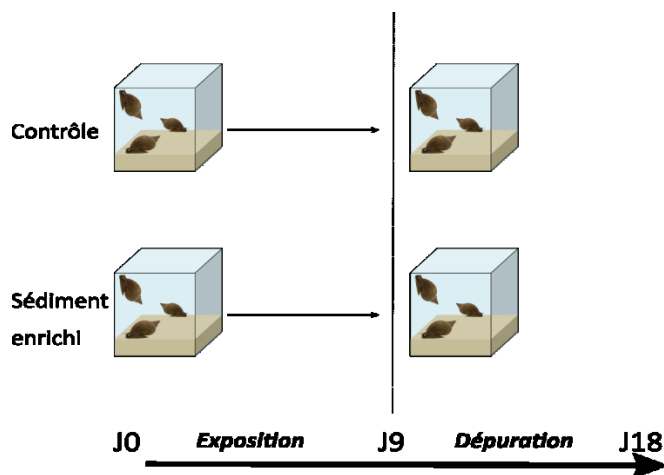


Figure 3- Design expérimental des essais sur Radix

Les Radix provenaient du même site que celui où sont collectés les gammare (St Maurice-de-Remens, 01). Au début de l'essai, 140 individus sont introduits dans les aquariums (un aquarium contrôle et trois aquariums exposés). La survie est déterminée par comptage à la fin de l'essai. Des individus sont prélevés à intervalle régulier pendant chaque phase, décoquillés, pesés et lyophilisés.

3.1.4 Analyse des contaminants

Toutes les analyses ont été réalisées au Laboratoire de Physico- et Toxicochimie de l'environnement (LPTC) de l'UMR EPOC à Talence (33), à l'exception du pentachlorobenzène, qui a été pris en charge par le laboratoire LDA (Valence, 26). Les méthodes appliquées sont résumées au Tableau 3.

Substance	Eau	Sédiment	Feuilles, organismes
PeCB	GC / MS	GC / MS (méthode dérivée de la norme XP X33012)	GC / MS (méthode dérivée de la norme XP X33012)
PCB 153	GC / ECD	GC / ECD	GC / ECD
HBCDD	LC/MS-MS	LC/MS-MS	LC/MS-MS
BDE 99	GC / ECD	GC / ECD	GC / ECD
Pyrène	GC / MS	GC / MS	GC / MS

Tableau 3 – Résumé des méthodes d'analyse

Les limites de détection et de quantification obtenues au cours des différentes expérimentations figurent en annexe (section **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

3.2 Cadre de modélisation

3.2.1 Cadre général

Pour rappel, si l'on considère l'organisme entier, sans distinguer les organes, le processus de bioaccumulation correspond à la différence nette entre un (ou plusieurs) flux entrants (absorption), et un ou plusieurs flux sortants (élimination).

Une extension de l'Équation 2 prenant en compte différentes voies d'absorption et d'élimination, sur la base de cinétiques de premier ordre, peut s'écrire :

$$\frac{dC(t)}{dt} = \sum_{i=1}^n (k_i \times C_i(t)) - \sum_{j=1}^p (k_j \times C(t))$$

Équation 3

avec $C(t)$ la concentration (ng g^{-1} , exprimée par rapport à la masse fraîche) dans l'organisme entier au temps t (en jours), n le nombre de sources de contaminants pour l'organisme, k_i le taux d'absorption pour la source de contamination i , $C_i(t)$ la concentration du contaminant dans la source i au temps t , p le nombre de voies d'élimination et k_j le taux correspondant au processus j .

Dans le modèle présenté précédemment (Équation 1 / Équation 2) on distinguait deux paramètres pour l'absorption par voie trophique, à savoir le taux d'ingestion (IR) et l'efficacité d'assimilation (AE) ; de fait $IR \times AE$ est équivalent au taux d'absorption k_i pour la source alimentaire en question. Comme on le verra par la suite, il peut s'avérer difficile d'estimer ces deux paramètres.

La croissance est considérée comme une voie d'élimination, dans la mesure où elle conduit à une dilution du contaminant. La biotransformation peut être vue comme un processus d'élimination ; cependant dans ce cas le modèle présenté ci-dessus ne prend pas en compte le devenir du (ou des) métabolites formés par ce processus. Ce point est discuté dans le paragraphe 3.2.2 ci-dessous.

Comme rappelé en introduction, cette équation générique ne prend pas en compte le transport actif à travers les membranes biologiques, pouvant conduire à saturation (ou dépendance à la concentration).

Le modèle générique ci-dessus peut être adapté au cas par cas, en fonction des connaissances disponibles sur l'organisme (mode d'alimentation) et le contaminant : par exemple pour décrire l'accumulation d'un contaminant hydrophobe comme le PCB 153 par le chironome, qui se nourrit en ingérant des particules de sédiment (Tachet *et al.*, 2010), on peut ne prendre en considération qu'une seule voie d'absorption (rôle négligeable de l'eau). En revanche, étant donné que la larve grossit rapidement, il est impératif de tenir compte de la croissance dans l'élimination.

3.2.2 Fonction de biotransformation

La biotransformation d'une substance se traduit par une voie d'élimination particulière, ce qui conduit à préciser l'Équation 3 en incluant un taux de métabolisation (noté k_m), comme indiqué ci-dessous (Équation 4, qui considère une seule voie d'absorption, par exemple à partir du sédiment). Ceci conduit à décomposer le modèle, en distinguant les deux phases. La phase de dépuration ($t > t_c$) est un cas particulier de l'équation générale, où l'exposition (C_s , ou C_w ...) est nulle :

Équation 4

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dC_p(t)}{dt} = (k_s \times C_s) - ([k_e + k_m] \times C_p(t)) \quad \text{pour } 0 < t < t_c \\ \frac{dC_p(t)}{dt} = -(k_e + k_m) \times C_p(t) \quad \text{pour } t > t_c \end{array} \right.$$

avec C_p la concentration du contaminant (« parent ») dans l'organisme, k_m le taux de métabolisation, et t_c le temps à la fin de cette phase d'exposition. La formation et l'élimination du métabolite peuvent être représentées par l'Équation 5 :

$$\frac{dC_m(t)}{dt} = (k_m \times C_p(t)) - (k_{em} \times C_m(t))$$

Équation 5

Où C_p et C_m représentent les concentrations du composé parent et du métabolite, et k_{em} est le taux d'élimination du métabolite.

Dans le cas où plusieurs métabolites sont formés, la constante de transformation du composé parent (k_m) est égale à la somme des constantes de formation des composés fils (k_{mi}), suivant (Kuo et Chen, 2016).

3.3 Ajustement des modèles aux données expérimentales par inférence bayésienne

Les paramètres toxicocinétiques peuvent être inférés des données expérimentales en ajustant un modèle à ces données. Classiquement, cet ajustement recourt à régression non linéaire (approche fréquentiste) ; celle-ci est souvent appliquée soit sur une seule phase (celle d'accumulation), soit en deux temps, en estimant d'abord le k_e sur les données de la phase de dépuración, puis en estimant les autres paramètres de la phase d'exposition en fixant le k_e obtenu précédemment. Ce type d'approche ne permet cependant pas d'évaluer correctement l'incertitude associée à l'estimation des paramètres.

Le cadre bayésien (basé sur le théorème de Bayes) permet de prendre en compte une information *a priori* sur les paramètres, à partir de données disponibles dans la littérature, d'estimer simultanément tous les paramètres de différents modèles, et à partir de données de nature différente, et d'obtenir la distribution de probabilité des paramètres estimés *a posteriori*. L'inférence bayésienne est réalisée à l'aide du logiciel JAGS et du package « rjags » du logiciel R en libre accès), dans lequel l'échantillonnage aléatoire pour les distributions de probabilité des paramètres est effectué par l'algorithme « Markov Chain Monte Carlo » (MCMC). La convergence de l'algorithme peut être testée en utilisant le critère de Gelman et la « qualité » de l'inférence (i.e. la précision de l'estimation des paramètres) estimée à partir de la représentation de la distribution *a posteriori* des paramètres (plus elle est resserrée, plus l'estimation est précise). L'ajustement du modèle aux données observées peut alors être visualisé en utilisant les valeurs médianes des distributions *a posteriori* des paramètres, ainsi que l'intervalle de crédibilité à 95% des prédictions (i.e. l'intervalle dans lequel on s'attend à avoir 95% des données). La qualité de l'ajustement peut être quantifiée par le critère d'information de déviation (DIC).

Les liens déterministes entre variables et paramètres, et les liens stochastiques entre données observées et simulées, peuvent être formalisés de manière graphique (Directed Acyclic Graph – DAG) comme sur la Figure 4. En l'occurrence il s'agit de la représentation graphique des modèles présentés dans la section 4.1 ci-après.

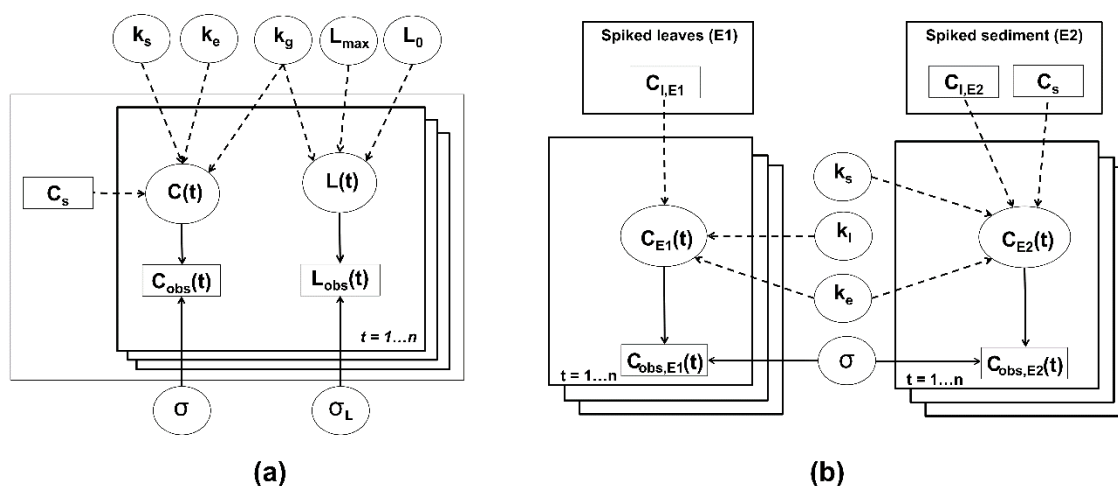


Figure 4 - Exemple de DAG (a) chironome ; (b) gammare

Les boites rectangulaires correspondent aux données observées, tandis que les ellipses représentent les paramètres ou les données simulées. Les flèches pointillées sont les liens déterministes, tandis que les flèches pleines correspondent aux liens stochastiques entre données observées et simulées.

Le code du modèle générique (langage de programmation R) figure en annexe (section 1.1).

4 Résultats

4.1 Construction du modèle : 1^{ère} étape, preuve de concept avec le PCB 153

Cette partie de l'étude est présentée sous forme d'un article soumis à *Ecotoxicology and Environmental Safety* dans lequel on trouvera si besoin des informations complémentaires.

4.1.1 Hypothèses

- Chironome

Le chironome vit au contact du sédiment, et se nourrit en ingérant des particules déposées à sa surface. L'élimination implique la dilution par la croissance (rapide en phase larvaire), ainsi que l'excrétion. L'Équation 3 peut être écrite ainsi :

$$\frac{dC(t)}{dt} = k_w \times C_w + k_s \times C_s - (k_e + k_g) \times C(t)$$

Équation 6

avec k_w le taux d'absorption par l'eau ($L \text{ g}^{-1} \text{ j}^{-1}$), C_w la concentration du contaminant dans l'eau (ng L^{-1}), k_s le taux d'absorption à partir du sédiment ($\text{g}_{\text{sed}} \text{ g}_{\text{org}}^{-1} \text{ j}^{-1}$), C_s la concentration du contaminant dans le sédiment (ng g^{-1} ps), k_e le taux d'élimination (j^{-1}) et k_g le taux de croissance (j^{-1}).

La croissance du chironome suit classiquement un modèle de von Bertalanffy :

$$L(t) = L_{\text{max}} - (L_{\text{max}} - L_0) \times e^{(-k_g \times t)}$$

Équation 7

où L représente la taille (mm, au temps 0 (éclosion ou début de la phase), t et max à l'asymptote.

Considérant le caractère très hydrophobe du PCB153 conduit à des concentrations dissoutes extrêmement basses, un modèle simplifié peut également être proposé :

$$\frac{dC(t)}{dt} = k_s \times C_s - (k_e + k_g) \times C(t)$$

Équation 8

- Gammares

Les gammares sont à la base des déchetiqueurs, se nourrissant de détritus, notamment la litière (Tachet *et al.*, 2010). Ils seront donc exposés aux contaminants via l'eau, la litière et les particules de sédiments, qui peuvent se déposer à la surface des feuilles composant la litière (Bertin *et al.*, 2016). En revanche, les gammares adultes ne grandissent pas pendant la durée d'une expérimentation (Galic et Forbes, 2017). L'Équation 3 peut alors être réécrite ainsi :

$$\frac{dC(t)}{dt} = k_w \times C_w + k_s \times C_s + k_l \times C_l - k_e \times C(t)$$

Équation 9

Avec k_l le taux d'absorption de contaminant à partir des feuilles ($\text{ng g}^{-1} \text{j}^{-1}$) et C_l la concentration de contaminant dans les feuilles en ng g^{-1} (pf) ; les autres variables ont été définies précédemment⁵.

Différentes variantes du modèle ci-dessus peuvent être testées pour tirer parti du design expérimental, qui permet de distinguer l'influence relative des voies d'exposition (Tableau 4). Pour ce faire, les données des deux modalités expérimentales (E1 : feuilles contaminées sans sédiment, E2 : sédiment enrichi et feuilles saines) sont exploitées pour l'ajustement des modèles, en forçant les taux d'absorption par une voie ou l'autre, comme indiqué dans la deuxième colonne du tableau.

⁵ On peut se reporter au tableau récapitulatif des variables et paramètres en section 6 page 41.

Hypothèse	Taux d'absorption	Equation du modèle (tenant compte des données expérimentales disponibles)
1. Exposition uniquement par l'eau	E1: $k_s=0, k_l=0$ E2: $k_s=0, k_l=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E2} - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$
2. Exposition uniquement par les feuilles	E1: $k_s=0, k_w=0$ E2: $k_s=0, k_w=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_l \times C_{l,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_l \times C_{l,E2} - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$
3. Exposition par les feuilles (E1) ou par le sédiment (E2)	E1: $k_s=0, k_w=0$ E2: $k_l=0, k_w=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_l \times C_{l,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_s \times C_s - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$
4. Exposition par les feuilles (E1) ou par le sédiment et les feuilles (E2)	E1: $k_s=0, k_w=0$ E2: $k_w=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_l \times C_{l,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_s \times C_s + k_l \times C_{l,E2} - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$
5. Exposition par l'eau et les feuilles	E1: $k_s=0$ E2: $k_s=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E1} + k_l \times C_{l,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E2} + k_l \times C_{l,E2} - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$
6. Exposition par l'eau et les feuilles (E1) ou par l'eau et le sédiment (E2)	E1: $k_s=0$ E2: $k_l=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E1} + k_l \times C_{l,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E2} + k_s \times C_s - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$
7. Exposition par l'eau et les feuilles (E1) ou par l'eau, les feuilles et le sédiment (E2)	E1: $k_s=0$	$\begin{cases} \frac{dC_{E1}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E1} + k_l \times C_{l,E1} - k_e \times C_{E1}(t) \\ \frac{dC_{E2}(t)}{dt} = k_w \times C_{w,E2} + k_s \times C_s + k_l \times C_{l,E2} - k_e \times C_{E2}(t) \end{cases}$

Tableau 4 – Hypothèses testées pour le gammare

- Radix

Ces organismes sont des mollusques gastéropodes pulmonés ; ils sont herbivores et détritivores (racleurs) (Tachet *et al.*, 2010), et par conséquent exposés essentiellement via la nourriture (biofilm en surface des végétaux et du sédiment, plus ou moins chargé en particules sédimentaires) et par l'eau. Toutefois, compte tenu du caractère hydrophobe du PCB153 l'exposition par l'eau n'est pas pertinente⁶

Leur croissance pendant la durée de l'expérimentation est négligeable.

$$\frac{dC(t)}{dt} = k_s \times C_s - k_e \times C(t)$$

Équation 10

⁶ En toute rigueur, cela aurait pu être testé comme dans le cas du gammare ; compte tenu des connaissances déjà acquises cela n'a pas été jugé nécessaire.

4.1.2 Données expérimentales pour le PCB153

- Essai chironome

Les concentrations en PCB153 mesurées dans l'eau au début de l'expérience s'élevaient à $0.077 \pm 0.009 \text{ ng L}^{-1}$ dans l'aquarium contrôle, et à $0.230 \pm 0.025 \text{ ng L}^{-1}$ dans les aquariums exposés. Ces concentrations ont augmenté jusqu'à $0.259 \pm 0.028 \text{ ng L}^{-1}$ (contrôle) et $3.85 \pm 0.420 \text{ ng L}^{-1}$ (aquariums exposés) à la fin de l'expérimentation. Les concentrations mesurées dans le sédiment de l'aquarium contrôle étaient de $1.01 \pm 0.25 \text{ ng g}_{\text{sed}}^{-1}$ (poids sec, ps) à J0, et de $83.3 \pm 20.8 \text{ ng g}_{\text{sed}}^{-1}$ (ps) dans le sédiment enrichi, à comparer à la concentration nominale de $100 \text{ ng g}_{\text{sed}}^{-1}$ (ps). En fin d'expérience on observait encore $89.6 \pm 22.4 \text{ ng g}_{\text{sed}}^{-1}$ (ps), signifiant que les concentrations dans le sédiment sont restées stables (vérifiées également avec un test de Wilcoxon). Comme attendu, les larves de chironomes ont rapidement accumulé le PCB153, de $0.089 \pm 0.031 \text{ ng}_{\text{org}} \text{ g}^{-1}$ (masse fraîche, pf) à J0 à $142 \pm 50.0 \text{ ng}_{\text{org}} \text{ g}^{-1}$ (pf) à J7.

Les taux de survie dans l'aquarium témoin et dans les aquariums exposés (76% et 88% respectivement) ont été satisfaisants. L'exposition des chironomes n'a eu aucun effet sur leur croissance.

- Essai gammare

Les taux de survie ont été élevés dans les différentes modalités : 91 à 93 % dans les aquariums témoin, 96 à 97% pour E1 et 94 à 96% pour E2. Les résultats des analyses de PCB153 dans les différents compartiments expérimentaux sont reportés au Tableau 5 ci-dessous. La concentration en PCB153 mesurée au début et à la fin du test dans l'eau de l'aquarium contrôle était de 0.1 ng L^{-1} . Elle passait de 0.3 ng L^{-1} à 0.1 ng L^{-1} dans la modalité E1 (feuilles contaminées), et de 0.1 ng L^{-1} à 0.8 ng L^{-1} dans la modalité E3 (sédiment contaminé + feuilles non contaminées sans gammares), suggérant des transferts limités de PCB153 vers l'eau dans les deux cas. De même on note un léger enrichissement des feuilles au contact du sédiment dans la modalité E3, bien moindre toutefois que dans la modalité E2 en présence de gammares, où la concentration dans les feuilles passe de $1.46 \pm 0.18 \text{ ng g}^{-1}$ (pf) à J0 à $44.9 \pm 12.7 \text{ ng g}^{-1}$ (pf) à la fin de l'exposition (J7).

Jours	Eau (ng L^{-1})			Feuilles (ng g^{-1} pf)			Sédiment (ng g^{-1} ps)		
	0	7	14	0	7	14	0	7	14
Contrôle	0.10	-	0.10	1.46 ± 0.18	1.13	1.09	0.29 ± 0.22	-	0.21 ± 0.11
E1	0.30	0.10	0.10	260 ± 6.07	245 ± 30.1	3.86	-	-	-
E2	0.10	0.20	< LD	1.46 ± 0.18	44.9 ± 12.7	1.72 ± 0.01	56.6 ± 8.68	30.0 ± 3.12	0.23 ± 0.12
E3	0.10	0.80	-	1.46 ± 0.18	5.52 ± 0.87	-	56.6 ± 8.68	45.1 ± 1.44	-

Tableau 5 – Concentrations de PCB 153 dans les différentes matrices expérimentales de l'essai gammare (écart-types des répliques indiqués quand disponibles)

L'exposition des gammares soit aux feuilles enrichies (E1), soit au sédiment enrichi (E2) conduit à des concentrations accumulées à J7 quasi identiques entre les deux modalités (10.84 ng g^{-1} pf et 11.23 ng g^{-1} pf respectivement). Les concentrations décroissent rapidement pendant la phase de dépuraction, pour atteindre à J14 4.71 ng g^{-1} (pf) et 6.41 ng g^{-1} (pf) pour E1 et E2 respectivement.

- Essai Radix (exposition conjointe au PCB 153 et au BDE 99, cf. ci-dessous)

Les taux de survie dans les aquariums témoin et test ont été de 91 % pendant la phase d'exposition au sédiment enrichi, mais seulement de 75% et 62 % respectivement pendant la phase de dépuraction, en raison probablement d'un problème de qualité de l'eau de réalimentation des aquariums.

Les résultats des analyses de sédiment sont reportés au Tableau 6 : l'enrichissement a été efficace, puisque la concentration en PCB153 est proche de la concentration nominale (50 ng g^{-1} ps). Par ailleurs cette concentration reste stable durant la phase d'exposition. La concentration de PCB153 dans le sédiment témoin témoigne du bruit de fond anthropique ; les mesures faites dans le sédiment des aquariums test en phase de dépuraction sont peu variables, et restent faibles par rapport aux concentrations d'exposition.

Les concentrations dans l'eau sont très faibles, proches (inférieures ou égales) de la LQ, qui varie de 0.01 ng L⁻¹ à 0.19 ng L⁻¹ au cours de la séquence (Tableau 6).

Temps	Eau (ng L ⁻¹)		Sédiment (ng g ⁻¹ ps)	
	Témoin	Test	Témoin	Test
J0	0.03	0.06	0.41	49.7
J2		0.05		56.0
J4		0.07		48.6
J9	(0.03)	(0.03)	0.33	55.0
J11				0.44
J14		(0.04)		0.79
J18	(0.06)	(0.04)	0.57	0.72

Tableau 6 – Concentrations de PCB153 dans l'eau et les sédiments de l'essai Radix

On trouve 0.31 à 0.38 ng g⁻¹ (poids sec) dans les coquilles de Radix des aquariums test à J0 et J18 respectivement, et une concentration légèrement plus élevée (2.06 ng g⁻¹ ps) dans les coquilles de Radix exposés, à J9. Les Radix témoin présentent une concentration faible dans les tissus mous : 0.27 ng g⁻¹ (pf), 0.40 ng g⁻¹ (pf) et 0.82 ng g⁻¹ (pf) à J0, J9 et J18 respectivement. La cinétique d'accumulation chez les Radix exposés est présentée Figure 5).

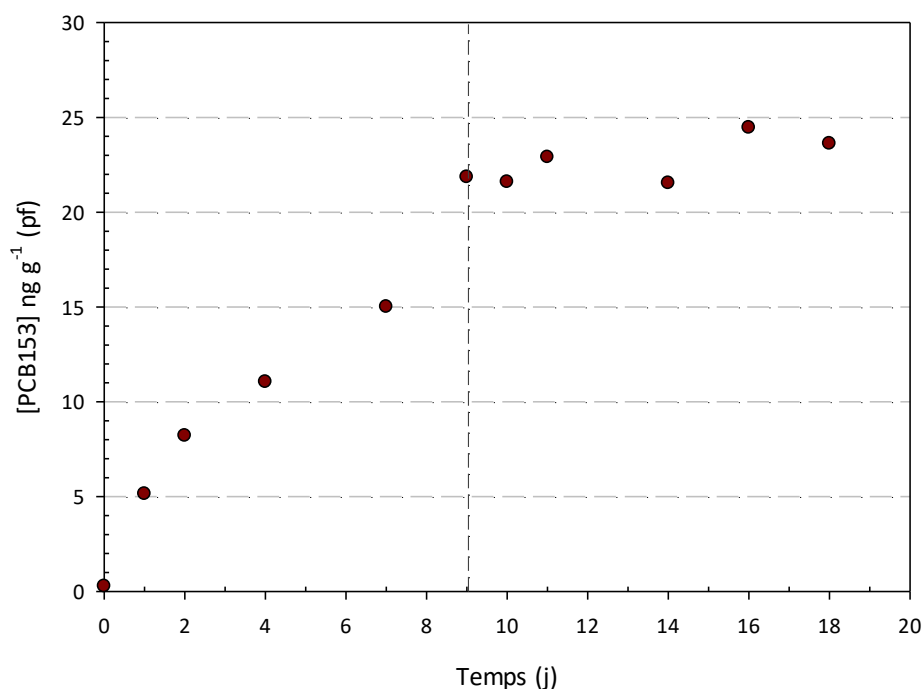


Figure 5 – Cinétique d'accumulation du PCB153 par le Radix

L'arrêt d'exposition des Radix au sédiment enrichi ne se traduit pas par une diminution des concentrations tissulaires ; on notera toutefois que dans le même temps la concentration de PCB153 dans les Radix témoin a légèrement augmenté, ce qui suggère que le peu de PCB153 contenu dans le sédiment témoin (qui est aussi celui présent dans les aquariums test en phase de dépuración) est biodisponible, ce qui réduit légèrement le flux éliminé.

4.1.3 Résultats de l'ajustement des modèles et discussion

▪ Chironome

Les distributions marginales *a posteriori* obtenues pour les deux options (Équation 6 - modèle complet, ou Équation 8) sont similaires, de même que les DIC : 87.66 dans le cas du modèle représenté par l'Équation 6, 87.71 dans celui de l'Équation 8. Selon le principe de parcimonie, il convient alors de privilégier le modèle utilisant le plus petit nombre de paramètres, donc l'Équation 8 (exposition au sédiment seulement).

Le processus d'inférence a convergé rapidement, et les distributions *a posteriori* des paramètres sont étroites, ce qui indique que les données expérimentales apportent suffisamment d'information pour obtenir une information précise sur la valeur des paramètres. Les valeurs médianes des paramètres et leurs intervalles de crédibilité sont résumés dans le Tableau 7 ci-dessous.

Les prédictions du modèle s'ajustent bien aux données expérimentales (Figure 6) : deux points expérimentaux sur 8 sortent (légèrement) de l'intervalle de crédibilité à 95% pour l'accumulation du PCB (Figure 6 –a), et 24 points sur 90 pour la croissance (Figure 6 – b), ce qui suggère une sous-estimation de l'incertitude.

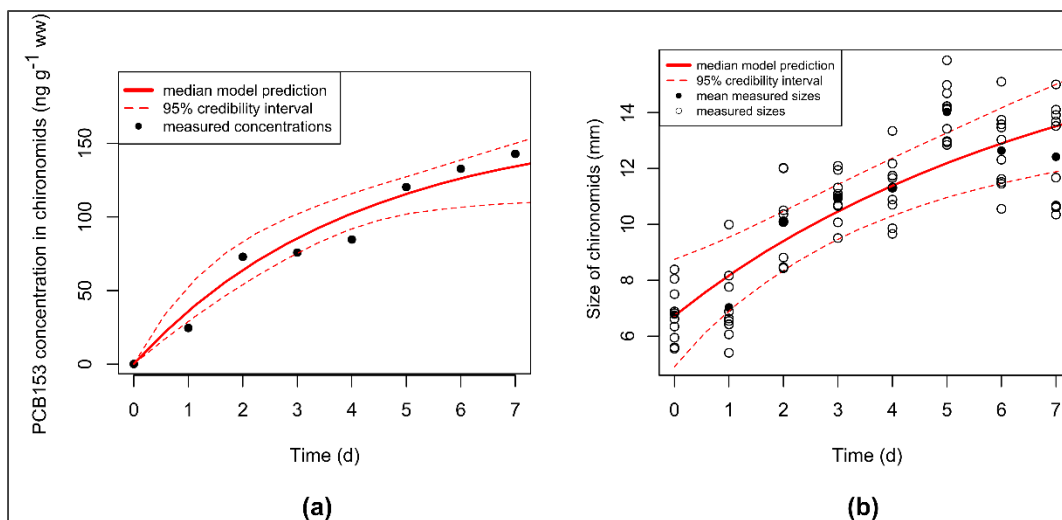


Figure 6 – Ajustement du modèle (Équation 8) aux données expérimentales pour le chironome : (a) accumulation du PCB 153 ; (b) croissance

Chez *Chironomus tentans*, Schuler et al. ont déterminé en 2003 un k_s égal à $1.30 \pm 0.014 \text{ g}_{\text{sed}}^{-1} \text{ g}_{\text{org}} \text{ jr}^{-1}$, et un k_e moyen égal à $0.264 \pm 0.006 \text{ jr}^{-1}$ (Schuler et al., 2003), soit des valeurs plus élevées que celles obtenues ici, notamment pour k_s (Tableau 7). Ces écarts peuvent trouver leur origine dans plusieurs éléments :

- Espèce différente : les larves de *C. tentans* sont notamment plus grosses que celles de *C. riparius* (Watts et Pascoe, 2000) ;
- La prise en compte de la dilution par la croissance, négligée par (Schuler et al., 2003) ;
- Les conditions expérimentales, notamment une période d'exposition réduite et un sédiment moins contaminé dans le cas de (Schuler et al., 2003).

Le taux de croissance médian estimé ici est plus faible que ceux reportés dans des expériences précédentes dans notre laboratoire, de 0.355 (Péry et al., 2002) à 1.72 (Bertin et al., 2014), ce qui souligne l'intérêt de le prendre en compte.

▪ Gammare

Les valeurs de DIC les plus basses correspondent aux modèles impliquant les feuilles ou le sédiment (hypothèses 3, 4, 6 et 7 dans le Tableau 4 ci-dessus). Les distributions marginales *a posteriori* pour chaque paramètre sont similaires pour les modèles correspondant aux hypothèses 3, 4 et 6. En revanche, la distribution marginale *a posteriori* pour le modèle correspondant à l'hypothèse 7 comprend deux pics pour k_l et k_s , ce qui signifie que considérer l'eau comme une source de contamination n'apporte pas d'information pertinente pour l'estimation de ces paramètres. Cette conclusion est cohérente avec l'observation de concentrations de PCB153 jusqu'à 10^4 fois plus élevées dans les feuilles ou le sédiment que dans l'eau (Tableau 5). Ceci conduit logiquement à écarter aussi le modèle correspondant à l'hypothèse 6. Parmi les deux hypothèses restantes, dont les modèles affichent des DIC voisins, il convient, par souci de parcimonie, de

privilégier celle pour laquelle le modèle est le plus simple, donc ici celui de l'hypothèse 3, dans lequel on ne cherche pas à déterminer de transfert du PCB153 du sédiment aux feuilles.

Le processus d'inférence a convergé rapidement, et des distributions postérieures marginales étroites sont obtenues. Les valeurs des paramètres toxicocinétiques chez le gammare exposé au PCB153 sont reportées au Tableau 7.

Organisme	Paramètre	Médiane	Percentiles	
			2.5%	97.5%
Chironomus riparius	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.473	0.359	0.804
	k_e (j ⁻¹)	0.121	0.041	0.392
	k_g (j ⁻¹)	0.123	0.029	0.356
Gammarus fossarum	k_l (ng g ⁻¹ jr ⁻¹)	0.013	0.010	0.016
	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.071	0.057	0.087
	k_e (j ⁻¹)	0.178	0.131	0.229
Radix spp.	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.047	0.044	0.050
	k_e (j ⁻¹)	0.0000007	0.0000000002	0.004

Tableau 7 – Paramètres toxicocinétiques relatifs à l'accumulation du PCB153 par *C. riparius* et *G. fossarum*

L'ajustement du modèle aux données expérimentales est présenté Figure 7. Entre 75% et 80% des points expérimentaux selon les conditions expérimentales se situent à l'intérieur de l'intervalle de crédibilité à 95%, ce qui suggère ici aussi une légère sous-estimation de l'incertitude.

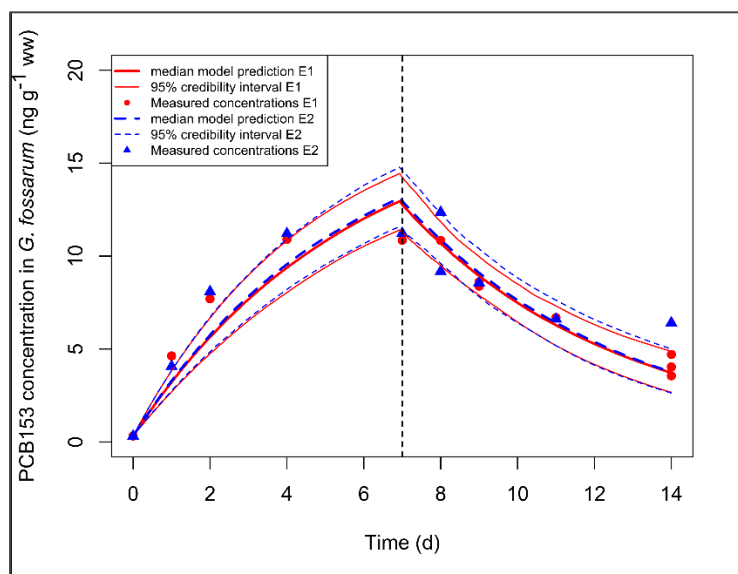


Figure 7- Ajustement du modèle aux données expérimentales pour le gammare (conditions E1 et E2)

A notre connaissance, l'accumulation de PCB153 par le gammare à partir de la nourriture n'a jamais été étudiée, interdisant toute comparaison des taux d'absorption ou d'élimination. De même, nous n'avons pas trouvé de données sur l'accumulation de PCB par la hyalèle (*Hyalella azteca*), un crustacé amphipode fréquemment utilisé en écotoxicologie.

- Radix

Dans ce cas également, le processus d'inférence a convergé rapidement, et une distribution postérieure marginale étroite est obtenue pour k_s . C'est aussi le cas pour k_e : la distribution a posteriori est fortement asymétrique, la plus forte densité étant voisine de 0 ; en d'autres termes, il faudrait étendre le temps de dépuration pour vérifier l'importance de la dépuration. Les valeurs des paramètres toxicocinétiques chez le Radix exposé au PCB153 sont reportées au Tableau 7.

4.2 Deuxième étape : de l'intérêt de déterminer le taux d'ingestion et l'efficacité d'assimilation ?

Dans la première étape de développement exposée au paragraphe précédent, le taux d'absorption à partir de la nourriture (ou du sédiment, qui est assimilable à une source de nourriture) a été estimé directement, sans distinguer ses deux composantes, le taux d'ingestion et l'efficacité d'assimilation, comme dans le modèle original (Équation 1).

Le taux d'ingestion (*IR*) correspond à la quantité moyenne de nourriture que peut ingérer un individu. Le taux d'ingestion varie selon le mode d'alimentation des espèces, et aussi selon la concentration de nourriture ou la masse de l'organisme (Reinfelder *et al.*, 1998). Une formule empirique reliant *IR* à la masse des organismes et à la teneur en matière organique est parfois utilisée pour les organismes ingérant des particules de sédiment pour se nourrir (Casado-Martinez *et al.*, 2009a; Reinfelder *et al.*, 1998). D'autres approches impliquent le marquage de la nourriture avec des composés radioactifs (Caillot, 1970; Hirabayashi, 1998) ou fluorescents (Romito *et al.*, 2010; Wästlund, 1999), ou par dissection et pesée sur microbalance (Brooke *et al.*, 1996).

L'assimilation est un processus physiologique, résultant du passage d'un contaminant à travers la membrane digestive. L'efficacité d'assimilation varie en fonction de l'espèce et du contaminant : elle représente la fraction du contaminant ingéré qui passe dans les tissus de l'organisme (Reinfelder *et al.*, 1998). Ce paramètre est difficile à quantifier : il est possible de le faire sur une base expérimentale, en utilisant des composés marqués (Casado-Martinez *et al.*, 2009b; Janssen *et al.*, 2010; Reinfelder *et al.*, 1998). En pratique cette approche a surtout été appliquée aux éléments trace, et nécessite des équipements spécialisés. Une autre possibilité consiste à recueillir les fèces, et à y analyser le contaminant d'intérêt ; l'AE est alors obtenue par différence entre le flux ingéré et le flux excrété (Wang et Fisher, 1999). On comprend que cette approche est impraticable avec des organismes benthiques, pour lesquels les fèces seront impossibles à différencier du sédiment (Janssen *et al.*, 2010). Ces difficultés ont conduit dans certains cas à considérer que l'AE peut être estimée à partir de l'équation du modèle biodynamique (Équation 1), dès lors que tous les autres paramètres sont connus.

Les méthodes recourant au marquage par des composés radioactifs n'étant pas applicables dans notre laboratoire, des approches alternatives ont été testées pour *Chironomus riparius* et *Gammarus fossarum*.

4.2.1 Approche expérimentale

- Chironome

La méthode choisie consiste à disséquer des chironomes sous loupe binoculaire pour récupérer leurs tubes digestifs. Les tubes digestifs sont ensuite pesés sur une ultra-micro balance afin de déterminer la teneur moyenne en nourriture qu'ils contiennent.

Dans chaque bécher, 10 larves au stade 4 (x 5 répliques) ont été placées pendant sept jours avec du sédiment témoin ou du sédiment contaminé. La dissection, opérée sur boîte de Pétri préalablement pesée, consiste à arracher la tête du chironome pour récupérer le tube digestif. Les tubes digestifs sont poolés par 10 et pesés frais sur une microbalance (moyenne de 20 pesées). Le disque est ensuite placé à l'étuve à 60°C pendant 24h et pesé à nouveau. Selon (Brooke *et al.*, 1996), le tube digestif du chironome représente 14.8 % à 24.5 % de la masse totale de la larve.

L'*IR* ($\text{mg mg}^{-1} \text{ j}^{-1}$) sur la durée du test correspond au rapport entre l'accroissement de masse du chironome et celui des tubes digestifs. Les résultats obtenus sont reportés au Tableau 8.

	Masses chironomes (mg, moy./10)		Tubes dig. (mg, moy./10)		IR 7 jours
	T0	T7	T0	T7	
Essai I					0.23 – 0.44
Essai II	2.97	11.04	0.77	2.15	0.17
Essai III	1.05	3.10 (⁷)	0.36	1.19	0.41

Tableau 8 – Taux d'ingestion estimés pour les chironomes – essais I (PeCB), II (PCB153) et III (HBCDD)

⁷ Essai sur 4 jours

Cette méthode est plus accessible que la méthode du marquage. Ses résultats restent cependant incertains, car elle tend à surestimer le taux d'ingestion, dans la mesure où le tube digestif n'était pas nécessairement vide au début de l'exposition.

- Gammare

Le taux d'ingestion des gammares peut être déterminé en mesurant la quantité de feuilles d'aulne consommées par les gammares. Cette méthode consiste pratiquer un test d'alimentation⁸ dans les aquariums exposés au contaminant. Le test consiste à nourrir 20 gammares avec 20 disques de feuilles d'aulne calibrées (2.2 cm de diamètre) placés dans un système d'encagement (4 répliques par condition). Les feuilles pouvant être attaquées par des micro-organismes, il convient aussi de mettre en place un témoin avec 10 disques de feuilles et sans gammares. A la fin du test, les feuilles sont récupérées et scannées, tandis qu'on mesure la taille des gammares. Les scans des disques de feuilles sont ensuite traités avec un logiciel d'analyse d'image. La valeur moyenne de consommation individuelle exprimée en mm² j⁻¹ par individu peut être convertie en masse consommée (mg), à partir de la masse moyenne (ps) des disques de feuille. Le taux d'ingestion, exprimé en mg mg⁻¹ j⁻¹, correspond à la masse consommée rapportée au poids moyen d'un individu.

Le test d'alimentation doit être réalisé en parallèle dans les aquariums témoin sans contaminant et dans les aquariums exposés au contaminant. En effet, le contaminant peut avoir un effet inhibiteur sur le taux d'ingestion (Forrow et Maltby, 2000; Wilding et Maltby, 2006).

Les données de consommation de feuilles ont été recueillies au cours de cinq essais successifs ; bien qu'elles aient été collectées sur toute la durée des tests, on ne s'intéressera ici qu'à celles directement exploitables pour l'estimation des taux d'ingestion, en phase d'accumulation des gammares exposés (N=37 répliques pour cinq essais) et leurs témoins respectifs (N=33 répliques). Les distributions respectives figurent au Tableau 9 ci-dessous.

	Min.	1 ^{er} quartile	Médiane	Moyenne	Ecart-type	3 ^{ème} quartile	90 ^{ème} percentile	Max.
Témoins	16.74	20.00	26.96	26.30	6.52	30.61	36.56	38.92
Exposés	8.28	25.31	29.14	29.34	7.76	32.21	36.40	47.37

Tableau 9 – Surface de feuille consommée par individu de gammare (mm²)

La surface de disques consommée apparaît assez variable, avec un intervalle interquartile d'environ 10 mm² chez les témoins, ou 7 mm² chez les gammares exposés. Les deux distributions sont gaussiennes (test de Shapiro-Wilk).

Cette variabilité est aussi observable entre les essais (Tableau 10 ; il a été estimé que la détermination des quartiles n'était pas faisable pour des effectifs <5). Dans ce tableau, la valeur attendue est déterminée par la température de l'eau et la taille des gammares (Coulaud *et al.*, 2011) ; cette valeur peut être comparée à la moyenne, et sert principalement à estimer le % d'inhibition dans le test d'alimentation. Ce paramètre n'est pas directement utile ici, sinon à vérifier que les témoins se sont nourris normalement – ce qui est le cas puisque les valeurs attendues se situent dans l'intervalle de confiance autour de la moyenne des témoins, à l'exception de l'essai I (PeCB). Toutefois, dans ce cas le test alimentation a été réalisé sur deux jours au lieu de sept.

⁸ Protocole standardisé interne au laboratoire ; cf. Coulaud R, Geffard O, Xuereb B, Lacaze E, Quéau H, Garric J, Charles S, Chaumot A (2011). In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. *Water Research*, **45** : 6417-6429.

Essai	I	II	III	IV	V
N	9	4	4	8	8
Minimum	16.89	24.21	21.39	16.74	19.17
1^{er} quartile	18.42			21.65	27.19
Médiane	19.93	26.24	32.93	25.74	30.80
Moyenne	21.61	26.82	31.35	26.04	29.06
Ecart type	5.24	2.76	7.38	7.30	5.61
3^{ème} quartile	22.91			30.20	33.30
90^{ème} percentile	28.69			33.01	33.75
Maximum	32.40	30.61	38.14	38.92	33.81
Valeur attendue	29.70	29.06	31.35	28.79	31.57

Tableau 10 – Distribution des surfaces de feuille consommées ($\text{mm}^2 \text{individu}^{-1} \text{j}^{-1}$) par les gammares témoin par essai (I : PeCB ; II : PCB153 ; III : HBCDD ; IV : BDE99 ; V : pyrène)

Lorsqu'on compare les surfaces consommées par les gammares témoins et les gammares exposés test par test, il n'apparaît pas de différence significative (tests de Mann-Whitney) ; l'exposition aux contaminants n'a donc pas eu d'effet sur l'alimentation des gammares.

A titre indicatif, compte tenu d'une masse moyenne de 15.31 mg (ps) par disque de feuille d'une surface de 380 mm^2 , et d'une masse sèche moyenne de 6.14 mg (ps) par gammare (Duvillard, 2018), l'IR moyen pour l'ensemble des témoins tous essais confondus est égal à 0.157 ± 0.060 (témoins) ou 0.154 ± 0.068 (exposés), des valeurs inférieures à celle estimée par J. Lebrun et al. ($0.25 \pm 0.03 \text{ mg mg}^{-1} \text{ jr}^{-1}$) pour des gammares de l'espèce *G. pulex* nourris avec des feuilles de charme et exposés également à des PBDE (Lebrun *et al.*, 2014). Wilding et Maltby avaient pour leur part noté un IR égal à $0.28 \pm 0.01 \text{ mg mg}^{-1} \text{ jr}^{-1}$ chez les témoins de l'espèce *G. pulex* dans le cadre d'une exposition au zinc (Wilding et Maltby, 2006).

En pratique, l'IR devrait être déterminé pour chaque essai, ce qui permettrait aussi de vérifier s'il y a un effet du contaminant sur le taux d'alimentation de l'organisme testé.

4.2.2 Prise en compte du taux d'ingestion dans les modèles

L'efficacité d'assimilation (AE) est donc un processus physiologique de premier ordre, qui représente également directement la biodisponibilité d'une substance (Wang et Fisher, 1999) – mieux que tous les proxies qui s'appliquent aux concentrations de ces substances dans les matrices environnementales.

Outre une revue détaillée des méthodes de détermination de l'AE chez les invertébrés aquatiques, (Wang et Fisher, 1999) rapporte un certain nombre de valeurs d'AE pour des contaminants métalliques et organiques, notamment pour des copépodes (*Acartia tonsa*, *Temora longicornus*), des amphipodes (*Diporeia* spp.), des oligochètes (*Lumbriculus variegatus*, *Limnodrilus hoffmeisteri*), la moule zébrée (*Dreissena polymorpha*) et une espèce de clam (*Macoma nasuta*), ainsi qu'un gastéropode (*Potamopyrgus antipodarum*). Les contaminants organiques concernés incluent le DDT, deux HAP (benzo(a)pyrène, fluoranthène), deux PCB (un tétra- et un hexachlorobiphényle), ainsi que l'hexachlorobenzène. La plupart des valeurs d'AE compilées dans cette revue sont comprises entre 10% et 50%, avec quelques valeurs extrêmes (1%, 80-90%).

Plus récemment, Janssen *et al.* ont estimé pour les PCB (moyenne de plusieurs congénères) une AE de 2 à 10% chez le polychète *Neanthes arenaceodentata*, à partir de l'ajustement de leurs données expérimentales à un modèle biodynamique, sachant que les autres paramètres étaient connus (Janssen *et al.*, 2010).

La connaissance des AE peut être utile si l'on souhaite prendre en considération la biodisponibilité d'un contaminant dans différentes matrices / sources de nourriture. Si ce n'est pas le cas, i.e. si le taux d'absorption suffit pour la question traitée, le respect du principe de parcimonie suggère de laisser ce paramètre de côté dans le modèle.

Dans le cas de l'expérimentation initiale avec le gammare exposé au PCB153, on a mesuré un IR égal à $26.82 \pm 2.76 \text{ mm}^2/\text{gammare}/\text{j}$, soit converti en masse $0.2376 \pm 0.0489 \text{ mg mg}^{-1} \text{ j}^{-1}$. Cette donnée peut être prise en compte dans le meilleur modèle présenté au § 4.1 ci-dessus, en considérant pour ce paramètre une distribution gaussienne dont la moyenne et l'écart type sont ceux présentés ici.

Les sorties du modèle incluent alors non seulement le k_s et le k_e , comme précédemment, mais également l'IR et l'AE, puisque le coefficient d'absorption à partir des feuilles (k_l) est égal au produit IR*AE. Les résultats obtenus sont reportés au Tableau 11 ci-dessous.

Organisme	Paramètre	Médiane	Percentiles	
			2.5%	97.5%
Gammarus fossarum	AE	0.053	0.035	0.093
	IR	0.237	0.141	0.333
	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.071	0.057	0.087
	k_e (j ⁻¹)	0.178	0.131	0.229

Tableau 11 - Paramètres toxicocinétiques ajustés pour PCB153 chez le gammare

Le modèle tenant compte des données expérimentales pour l'IR a d'aussi bonnes performances que lorsqu'on estime seulement k_l ; le produit AE*IR est d'ailleurs quasi égal à la valeur de k_l reportée au Tableau 7.

L'AE estimée par déduction pour le PCB153 est égale à 5.3%. Cette valeur est nettement plus basse que la borne inférieure de la gamme d'AE d'un hexachlorobiphényl⁹ (36-52%) compilées par (Wang et Fisher, 1999) pour l'amphipode *Diporeia* sp. La méthode conduisant à ce résultat tenait compte de la concentration accumulée et du taux d'ingestion, plus ou moins similaire à ce que nous avons tenté ici. En revanche (Janssen *et al.*, 2010) estime l'AE du polychète *N. arenaceodentata* exposé à un sédiment contaminé par des PCB¹⁰ entre 6 et 10% au bout de 28 jours. Le résultat que nous avons obtenu ne paraît pas absurde, et pas moins incertain que ceux publiés jusqu'ici, eu égard aux biais méthodologiques des différentes méthodes possibles.

Par contre il apparaît clairement contre-indiqué d'utiliser directement des valeurs d'IR et a fortiori d'AE tirées de la littérature.

4.3 Troisième étape : prise en compte de la biotransformation

Au départ, il était envisagé d'étudier ce processus à l'aide de l'expérimentation sur le BDE99, dont le principal métabolite est le BDE47, chez certaines espèces de poisson (Stapleton *et al.*, 2004b) et de crustacés (Bodin *et al.*, 2007). Il a été suggéré, à partir d'observations de terrain, que ce processus pouvait intervenir chez le gammare (Tiili *et al.*, 2012). Comme on le verra plus loin, les concentrations de BDE47 obtenues après exposition de gammares et Radix à du BDE99 se sont avérées insignifiantes (i.e. entre LD et LQ).

C'est pourquoi une deuxième expérimentation a été réalisée avec le pyrène, dont le principal métabolite (1-hydroxy-pyrène, noté OH-PYR par la suite) a pu être mis en évidence chez différentes espèces d'invertébrés benthiques : polychètes (Rust *et al.*, 2004), mollusques bivalves (Rust *et al.*, 2004) ou crustacés amphipodes (Carrasco-Navarro *et al.*, 2015 ; Rust *et al.*, 2004).

Par ailleurs, une étude assez récente a exploré la métabolisation de 15 substances organiques chez *Gammarus pulex*, en combinant approche expérimentale et modélisation toxicocinétique (Ashauer *et al.*, 2012). Nous avons repris une partie de ces données expérimentales et comparé les résultats de la modélisation toxicocinétique originale avec les paramètres déterminés selon notre approche.

4.3.1 Détermination du k_m

Dans la littérature, le taux de métabolisation (k_m) a principalement été déterminé de deux façons (Kuo et Chen, 2016) :

- par différence entre la somme des constantes des processus d'élimination autres que la biotransformation (par ex. croissance) et la constante d'élimination totale (Van der Linde *et al.*, 2001). Les constantes connues (ou supposées connues) peuvent être obtenues expérimentalement, ou être estimées par modélisation (Arnot *et al.*, 2008 ; Arnot *et al.*, 2009). L'incertitude sur la constante de biotransformation dépend de celle sur les autres constantes. Il est d'ailleurs possible d'obtenir des valeurs négatives dans certains cas (jusqu'à 30% chez les poissons, selon (Arnot *et al.*, 2008).
- par mesure *in vitro*, sur lignée cellulaire (Gobas et Lo, 2016; Laue *et al.*, 2014; Lo *et al.*, 2016; Nichols *et al.*, 2016).

⁹ Non spécifié

¹⁰ Mélange non détaillé.

al., 2013). Ce type d'approche a essentiellement été appliqué au poisson, pour lequel il existe des lignées cellulaires (hépatocytes). L'extrapolation à l'individu entier ou à d'autres espèces est cependant délicate ou incertaine.

L'application de modèles toxicocinétiques pour inférer le k_m par approche fréquentiste s'apparente à une détermination par différence ; ainsi par exemple (Carrasco-Navarro *et al.*, 2015) commencent par déterminer k_w et k_e (total) en ajustant les données expérimentales de la phase d'accumulation à un modèle à deux compartiments. La valeur du taux d'élimination des métabolites est obtenue en ajustant les concentrations de métabolites durant la phase de dépuration à une fonction exponentielle décroissante. Ils déterminent également un taux d'élimination global (composé parent + métabolite) et un taux de disparition du composé parent ; le taux d'élimination du composé parent (k_{ep}) correspond à la différence entre taux d'élimination global et taux d'élimination des métabolites, tandis que k_m correspond à la différence entre le taux de disparition du composé parent et k_{ep} .

Plutôt qu'appliquer une démarche analytique par étapes successives, (Ashauer *et al.*, 2012) ont cherché à résoudre numériquement les équations par minimisation des moindres carrés, selon l'algorithme de Levenberg–Marquardt, en ajustant simultanément tous les paramètres. Dans quelques cas cependant il leur a fallu fixer la valeur de k_w pour que la solution puisse être trouvée.

Plus récemment, (Kuo et Chen, 2016) ont également proposé d'inférer directement le taux de métabolisation par modélisation, en exploitant des données collectées dans des tests standardisés de bioconcentration ou de bioaccumulation. Ils proposent un cadre de modélisation, dans lequel ils considèrent (i) une concentration stable du composé parent dans le milieu d'exposition, et (ii) l'absence du métabolite dans ce même milieu d'exposition au début du test. Cette double simplification permet de trouver une solution analytique au système d'équations qu'ils présentent, analogue à la première partie de l'Équation 4, à laquelle ils ajoutent une équation cinétique pour le métabolite :

$$\frac{dC_m(t)}{dt} = k_{prod} \times C_p(t) - k_{em} \times C_m(t)$$

Équation 11

Dans cette équation k_{prod} représente le taux de formation d'un métabolite à partir du composé parent (les autres termes ont été définis précédemment). Ce taux k_{prod} est équivalent au taux de métabolisation k_m s'il y a un seul métabolite ; dans le cas où plusieurs métabolites sont formés, k_m correspond à la somme des produits $k_{prod,i} \cdot \zeta_i$, où ζ_i représente le rapport stœchiométrique entre le métabolite i et le composé parent.

Dans cette étude, (Kuo et Chen, 2016) ont ajusté les données de concentration du ou des métabolites par minimisation des moindres carrés, afin d'estimer les taux de métabolisation (k_m) et d'élimination (k_{em}) des métabolites. Pour les composés parent, ils ont soit utilisé les paramètres toxicocinétiques originaux¹¹, soit ajusté séparément.

Dans la suite du présent rapport, nous avons adapté la démarche présentée par (Kuo et Chen, 2016) au cadre bayésien, afin de pouvoir estimer simultanément tous les paramètres toxicocinétiques, pour le composé parent et ses métabolites.

4.3.2 Résultats (modèle) et discussion

Pour traiter cette question, nous avons repris plusieurs publications présentant des données expérimentales sur l'accumulation et la biotransformation de substances chimiques chez des invertébrés benthiques :

- a. Pyrène (PYR) et hydroxy-pyrène (OH-PYR) chez le polychète marin *Nereis diversicolor*, dans le contexte d'une recherche de marqueurs d'exposition aux HAP, et de développement d'une approche analytique (Giessing *et al.*, 2003) ;
- b. PYR et OH-PYR chez le gammare *Gammarus setosus*, une espèce marine arctique, exposé à 2°C et 8°C à $\approx 2 \mu\text{g L}^{-1}$ de pyrène (Carrasco-Navarro *et al.*, 2015).

¹¹ Leur article portait sur le développement d'un cadre de modélisation, et ne contenait pas de donnée expérimentale originale

Plusieurs résultats tirés de l'étude d'(Ashauer *et al.*, 2012) sur *G. pulex* déjà citée ont aussi fait l'objet d'essais d'application de modélisation avec notre approche. L'intérêt de cette série d'essais est qu'elle permet de comparer deux approches de modélisation :

- c. Aldicarbe, qui se transforme avec un métabolite unique, l'aldicarbe sulfone ;
- d. Carbofuran, qui se transforme avec un métabolite unique, l'hydroxy-carbofuran (OH-carbofuran) ;
- e. Carbaryl, qui se transforme avec un métabolite unique, le naphthol-sulfate ;
- f. Chlorométhyl-1 nitro-4 benzène, pour lequel (Ashauer *et al.*, 2012) ont observé trois métabolites, dont un seul est identifié, le Nitro 4 –benzène.

Ces expérimentations ont impliqué une exposition à du sédiment enrichi pour *N. diversicolor*, et par l'eau pour *G. pulex*.

- Les polychètes ont été exposés au pyrène à raison de 136 $\mu\text{g g}^{-1}$ (ps) pendant 9 jours ($N=6$ béchers * 5 vers et 2 béchers témoins) avec renouvellement. Un bécher a été stoppé chaque jour de J1 à J5, puis un dernier à J9. En complément, la dépendance du taux de métabolisme à la concentration d'exposition¹² a été testée en exposant des vers à 1, 20, 50 et 100 $\mu\text{g g}^{-1}$ (ps) pendant cinq jours. Les extraits de tissus ont subi une dé-conjugaison enzymatique du métabolite (glycuronate ou sulfate) avant analyse. Observant un déclin des concentrations accumulées à $> 50 \mu\text{g g}^{-1}$ (ps), les auteurs s'interrogent sur l'effet du pyrène sur le taux d'alimentation de *N. diversicolor*. En raison de ce probable effet toxique, ils ne concluent pas sur l'induction de la biotransformation. Le 1-OH-pyrène est l'unique métabolite du pyrène chez plusieurs espèces de polychètes ; sa formation implique le cytochrome P450. L'article ne rapporte pas de taux d'absorption, de métabolisation ou d'élimination.
- *G. setosus* ont été exposés en statique via l'eau à une concentration à 2% de la solubilité du pyrène, pendant 96 h, puis laissés à dépurier pour la même durée.
- (Ashauer *et al.*, 2012) ont utilisé des molécules radio-marquées. Les gammares ont été exposés via l'eau pendant 24 h à 80.7 $\mu\text{g L}^{-1}$ (aldicarbe) et 4.65 $\mu\text{g L}^{-1}$ (carbofuran); puis est intervenue une phase de dépuration de durée variable (3 jours pour l'aldicarbe, 6 pour le carbofuran). Les organismes étaient nourris (feuilles) pendant le test, et les auteurs ont vérifié que l'absorption par cette voie était négligeable dans les conditions du test.

Tenant compte des conditions d'exposition résumées ci-dessus, les équations des modèles dérivés de ceux présentés à la section 3.2.2 ci-dessus (i.e. Équation 4 et 5) sont les suivantes :

$$\left[\begin{array}{l} \frac{dC_p(t)}{dt} = C_w \times k_w - (k_m + k_{ep}) \times C_p(t) \\ \frac{dC_m(t)}{dt} = k_m \times C_p(t) - k_{em} \times C_m(t) \end{array} \right. \quad \begin{array}{l} \text{Équation 12} \\ \text{Équation 13} \end{array}$$

Avec C_p la concentration du composé parent dans l'organisme, C_w sa concentration dans l'eau, k_w le taux d'absorption à partir de l'eau ; k_m et k_{ep} désignent le taux de métabolisation et celui de dépuration du composé parent respectivement (cf. Equations 4 et 5). Dans le cas d'une exposition via le sédiment, il suffit de remplacer C_w et k_w par C_s et k_s dans l'Équation 12. L'Équation 13 décrit la cinétique du métabolite, avec C_m sa concentration dans l'organisme, et k_{em} son taux d'élimination.

L'application de ces équations permet de simuler de manière satisfaisante l'accumulation des composés parents et des métabolites, ainsi que leur élimination dans le cas de *G. pulex* (Figure 8). Le modèle converge rapidement, et la distribution *a posteriori* des paramètres est plus resserrée que la distribution *a priori*, signifiant que les données apportent suffisamment d'information pour estimer correctement les paramètres du modèle.

¹² Terme employé par les auteurs ; en fait ils cherchaient à démontrer une induction de la biotransformation.

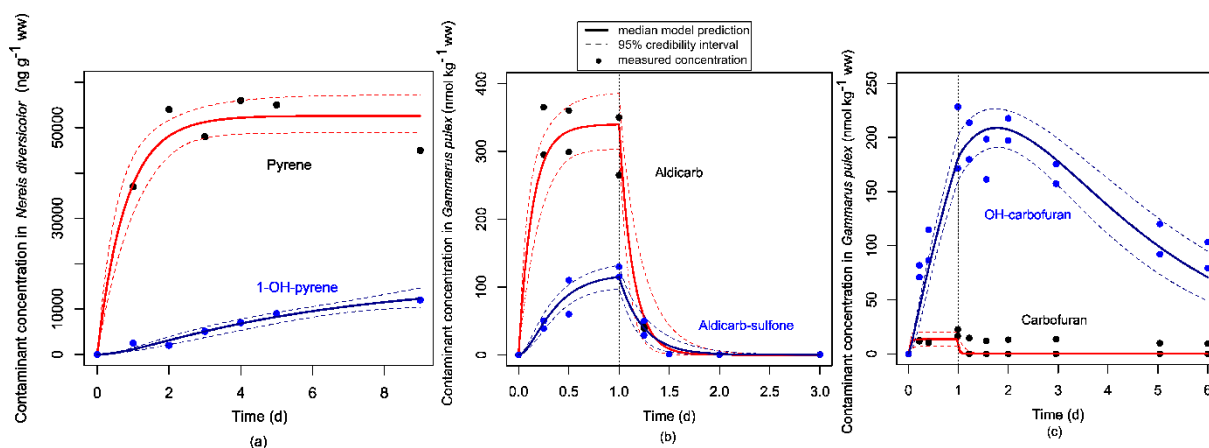


Figure 8 – Concentrations observées (points) et prédites (courbes) pour différentes substances (rouge) et leurs principaux métabolites (bleu) chez *N. diversicolor* et *G. pulex*

L'application au cas d'une substance pour laquelle *G. pulex* produit plusieurs métabolites se fait aussi aisément (Figure 9, Chlorométhyl-1 nitro-4 benzène). La convergence s'effectue rapidement. Les distributions *a posteriori* marginales de chacun des paramètres sont plus précises comparées aux distributions *a priori*. Cela signifie que les données expérimentales apportent suffisamment d'information pour estimer correctement les paramètres.

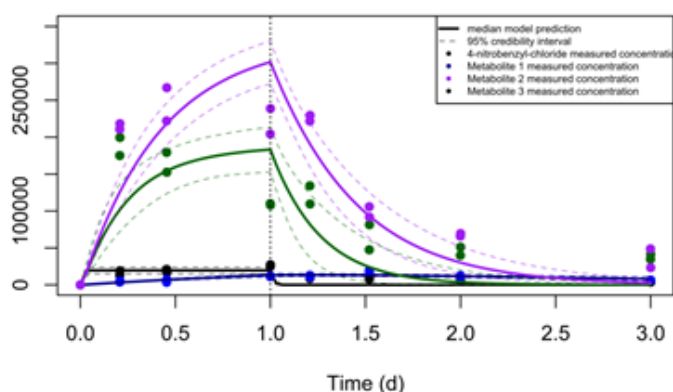


Figure 9 – Cinétiques d'accumulation et élimination du Chlorométhyl-1 nitro-4 benzène et de ses métabolites (en $\text{nmol kg}^{-1} \text{ pf}$)

Les taux d'absorption et d'élimination respectifs estimés par inférence bayésienne selon les équations 10 et 11 (modèle B, avec [intervalles de crédibilité 2.5-97.5%]) sont présentés au Tableau 12, en regard des taux reportés dans les publications originales (modèle O, [intervalles de confiance]); pas d'estimation des paramètres chez (Giessing *et al.*, 2003).

	<i>N. diversicolor</i> / pyrène	<i>G. pulex</i> / Aldicarbe		<i>G. pulex</i> / carbofuran		<i>G. pulex</i> / Carbaryl	
Paramètre	Modèle B	Modèle O	Modèle B	Mod. O	Mod. B	Mod. O	Mod. B
k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.49 [0.34-0.69]	-	-	-	-	-	-
k_w (L kg _{org} ⁻¹ j ⁻¹)	-	9.86 [6.8-12.9]	4.02 [2.29-8.29]	4930 [0-595904]	30.0 [4.15-75.2]	23.4 [n.a.]	28.41 [19.34-53.41]
k_{ep} (j ⁻¹)	1.25 [0.84-1.85]	9.31 [5.1; 13.6]	2.17 [0.08-8.12]	7063 [0; 878858]	48.1 [6.21-97.0]	2.26 [1.4-3.1]	2.99 [0.70-9.08]
k_m (j ⁻¹)	0.05 [0.03-0.08]	2.05 [0.8; 3.3]	2.29 [1.25-3.96]	16.22 [0; 32.6]	16.6 [11.1-34.5]	3.36 [2.4-4.4]	2.84 [2.25-3.60]
k_{em} (j ⁻¹)	0.18 [0.0005-0.38]	6.19 [2.3; 10.0]	5.89 [3.54-9.73]	0.16 [0.12; 0.20]	0.396 [0.34-0.46]	0.09 [0.05-0.13]	0.33 [0.27-0.40]

G.pulex / Chlorométhyl-1 nitro-4 benzène

	k_w (L kg _{org} ⁻¹ j ⁻¹)	k_{ep} (j ⁻¹)	$k_m(1)$ (j ⁻¹)	$k_{em}(1)$ (j ⁻¹)	$k_m(2)$ (j ⁻¹)	$k_{em}(2)$ (j ⁻¹)	$k_m(3)$ (j ⁻¹)	$k_{em}(3)$ (j ⁻¹)
Mod. O	576 [n.a.]	31.23 [0-90]	0.86 [0-4.2]	0.28 [0-3.4]	42.5 [0-111]	4.13 [2.2-6.1]	44.3 [0-115]	2.46 [1.8-3.2]
Mod. B	474 [349-1007]	13.33 [2.56-126.8]	0.89 [0.64-1.25]	0.56 [0.41-0.74]	38.35 [22.74-68.47]	3.94 [2.32-7.34]	40.91 [29.97-57.43]	2.39 [1.88-3.06]

Tableau 12 – Comparaison des paramètres cinétiques obtenus avec différentes approches de modélisation pour le pyrène, l’aldicarbe et le carbofuran

Dans les cas de l’aldicarbe et du carbofuran, les valeurs de k_m obtenues par (Ashauer *et al.*, 2012), et dans une moindre mesure celles de k_{em} , sont similaires à celles obtenues par inférence bayésienne ; les bornes hautes des intervalles de crédibilité ou de confiance sont également similaires¹³, mais l’incertitude est globalement moins grande avec l’approche bayésienne (bornes inférieures plus proches de la valeur centrale). En revanche, les valeurs estimées des constantes des composés parent sont plus éloignées, en particulier pour le carbofuran, qui est plus fortement métabolisé.

Le cas du carbaryl est un peu différent, dans la mesure où (Ashauer *et al.*, 2012) ont dû fixer la valeur de k_w pour arriver à faire converger le modèle et estimer les autres paramètres¹⁴. C’est pourquoi ils ne peuvent pas déterminer d’intervalle de confiance pour le k_w (Tableau 12). Les autres paramètres présentent des valeurs similaires, mais systématiquement plus faibles que celles obtenues par inférence bayésienne. (Ashauer *et al.*, 2012) estiment que l’absorption du carbaryl par voie alimentaire représente 10% de l’absorption totale, en utilisant des valeurs d’IR et d’AE tirées de la littérature (respectivement 0.25 g j⁻¹ par g de gammare et 0.4), alors que pour la plupart des autres composés testés elle ne serait que de 1% (en utilisant les mêmes valeurs d’IR et d’AE). Ces éléments confirment l’intérêt de l’approche par inférence bayésienne, qui a permis d’ajuster les données d’observation au modèle et d’estimer les paramètres toxicocinétiques sans biais, tout en obtenant une estimation de l’incertitude.

La contribution de la voie trophique ne semble pas être en cause dans le cas du chlorométhyl-1 nitro-4 benzène, pour lequel (Ashauer *et al.*, 2012) ont aussi dû fixer la valeur de k_w pour arriver à faire converger le modèle et estimer les autres paramètres. Les valeurs de paramètres estimés par inférence bayésienne sont assez comparables à celles de la publication originale, sauf pour le k_w et pour le taux d’élimination du métabolite M1 (Tableau 12, 2^{ème} partie). Les distributions *a posteriori* dans l’approche bayésienne tendent à être plus étroites que les intervalles de confiance d’(Ashauer *et al.*, 2012) sans que cela soit vrai pour tous les paramètres. Cela pourrait être dû à ce que l’inférence bayésienne tient compte des autocorrélations entre paramètres, ce qui n’est pas le cas dans l’approche implémentée par (Ashauer *et al.*, 2012). L’incertitude est

¹³ En tout état de cause, ces deux notions n’ont pas la même signification : en bayésien il y a une probabilité de 95% de trouver la bonne valeur dans cet intervalle, en fréquentiste n répétitions donneront une valeur dans l’intervalle dans 95% des cas.

¹⁴ Il ne s’agit en l’occurrence pas d’une valeur arbitraire, mais d’une valeur reprise d’une publication précédente de la même équipe.

cependant assez élevée dans les deux approches, probablement en raison d'une quantité de données limitée par rapport au nombre de paramètres à estimer.

4.4 Application à des composés halogénés

4.4.1 Pentachlorobenzène

Du point de vue de la chronologie, ce composé a été testé en premier, sur deux organismes (*C. riparius* et *G. fossarum*), avec du sédiment enrichi. Plusieurs problèmes ont été rencontrés au cours de ces essais, ce qui a permis d'améliorer la conception des essais suivants ; les données recueillies, de qualité insuffisante, ne sont pas reportées ici. Un essai complémentaire a été fait, dans le but de vérifier la faisabilité de doper les feuilles. Cette fois les données obtenues étaient de qualité suffisante, et sont présentées ci-après.

Les disques de feuilles d'aune préalablement trempées ont été enrichis à l'aide d'une solution de PeCB à 0.01 mg L⁻¹. Les disques ont été renouvelés tous les deux jours, afin de maintenir l'exposition à un niveau stable sinon parfaitement constant. L'essai a comporté une première phase d'exposition de six jours, suivie après transfert des gammars dans des aquariums propres d'une phase de dépuraction de six autres jours.

Les concentrations de PeCB mesurées dans les feuilles étaient de 391 ng g⁻¹ (ps) à J0, 259 ng g⁻¹ (ps) à J2, et 847 ng g⁻¹ (ps) à J4. Les gammars affichent des concentrations de PeCB entre 41.2 ng g⁻¹ (pf) au bout de 12 heures à 143 ng g⁻¹ (pf) au bout de six jours, avant transfert pour la phase de dépuraction (Figure 10). Dans l'eau le PeCB est resté <LD à tous les temps échantillonnés. Chez les gammars, les concentrations semblent atteindre un plateau, puisque les concentrations à trois, cinq et six jours d'exposition sont similaires. Après transfert dans des aquariums propres et alimentation par des feuilles non dopées, les concentrations de PeCB diminuent rapidement, sans toutefois revenir au niveau des témoins au bout de six jours.

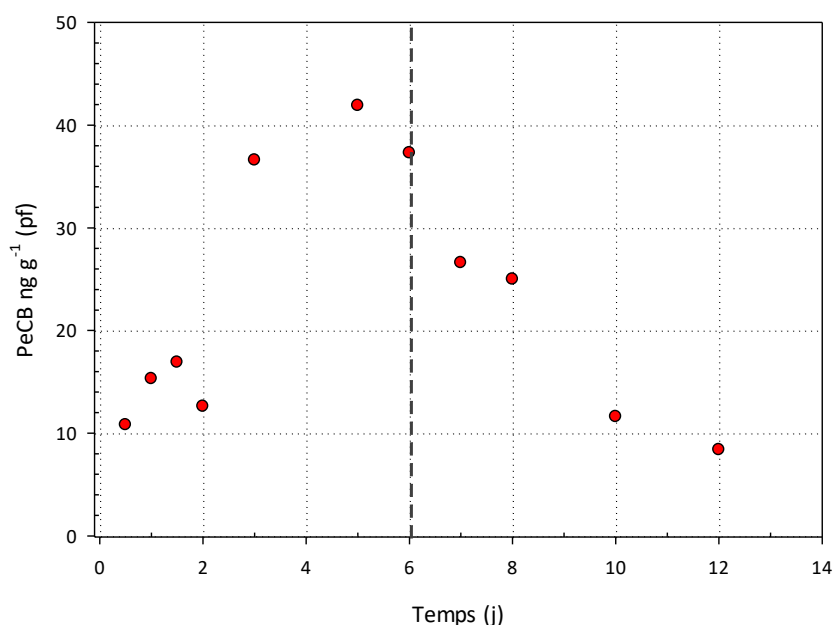


Figure 10 – Cinétique d'accumulation du PeCB par le gammare

Le modèle choisi est un des modèles testés pour l'accumulation du PCB 153 chez le gammare (cf. Tableau 4 page 23, hypothèse 4 condition E1). La convergence est rapide et les distributions marginales a posteriori sont plus étroites que les distributions a priori. On obtient une valeur médiane du taux d'absorption à partir des feuilles (k_i) égale à 0.03 ng g⁻¹ j⁻¹ (intervalle de crédibilité 2.5% - 97.5% 0.02 – 8.38) et une médiane du taux d'élimination (k_e) de 0.30 j⁻¹ (intervalle de crédibilité 2.5% - 97.5% 0.20 – 0.43).

Le k_i est donné à titre indicatif, l'exposition uniquement aux feuilles étant plutôt irréaliste. En revanche la valeur du k_e nous paraît pertinente.

4.4.2 Hexabromocyclododécane (HBCDD)

- Hypothèses

Les principaux isomères de l’HBCDD sont nettement hydrophobes ($\log K_{ow}$ entre 5.65 et 6.34), et par conséquent les voies d’exposition seront similaires à celles du PCB153 : par ingestion de particules de sédiment dans le cas du chironome, et par consommation de particules de sédiment déposées à la surface des feuilles dans le cas du gammare.

Les proportions relatives des principaux isomères diffèrent entre le mélange technique (prédominance de l’isomère γ) et les matrices environnementales, notamment divers organismes aquatiques, chez qui prédomine l’isomère α (Covaci *et al.*, 2006). Plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer ce changement (Law *et al.*, 2006) : absorption sélective (Zhang *et al.*, 2014), métabolisme isomère-spécifique (Zegers *et al.*, 2005) ou bio-isomérisation (Du *et al.*, 2012; Szabo *et al.*, 2010). Le premier mécanisme impacterait le taux d’absorption, les deux derniers s’apparentent à des mécanismes de biotransformation. Si le changement de proportion des isomères intervenait entre le sédiment (enrichi avec le mélange technique) et le gammare, le modèle devrait pouvoir distinguer les différents isomères ; cependant, cette distinction n’est pas forcément nécessaire, puisque dans certains cas la prédiction de Σ HBCDD peut suffire.

- Essai chironome

Les taux de survie étaient de 98% et 90% dans les aquariums témoin et test, respectivement. Les larves de chironome ont grandi de 5.5 mm (moyenne sur 20 larves) à T0, à 7.9 mm au quatrième jour (moyenne sur 10 individus), soit une taille identique à celle des témoins.

L’enrichissement du sédiment visait une concentration nominale de 5 ng g⁻¹ (ps, Σ HBCDD). Les concentrations mesurées sont reportées au Tableau 13 ci-dessous. Bien qu’apparemment le niveau de contamination du sédiment reste stable sur quatre jours, on peut noter des variations dans la distribution des isomères. Les larves de chironomes accumulent modérément l’HBCDD au cours des quatre jours, en particulier l’isomère γ , majoritaire dans le sédiment.

		J0				J4			
		α	β	γ	Σ	α	β	γ	Σ
Eau (ng L ⁻¹)	témoin	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
	test	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD	<LD
Sédiment (ng g ⁻¹ ps)	témoin	<LD	<LD	<LD	<LD	0.42	<LD	<LD	0.42
	test	0.52 (0.11)	0.22	3.99 (1.98)	4.73 (1.97)	0.94 (0.28)	0.26	2.37 (0.35)	3.43 (0.10)
Chironome (ng g ⁻¹ pf)	témoin					<LD	<LD	<LD	<LD
	test	0.13	<LD	0.06	0.19	0.15	0.03	0.76	0.94

Tableau 13 – Concentrations d’HBCDD (isomères α , β et γ et total) dans les sédiments et les chironomes – Moyennes de deux mesures (écart-types)

La cinétique d’accumulation par le chironome atteint apparemment un plateau dès le deuxième jour (

Figure 11). Les données collectées ne suggèrent pas de changement des proportions respectives des isomères, notamment α et γ , durant l’accumulation. Le modèle (Équation 8) s’ajuste aisément aux données expérimentales (

Figure 11), mais les distributions *a posteriori* sont larges (cf. Tableau 15), indiquant que la quantité d'information fournie n'est pas suffisante. Compte tenu du faible nombre de points de mesure de la cinétique, ce résultat était malheureusement probable.

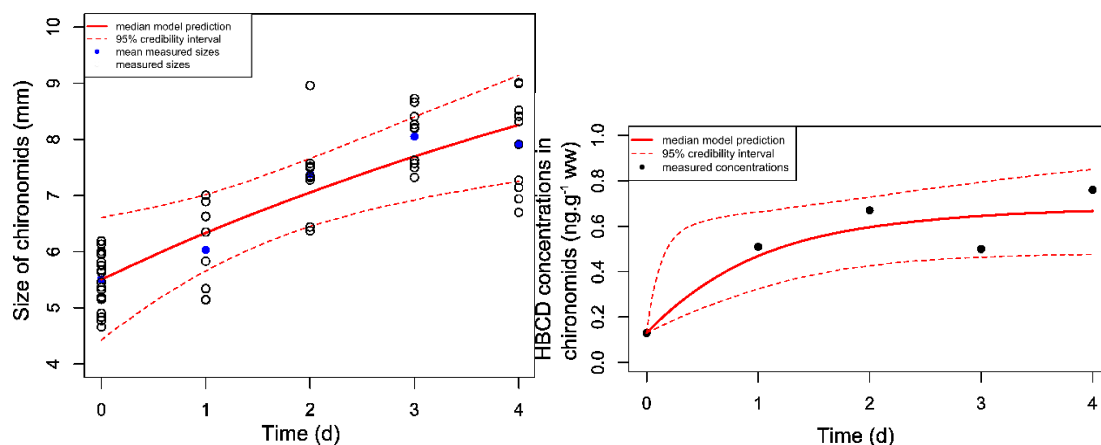


Figure 11- Cinétiques de croissance (à gauche) et d'accumulation de l'HBCDD (somme des isomères, à droite) chez le chironome

▪ Essai gammare

Cet essai a duré 18 jours au total, en deux phases d'égale longueur pour l'accumulation puis la dépuration, après transfert des gammars restants dans un aquarium contenant du sédiment non contaminé. Le sédiment des aquariums contaminés a été enrichi à une concentration nominale de 10 ng g^{-1} (ps ΣHBCDD). Le schéma d'exposition a été simplifié, et était équivalent à la modalité E2 (exposition au sédiment, feuilles non contaminées) de l'essai PCB (cf. aussi Figure 2).

La survie des gammars a été excellente : 89% et 87% dans les aquariums témoin et test respectivement à la fin de la phase d'accumulation, et 79% - 85% à la fin de la phase de dépuration. L'HBCDD est resté indétectable dans l'eau des aquariums. Les concentrations des isomères dans le sédiment ont décliné pendant la phase d'accumulation (Tableau 14), et seul l'isomère α a été détecté (0.48 ng g^{-1} ps) dans ce compartiment au début de la phase de dépuration. Une partie de l'HBCDD introduit par enrichissement du sédiment a été transférée aux feuilles pendant la première partie du test (Tableau 14), indiquant que la diminution des concentrations dans le sédiment n'est pas uniquement due à la dégradation de l'HBCDD. L'isomère α est mesuré dans les feuilles pendant la phase de dépuration (0.52 ng g^{-1} ps à J10 – 0.23 ng g^{-1} ps à J18).

On note également (i) la présence de β HBCDD dans les gammars témoins à une occasion, et celle d' α HBCDD dans tous les échantillons témoins ; en revanche le γ HBCDD est systématiquement $<LD$ dans ces échantillons. Chez les gammars exposés, la concentration d'isomère γ augmente (0.23 ng g^{-1} pf) rapidement au tout début de l'exposition, avant de se stabiliser autour de 0.12 ng g^{-1} pf ; en revanche cet isomère n'est pas détecté dans les gammars en phase de dépuration. L'isomère α est par contre présent (entre ≈ 0.07 et 0.13 ng g^{-1} pf) dans tous les échantillons de gammars, et pendant les deux phases (Figure 12). En phase de dépuration ΣHBCDD correspond uniquement à l'isomère α . Il convient cependant de noter que la plupart des concentrations se situent entre la LD (0.05 ng g^{-1} pf) et la LQ (0.15 ng g^{-1} pf).

		J0				J9			
		α	β	γ	Σ	α	β	γ	Σ
Eau (ng L ⁻¹)	témoïn	<LD	<LD	<LD	-	<LD	<LD	<LD	-
	test	<LD	<LD	<LD	-	<LD	<LD	<LD	-
Sédiment (ng g ⁻¹ ps)	témoïn	<LD	<LD	<LD	-	<LD	<LD	<LD	-
	test	1.54 (0.11)	0.31	11.99 (3.10)	13.68 (2.74)	0.75	<LD	6.66	7.41
Feuilles (ng g ⁻¹ ps)	témoïn					<LD	<LD	<LD	-
	test	<LD	<LD	<LD	-	0.56 (0.15)	0.24	11.56 (0.59)	12.23 (0.61)
Gammare (ng g ⁻¹ pf)	témoïn					<LD	<LD	<LD	-
	test	0.06	<LD	<LD	0.06	<LD	<LD	0.12 (0.00)	0.12

Tableau 14 - Concentrations d'HBCDD dans l'eau, les feuilles d'aulne et les sédiments au début et à la fin de la phase d'accumulation- moyennes (écart-types) sur deux mesures

L'absence de γ HBCDD pendant la dépuración, conjointement à la présence d' α HBCDD pourrait éventuellement s'expliquer par une métabolisation (bio-isomérisation) se mettant en place rapidement après le début de l'exposition. Néanmoins la baisse de la concentration de Σ HBCDD dès le deuxième jour d'exposition ne va pas dans ce sens, tandis que la présence d' α HBCDD dans les feuilles pendant la phase de dépuración (Tableau 14 : entre 0.11 ng g⁻¹ pf au début de la dépuración et 0.05 ng g⁻¹ à la fin)¹⁵ pourrait suffire à expliquer la contamination des gammares par cet isomère, pendant la dépuración sinon pendant les deux phases de l'expérimentation. Les mesures d' α -HBCDD dans les feuilles étant toutes situées entre la LD et la LQ, les valeurs sont seulement indicatives.

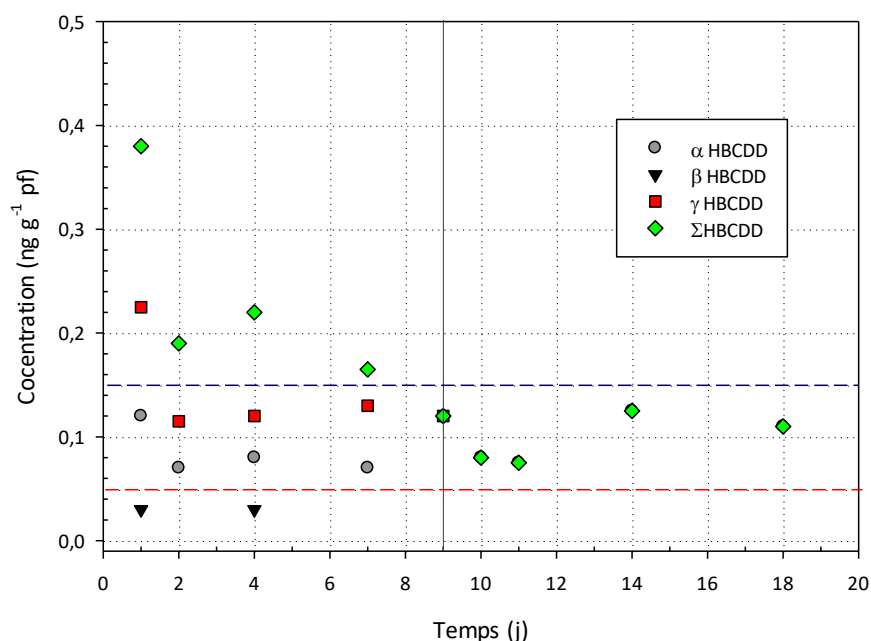


Figure 12 – Concentrations d'HBCDD (isomères α , β , γ et somme) dans les gammares pendant l'accumulation (jusqu'à 9 jours) et la dépuración (9 à 18 jours) ; ligne pointillée bleue : LQ ; ligne pointillée rouge : LD

¹⁵ Il s'agissait bien de feuilles collectées dans un site rural éloigné, séchées et stockées au laboratoire et utilisées après trempage pendant 24 h dans de l'eau de forage. La contamination de ces feuilles correspond à un bruit de fond « naturel » ou propre au laboratoire (cf. Babut M, Ferrari BJD, Lauzent M, Simonnet-Laprade C, Labadie P, Budzinski H (2016). Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poissons d'eau douce - Facteurs d'amplification trophique pour l'hexabromocyclododécane, le perfluorooctane sulfonate et les polybromodiphényléthers, Onema.

Une autre hypothèse expliquant l'augmentation rapide du γ HBCD au début de la phase d'exposition, suivie d'une baisse avant même le début de la dépuración, serait la formation d'hydroxy-HBCDD (OH-HBCD). Ce type de biotransformation a déjà été observé chez la souris (Szabo *et al.*, 2010). Cette hypothèse n'a pu être vérifiée, et la différence entre les concentrations à J1 et J2 est assez faible, en limite de significativité.

Dans un premier temps, les données expérimentales ont été ajustées selon l'Équation 9, en fixant $k_w = 0$. Le modèle converge rapidement, mais les distributions a posteriori des paramètres sont étalées par rapport aux distributions a priori : la qualité de l'information apportée par les données expérimentales reste faible.

Organisme	Paramètre	Médiane	Percentiles	
			2.5%	97.5%
Chironomus riparius	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.186	0.056	13.843
	k_e (j ⁻¹)	0.258	0.00002	73.623
	k_g (j ⁻¹)	0.173	0.090	0.958
Gammarus fossarum	k_l (ng g ⁻¹ jr ⁻¹)	0.167	0.00002	1.03
	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.170	0.00002	1.06
	k_e (j ⁻¹)	26.5	0.438	91.3

Tableau 15 – Paramètres toxicocinétiques obtenus pour Σ HBCDD

Cette expérimentation ne s'est pas révélée conclusive : l'accumulation a été faible, à des niveaux de concentration restant proches de la LQ, et il n'a pas été possible de vérifier l'hypothèse de biotransformation. Le caractère ubiquiste du composé, induisant notamment une contamination des feuilles servant de nourriture aux gammarus, complique également l'interprétation, ainsi que la modélisation.

4.4.3 BDE99

- Hypothèses

Le log K_{ow} du BDE99 (6.84) signale une substance très hydrophobe, quoique moins que le PCB153 (log $K_{ow} = 7.2$) ; nous avons donc considéré que les voies d'exposition étaient identiques : les gammarus seront exposés aux contaminants via la litière (feuilles) et surtout les particules de sédiments, qui peuvent se déposer à la surface des feuilles composant la litière. Compte tenu de l'objectif de repérer une éventuelle métabolisation du BDE99, il nous a paru préférable de mettre en place un montage expérimental complet, comme dans le cas du PCB153. La taille ne varie pas pendant la durée de l'expérimentation (14 jours).

Dans le cas des Radix, comme pour l'essai PCB153 (conjoint dans ce cas) rapporté plus haut, l'exposition se fait par le sédiment.

Par ailleurs, nous avons posé l'hypothèse (i) que le gammarus (*G. fossarum*) et le Radix étaient capables de débromer le BDE99 (penta-bromé), et que cette débromation aboutirait à la formation de BDE47.

- Essai gammarus

L'expérimentation a été réalisée selon le schéma résumé par la Figure 2, en deux phases de 7 jours chacune. Le sédiment des aquariums test de la phase d'exposition était enrichi à raison d'une concentration nominale de 3 ng g⁻¹ (ps) ; les feuilles enrichies ont été contaminées à la même concentration nominale (3 ng g⁻¹ ps).

La survie des gammarus a été correcte à excellente dans les deux phases de l'expérimentation, dans tous les aquariums témoins (77% - 86% pour les témoins feuilles 0-7 jours et 7-14 jours ; 77% - 94% pour les témoins sédiments) ainsi que dans les aquariums test (85% - 90% pour la condition E1, 88%-89% pour la condition E2).

Les concentrations de BDE99 dans les différents compartiments sont rapportées au Tableau 16. Le BDE99 est resté <LD dans l'eau, comme attendu en raison de son hydrophobicité. Le dopage des feuilles a conduit à des concentrations plus élevées que dans le sédiment, bien que la concentration visée était identique ; la raison de cette différence n'a pas été identifiée. Les concentrations dans les feuilles et les sédiments des aquariums test sont restées stables au cours de la phase d'exposition, puis <LD dans les aquariums dépuración respectifs.

Chez les gammarès, les concentrations de BDE99 augmentent pendant la phase d'exposition, sans atteindre de plateau, puis décroissent pendant la phase de dépuraton, sans que le composé soit complètement éliminé à la en 9 jours (Tableau 16 et Figure 13). Le BDE47 a été détecté dans les gammarès témoins et les gammarès test à tous les temps de l'expérimentation, mais à des concentrations entre la LD et la LQ. Il parait donc hasardeux d'interpréter ces mesures de manière quantitative / précise, et de discerner une quelconque tendance dans les concentrations de BDE47.

Jours	0	1	2	4	7	8	9	11	14
Eau	ng L⁻¹								
Ctrl	<LD					<LD			<LD
E1		<LD	<LD	<LD		<LD		<LD	<LD
E2	<LD	<LD	<LD	<LD		<LD		<LD	<LD
Feuilles	ng g⁻¹ (ps)								
E1	13.85	11.58	8.34	10.13	10.08	<LD	<LD	<LD	<LD
E2		0.35	0.48	0.65	0.96	<LD	<LD	<LD	<LD
Sédiment	ng g⁻¹ ps								
Ctrl	<LD					<LD			<LD
E1									
E2	3.63	3.31	3.26	3.42	3.39	<LD	<LD	<LD	<LD
Gammarès	ng g⁻¹ pf								
Ctrl	<LD					<LD			
E1		0.12	0.25	0.33	0.45	0.26	0.24	0.19	0.13
E2		0.13	0.20	0.30	0.43	0.28	0.29	0.18	0.16

Tableau 16 – Concentrations de BDE 99 dans l'eau, les feuilles d'aulne, les sédiments et les gammarès

Les données expérimentales du BDE99 ont été ajustées selon l'Équation 9 en fixant $k_s = 0$ pour la condition E1, et $k_l = 0$ pour la condition E2 (cf. Tableau 4), donc sans faire l'hypothèse d'une débromation. Le processus d'inférence converge rapidement, et aboutit à des distributions *a posteriori* étroites des paramètres. La valeur de k_s est d'environ 3 fois celle de k_l , confirmant que comme pour le PCB153 la contamination des gammarès est majoritairement due aux particules de sédiment. Les taux d'élimination (k_e) sont nettement plus élevés que les taux d'absorption.

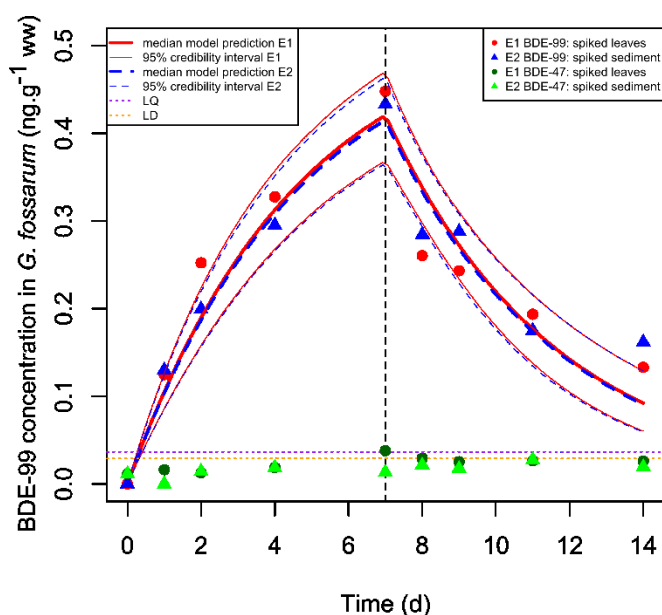


Figure 13 - Concentrations observées (points) et prédites (courbes) pour le BDE99 et le BDE47 chez le gammare

(la ligne pointillée correspond à la LD du BDE99, celle du BDE47 est plus basse, à 0.013 ng g⁻¹)

Les valeurs des paramètres toxicocinétiques et leurs intervalles de crédibilité sont reportés au Tableau 18 ci-dessous. Les valeurs de k_s et k_e restent identiques lorsqu'on introduit l'IR (0.239, d'après les données recueillies pendant l'expérimentation ; les percentiles 2.5% et 97.5% valent respectivement 0.038 et 0.487) dans le modèle (cf. 4.2.2) ; l'AE estimée est égale à 4.9%, une valeur plus basse que celle estimée par (Lebrun *et al.*, 2014) pour le PBDE47 chez *G. pulex* (32.2 ±4%), dans le cadre d'une exposition à plusieurs PBDE. Dans cette expérimentation l'IR (0.25 ±0.03 mg mg⁻¹ j⁻¹) était proche de celui que nous avons déterminé ici (malgré une approche différente) ; (Lebrun *et al.*, 2014) ne précisent toutefois pas comment ils estiment l'AE.

- Essai Radix

Pour rappel, cet essai a été réalisé en enrichissant le sédiment avec un mélange de PCB153 (concentration nominale 50 ng g⁻¹ ps) et de BDE99 (concentration nominale 6 ng g⁻¹ ps), soit les mêmes concentrations que celles des essais avec le gammare. Le lecteur reportera donc au § 4.1.2 pour les informations sur la survie du Radix pendant le test.

Il n'a pas été possible de réaliser les analyses des échantillons d'eau dans le temps imparti. Compte tenu du caractère hydrophobe du BDE99, elles seront de toute façon faibles en regard des concentrations dans le sédiment. Celles-ci sont stables pendant la phase d'exposition (Tableau 17), 8.27 ng g⁻¹ (ps) en moyenne. Le BDE47 n'a pas été détecté dans cette matrice.

Temps	Eau (ng L ⁻¹)		Sédiment (ng g ⁻¹ ps)	
	Témoin	Test	Témoin	Test
J0			0.05	8.67
J4				8.08
J9			0.05	8.07
J11				<LQ
J14				<LQ
J18			0.01	0.03

Tableau 17 – Concentrations de BDE99 dans l'eau et les sédiments de l'expérience Radix

Les coquilles de Radix des aquariums témoin contiennent 0.02 ng g⁻¹ (ps) à 0.10 ng g⁻¹ (ps) de BDE99 à J0 et J18 respectivement, contre 0.25 ng g⁻¹ (ps) à J9 pour les coquilles de Radix exposés au sédiment enrichi. En revanche les concentrations de BDE99 dans les tissus mous varient entre 0.03 ng g⁻¹ (pf) à J0 et 2.68 ng g⁻¹ (pf) à J9 pour les Radix exposés au sédiment enrichi. Les coquilles ne constituent donc pas un organe d'accumulation du BDE99. La concentration de BDE99 décroît au plus faiblement (ou pas du tout) pendant la dépuraton, et est encore égale à 2.43 ng g⁻¹ (pf) à J18. La cinétique d'accumulation et de dépuraton est présentée Figure 14 ci-dessous.

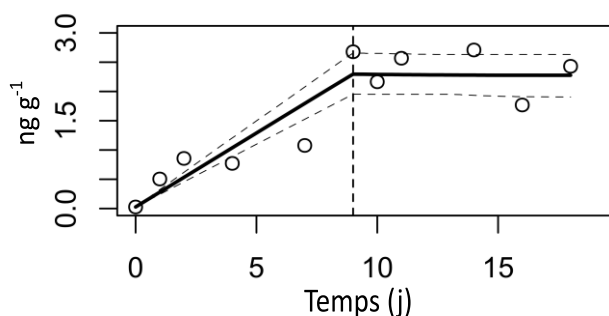


Figure 14 - Cinétique d'accumulation et de dépuraton du BDE99 chez le Radix

Le BDE47 n'a pas été détecté dans les tissus de *Radix* exposés, indiquant que les organismes n'ont pas débromé ce composé. Les valeurs des paramètres toxicocinétiques et leurs intervalles de crédibilité obtenues avec le modèle (cf. § 4.1.3) sont reportés au Tableau 18 ci-dessous.

Organisme	Paramètre	Médiane	Percentiles	
			2.5%	95%
<i>G. fossarum</i>	k_l (ng g ⁻¹ jr ⁻¹)	0.012	0.0094	0.014
	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.031	0.0245	0.038
	k_e (j ⁻¹)	0.217	0.1650	0.276
<i>Radix spp.</i>	k_s (ng g _{org} ⁻¹ g ⁻¹)	0.030	0.026	0.036
	k_e (j ⁻¹)	0.000001	0.000000002	0.669

Tableau 18 – Paramètres toxicocinétiques pour le BDE99

Alors que la distribution a posteriori est étroite pour le k_s , elle est beaucoup plus large pour le k_e . Comme dans le cas du PCB153, la phase de dépuration n'a pas duré suffisamment longtemps pour pouvoir estimer un taux d'élimination plus précis – il resterait faible de toute façon -.

5 Discussion & perspectives

5.1 Performance du modèle

Pour rappel, le cadre bayésien choisi pour l'inférence permet de prendre en compte une information *a priori* pour les paramètres à partir des connaissances disponibles, d'estimer simultanément les paramètres de différents modèles à partir de données de nature différente (par ex. le taux de croissance et les constantes d'absorption et d'élimination), et d'obtenir *a posteriori* la distribution de probabilité des paramètres estimés. L'inférence bayésienne est réalisée à l'aide du package « rjags » du logiciel R, dans lequel l'échantillonnage aléatoire pour les distributions de probabilité des paramètres est effectué par l'algorithme « Markov Chain Monte Carlo » (MCMC). La convergence de l'algorithme peut être testée en utilisant le critère de Gelman (Gelman *et al.*, 1995) ; la « qualité » de l'inférence (i.e. la précision de l'estimation des paramètres) est estimée à partir de la représentation de la distribution *a posteriori* des paramètres : plus elle est resserrée, plus l'estimation est précise. L'ajustement du modèle aux données observées peut alors être visualisé en utilisant les valeurs médianes des distributions a posteriori des paramètres, ainsi que l'intervalle de crédibilité à 95% des prédictions (dans lequel on s'attend à avoir 95% des données). La qualité de l'ajustement peut être quantifiée par le critère d'information de la déviation (DIC). Ce critère fournit une indication relative, permettant notamment de comparer différentes hypothèses (modèles) au même jeu de données.

Pour chacun des modèles testés pour le PCB153, l'indice de Gelman obtenu est inférieur à 1.01, ce qui indique une variance inter-chaîne MCMC négligeable par rapport à la variance intra-chaîne. Les intervalles de crédibilité à 95% englobent 75 et 80% des données observées (pour le chironome et le gammare respectivement (Figure 6 et Figure 7)). La même situation prévaut pour le BDE99 ; en revanche pour l'HBCDD les distributions *a posteriori* sont larges (pas de connaissances suffisantes pour les distributions *a priori*, données expérimentales limitées), indiquant pour le chironome et le gammare que les données expérimentales obtenues ne fournissent pas une information suffisante pour estimer les paramètres cinétiques correctement. En l'espèce, ce sont bien les données expérimentales qui sont en cause, et non l'approche de modélisation.

Concernant la biotransformation, on a vu que les valeurs des paramètres estimés par inférence bayésienne étaient en général assez voisines de celles obtenues par inférence fréquentiste (§ 4.3.2). Afin de comparer de manière quantitative la qualité (précision) des modèles respectifs, nous avons d'abord simulé à raison de 500 tirages aléatoires les concentrations prédites en fonction du temps à l'aide des paramètres originaux (modèles « O » dans le Tableau 12) en posant l'hypothèse de distributions normales pour ces paramètres, de moyenne et d'écart-type égaux aux valeurs issues de l'étude d'origine (Ashauer *et al.*, 2012). Ainsi nous disposons des distributions de concentrations prédites pour chacun des modèles, bayésien (cf. Figure 8 et Figure 9) et fréquentiste. Dans un second temps, nous avons calculé le rapport R entre la somme des carrés des écarts entre concentrations prédites en bayésien et observées (numérateur) et entre concentrations prédites en

fréquentiste et observées (dénominateur). Si R est >1, les prédictions du modèle original sont meilleures que le modèle bayésien car les différences entre données observées et prédites sont plus faibles pour le modèle original. Inversement, si R est <1, les prédictions du modèle bayésien sont meilleures que le modèle original car les différences entre données observées et prédites sont plus faibles pour le modèle bayésien. Le rapport R peut être calculé pour les composés parents mais aussi pour les métabolites ; nous ne présenterons ici que les valeurs de R pour les composés parents – l'incertitude étant a priori plus importante pour les métabolites. Pour les quatre substances issues de (Ashauer *et al.*, 2012) testées au § 4.3.2, les valeurs de R sont nettement <1 : 0.089 pour l'aldicarbe, 0.012 pour le carbofuran, 0.067 pour le carbaryl, et 0.427 pour le chlorométhyl-1 nitro-4 benzène, ce qui signifie que les prédictions obtenues en bayésien sont plus précises que celles qui pourraient être obtenues en fréquentiste.

Ce modèle générique, développé dans un cadre bayésien et pouvant s'adapter à chaque couple espèce-contaminant que l'on souhaite étudier se révèle être un outil performant dans la description des toxicocinétiques de contaminants ainsi que dans l'évaluation de la variabilité des données et de l'incertitude sur les paramètres et les prédictions. Le script d'ajustement des modèles aux données sous R est fourni en annexe.

Le résultat de ce travail apparaît ainsi globalement conforme aux objectifs, à l'exception de l'incorporation d'une fonction décrivant l'absorption via des sites actifs susceptibles d'être partiellement saturés (*i.e.* dépendance à la concentration). Cette partie de l'étude n'a pu être réalisée par manque de temps pour l'expérimentation ; l'intérêt d'implémenter cette fonction dans le cadre de modélisation reste assez théorique actuellement, dans la mesure où ce phénomène de saturation n'a pas été souvent démontré expérimentalement.

5.2 Comparaison au terrain

Etant donné que le cadre de modélisation présenté dans ce rapport a été développé en s'appuyant uniquement sur des données expérimentales acquises en conditions contrôlées, la question se pose de sa pertinence vis-à-vis de données « de terrain », obtenues en conditions non contrôlées. Cette question légitime ne devait en principe pas être abordée dans le cadre de cette étude, essentiellement pour se donner le temps de développer le modèle sur une gamme de substances et d'espèces plus large.

Quelques données issues d'observation de terrain étant disponibles pour les PBDE et l'HBCDD (Babut *et al.*, 2016), il a paru intéressant d'examiner si les modèles développés dans le cadre de la présente étude permettent de relier les concentrations observées dans les sédiments et celles mesurées dans les organismes.

Les données disponibles concernent :

- Des mesures d'HBCDD dans les sédiments de 3 sites ;
- Des mesures de PBDE dans les sédiments de 5 sites, mais dont seulement deux dépassent la limite de détection.
- Des mesures d'HBCDD et de PBDE dans des organismes encagés, à savoir des chironomes (*C. riparius*) et des gammares (*G. fossarum* ou mélange *G. fossarum/G. pulex*) sur les mêmes sites.
- Des mesures d'HBCDD et de PBDE, dont le BDE99, dans des invertébrés collectés sur ces mêmes sites ; dans le cas du BDE99, les gammares étaient présents sur tous les sites (1 campagne en juin), les chironomes (espèce indéterminée) sur un seul.

Les concentrations mesurées dans ces différents compartiments sont présentées au Tableau 19 ci-dessous. En tout état de cause, les concentrations observées dans les sédiments de ces différents sites sont plus faibles (facteur 5 à 10) que celle du sédiment enrichi (3 ng g⁻¹ ps) pour le BDE99, tandis que pour l'HBCDD deux sites (ADB et LUY) présentent des concentrations du même ordre de grandeur que la concentration du sédiment enrichi (ΣHBCDD 13.5 ng g⁻¹ ps), et le troisième site est encore plus contaminé (facteur ≈3).

La ΣHBCDD dans les gammares exposés au laboratoire (cf. Tableau 14 **pErreur ! Signet non défini.**) atteint 0.12 ng g⁻¹ (pf) au bout de 9 jours ; les concentrations (ΣHBCDD) observées chez les gammares pour les sites de TIJ et LUY, qui présentent un niveau de contamination du sédiment supérieur ou proche du sédiment enrichi au laboratoire, sont plus élevées, autour de 2.7 ng g⁻¹ (pf), que les concentrations observées au laboratoire. Les concentrations dans les gammares encagés sont comprises entre 0.7 ng g⁻¹ (pf) et 1.05 ng g⁻¹ (pf), plus élevées (*5 à *10) que les gammares au laboratoire, pour une durée d'exposition comparable. Toutefois, la

concentration d’HBCDD dans le sédiment n’est apparemment pas un très bon prédicteur de l’accumulation dans les gammares, autochtones comme encagés, pour ces trois sites.

De même, le BDE99 des gammares exposés au laboratoire (cf. Tableau 16 p Erreur ! Signet non défini., condition E2) est égal à 0.43 ng g⁻¹ (pf) au bout de 7 jours, soit une concentration légèrement plus basse que les gammares autochtones, et du même ordre de grandeur que les gammares encagés. A noter que ces derniers ne sont pas exposés directement au sédiment des sites d’étude, mais aux matières en suspension.

En conséquence, les gammares sur le terrain semblent accumuler le BDE99 ou l’HBCDD de manière plus efficace que ceux exposés au laboratoire.

Site ¹⁶	Sédiment (ng g ⁻¹ ps)	Chironome (ng g ⁻¹ pf)		Gammare (ng g ⁻¹ pf)	
		in situ	encagé	in situ	encagé
HBCDD					
ADB	9.19	0.33	9.13	na	1.05
LUY	10.35	0.44	0.21	2.74	0.84
TIJ	39.95	na	9.83	2.76	0.69
BDE 99					
BOL	<LD	0.151	0.078	0.175	0.119
FLO	<LD	na	0.019	<LD	0.012
MRG	<LD	na	<LD	0.025	0.052
TIJ	0.32	na	0.396	0.887	0.387
VAT	0.70	na	0.237	0.513	0.284

Tableau 19 – Contamination observée in situ (sédiment, invertébrés autochtones et encagés) pour l’HBCDD et le BDE99 (na : non analysé)

Plusieurs hypothèses peuvent être évoquées pour expliquer cette différence de dynamique d’accumulation :

- Malgré la similitude de concentrations, les conditions d’exposition ne sont pas les mêmes, notamment la durée. Les gammares autochtones, étant exposés plus longtemps, auraient atteint l’équilibre avec le milieu. Cette hypothèse n’est pas complètement satisfaisante, eu égard aux concentrations accumulées chez les gammares encagés.
- Le taux de matière organique des sédiments module la disponibilité des composés hydrophobes (Di Toro *et al.*, 1991). Malheureusement ni la perte au feu, ni le taux de carbone organique n’ont été mesurés pour les sites du Tableau 19 au moment de la collecte des échantillons et de la mise en place des organismes encagés. Le taux de carbone organique particulaire du sédiment utilisé pour les tests était compris entre 2.4% et 12% selon les dates de prélèvement (médiane 3.4%), soit des taux comparables ou inférieurs à ceux rapportés à LUY et TIJ dans le cadre du réseau de contrôle de surveillance.
- On peut également suspecter un effet de l’espèce, ou de la population, sur les concentrations observées : dans la présente étude, nous avons utilisé des lots de *G. fossarum* provenant exclusivement d’un site exempt de contamination, tandis que dans l’étude de terrain, les gammares encagés provenaient d’un site peu ou pas exposé où cohabitent *G. fossarum* et *G. pulex*, alors que les gammares autochtones pouvaient appartenir au genre *Gammarus*, ou même (plus rarement) au genre *Dikerogammarus*. Ceci peut conduire à une variabilité certaine des sources d’alimentation exploitées, et donc à des différences d’exposition.

En l’état des données disponibles, il n’est pas possible d’examiner ces hypothèses de plus près, d’autant plus que les données de terrain sont des données ponctuelles (une mesure correspondant à une durée d’exposition non définie), là où il faudrait des données cinétiques. Une approche exploratoire pourrait néanmoins être tentée à l’aide du modèle, en cherchant à estimer les combinaisons de valeurs de paramètres qui permettraient d’atteindre les concentrations dans les organismes à partir de la concentration dans le sédiment.

¹⁶ Détails sur les sites dans le rapport cité *ibid.*

5.3 Vers des applications opérationnelles

5.3.1 Mise en œuvre des directives 2000/60 et 2013/039

En France actuellement, les HAP sont généralement analysés dans les sédiments, et il existe un historique conséquent de mesures de ce type dans les différents bassins hydrographiques. C'est également le cas pour d'autres contaminants hydrophobes, notamment les PCB. Cependant, la directive 2013/039 spécifie que pour certains de ces contaminants hydrophobes, la norme de qualité environnementale concerne le biote, c'est-à-dire généralement des poissons de niveau trophique 4, et dans le cas des HAP des invertébrés tels que des mollusques. Modifier le protocole de surveillance pour les HAP, voire pour d'autres contaminants, conduirait à perdre la continuité du suivi.

Cette difficulté pourrait être contournée en utilisant le modèle biodynamique soit pour transposer la NQE au sédiment, soit pour estimer la concentration dans un organisme modèle correspondant aux concentrations mesurées dans le sédiment.

La directive 2013/039/UE, qui a mis à jour la liste des substances prioritaires au titre de la directive 2000/60/CE et fixé leurs NQE, stipule que le benzo(a)pyrène doit être considéré comme un indicateur (*marker*) pour l'ensemble des autres HAP (paramètre n°28, comprenant le benzo(a)pyrène, le benzo(b)fluoranthène, le benzo(k)fluoranthène, le benzo(g,h,i)pérylène et l'indéno(1,2,3-c,d)pyrène. Quel que soit le compartiment considéré (eau ou biote), le classement d'une masse d'eau vis-à-vis de ce paramètre se fera uniquement sur la base des concentrations du benzo(a)pyrène, dont la NQE_{biote} est égale à 5 ng g^{-1} (pf). Par ailleurs, la directive affiche également une NQE_{biote} pour le fluoranthène (paramètre n°15, 30 ng g^{-1} pf) indépendamment du reste des HAP. Pour le fluoranthène comme pour les HAP représentés par le benzo(a)pyrène, la NQE_{biote} se réfère aux crustacés ou mollusques¹⁷.

Cette stipulation de ramener l'évaluation de la conformité, pour le paramètre HAP, à une seule substance indicatrice, faciliterait l'emploi d'un modèle toxicocinétique tel que celui développé ici. Son utilisation peut se faire de deux façons :

- Soit en appliquant le modèle de façon inversée, pour déterminer une concentration dans le sédiment équivalente à la NQE_{biote} .
- Soit en appliquant le modèle directement, pour estimer les concentrations dans un organisme aquatique, et en comparant cette estimation à la NQE_{biote} .

Si la deuxième option devait être appliquée, il conviendrait de disposer, pour un organisme cible crustacé ou mollusque, des paramètres toxicocinétiques, principalement le k_s et le k_e , considérant pour les voies d'absorption que l'exposition par l'eau sera très minoritaire, en raison de la forte hydrophobicité des HAP mentionnés plus haut ($\log K_{ow}$ entre 5.78 et 6.70, le benzo(a)pyrène ayant un $\log K_{ow} = 6.13$). En eau douce, deux des organismes étudiés dans ce travail, à savoir *G. fossarum* et *Radix*, pourraient donc convenir *a priori*. Toutefois, nous n'avons pas étudié la bioaccumulation du pyrène chez le *Radix* (ni terminé cette étude chez le *Gammare*), et en première analyse les études publiées sur l'accumulation des HAP par les mollusques concernent principalement des bivalves marins. Le choix du *Gammare* n'est pas forcément évident non plus, s'il s'avère apte à métaboliser certains HAP (expérimentation en cours avec le pyrène). Cette option n'est donc pas praticable en l'état actuel des connaissances et du cadre de modélisation, et nécessiterait des développements complémentaires.

Dispose-t-on de suffisamment d'éléments pour implémenter la première option, c'est à dire estimer une concentration dans le sédiment équivalente à la NQE_{biote} ?

Le benzo(a)pyrène, comme son nom l'indique, comporte un cycle benzénique de plus que le pyrène, qui en compte quatre accolés. Les propriétés physico-chimiques du benzo(a)pyrène seront donc différentes de celles du pyrène, de même probablement que les paramètres toxicocinétiques. Le benzo(a)pyrène s'adsorbe fortement aux particules du sédiment, plus fortement que le PCB153 (Schuler *et al.*, 2003), malgré un $\log K_{ow}$ inférieur. Ces auteurs ont estimé un $k_s = 0.005 (\pm 0.000000153)$ et un $k_e = 0.02 (\pm 0.00000167)$ pour le crustacé amphipode *Hyalomma azteca* exposé pendant 3 jours à du sédiment enrichi¹⁸. Dans cette étude, les métabolites du benzo(a)pyrène chez les hyalélles étaient <LD, alors que le chironome (*C. tentans*) et un oligochète

¹⁷ La directive ne le précise pas, mais il s'agit implicitement de protéger le consommateur de « fruits de mer » ; rien n'est dit sur les espèces d'eau douce.

¹⁸ Les valeurs des paramètres toxicocinétiques sont plus faibles quand le sédiment est laissé plus longtemps (18 mois vs 7 jours) à reposer avant introduction des organismes, mais la différence n'est pas significative

(*Lumbriculus variegatus*) ont montré des capacités importantes à biotransformer ce composé. La faible compétence des crustacés amphipodes à biotransformer le benzo(a)pyrène a aussi été démontrée chez des espèces d'amphipodes marins (*Ampelisca abdita* et *Leptocheirus plumulosus*), contrastant avec la compétence de mollusques bivalves et de polychètes (Rust *et al.*, 2004).

Les paramètres toxicocinétiques de l'accumulation du BaP par le chironome (*C. tentans*) ont été déterminés en appliquant aux données la même démarche qu'à la section 4.3 : k_s est égal à $0.73 \text{ ng g}_{\text{org}}^{-1} \text{ g}^{-1}$ [0.47 – 1.08], k_e à 2.16 j^{-1} [0.63 – 4.20], k_m à 1.65 j^{-1} [1.38 – 2.02] et k_{emet} à 0.76 j^{-1} [0.65 – 0.88]. Ces paramètres sont ensuite utilisés pour calculer une concentration dans le sédiment pour laquelle *C. tentans* présenterait une concentration inférieure ou égale à la NQE_{biote} (Figure 15) : ce résultat correspond à une concentration de benzo(a)pyrène dans le sédiment de 25 ng g^{-1} (ps). La partie gauche de la figure peut représenter l'exposition de chironomes encagés.

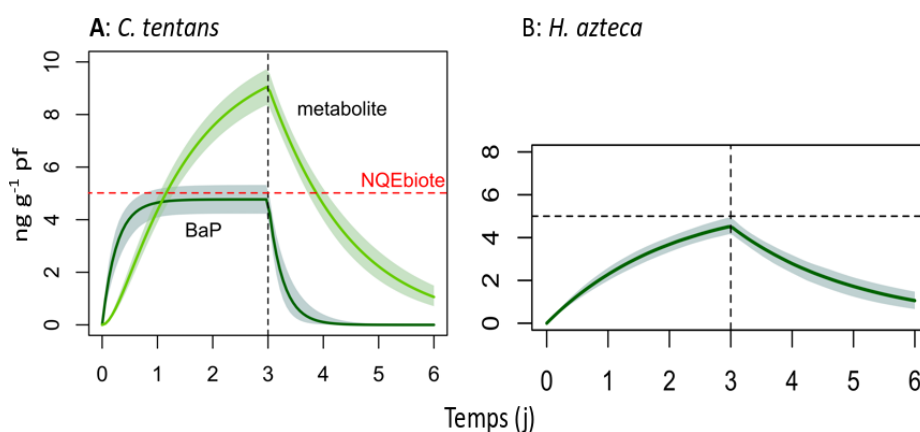


Figure 15 - Simulation de l'accumulation du benzo(a)pyrène par *C. tentans* (A) et *H. azteca* (B)

Toutefois, la capacité du chironome (*C. tentans*) à métaboliser le benzo(a)pyrène est telle que l'on ne devrait pas utiliser cet organisme comme indicateur, comme le montre la Figure 15 (A) : le métabolite (non identifié dans la publication source) atteint à lui seul une concentration quasi double de la NQE_{biote} . Il peut être lui-même toxique, et par ailleurs une espèce benthique ne métabolisant pas ce composé ne respecterait pas la NQE_{biote} lorsqu'exposée à la même concentration dans le sédiment. C'est ce que montre la simulation sur le crustacé amphipode *H. azteca*, sur la base de paramètres toxicocinétiques estimés à partir des données expérimentales de (Schuler *et al.*, 2003) et d'un modèle du même type que le modèle final pour le gammare exposé au PCB153 (*i.e.* sans métabolisation Figure 15-B). Dans ce cas, il ne faudrait pas dépasser 19 ng g^{-1} ps de benzo(a)pyrène pour que les hyalèles n'accumulent pas plus que la NQE_{biote} .

Cette concentration équivalente à la NQE_{biote} ne devrait pas être utilisée telle quelle, dans la mesure où nous ne savons pas à quel point la cinétique d'accumulation du benzo(a)pyrène de la hyalèle est similaire à celle de crustacés amphipodes autochtones comme le gammare. Il y a une deuxième source (majeure) d'incertitude sur cette cinétique d'accumulation du benzo(a)pyrène à partir du sédiment, qui est l'influence de la matière organique sur la biodisponibilité. Nous n'avons en effet pas fait varier le taux de matière organique des sédiments, ce qui aurait permis d'identifier un effet éventuel sur le k_s . A noter que dans l'étude de (Schuler *et al.*, 2003) le sédiment contenait 1% de carbone organique, ce qui peut être considéré comme un pire cas.

En conclusion, il y a de bonnes perspectives d'utilisation de ce cadre de modélisation pour répondre aux besoins d'interprétation des données de surveillance des sédiments dans le cadre imposé par la directive 2013/039/UE, mais cette utilisation nécessiterait encore quelques développements.

5.3.2 Sédiments contaminés

Ce point ne sera pas beaucoup développé, dans la mesure où nous n'avons pas de résultat propre à présenter. Signalons cependant un exemple d'application opérationnelle en remédiation *in situ* de sédiment contaminé par des PCB en Californie (Janssen *et al.*, 2010; Janssen *et al.*, 2011). Dans ces travaux, la modélisation toxicocinétique (avec un modèle biodynamique, selon le terme employé par ces auteurs), a permis d'expliquer les différences d'accumulation de PCB par différentes espèces (le polychète *Neanthes arenaceodentata*, les

mollusques bivalves *Macoma balthica* et *Mytilus edulis*), et de prédire l'effet d'un amendement au charbon actif en grains du sédiment sur l'accumulation des PCB (Janssen *et al.*, 2011).

Pour aller vers ce type d'application, il faudrait étendre le présent travail à l'étude de l'influence des caractéristiques du sédiment (présence ou non de suie - *black carbon* -, influence de la matière organique ...) et incorporer cette influence dans le modèle. Dans l'exemple des PCB en Californie (Janssen *et al.*, 2010), cette incorporation passe par une modulation de l'efficacité d'assimilation (AE) :

$$AE_s = F_{sed} \times AE^{sed} + (1 - F_{sed}) \times AE^{AC}$$

Équation 14

Avec AE_s l'efficacité d'assimilation globale pour l'absorption à partir des particules, F_{sed} la fraction de contaminant restant adsorbée aux particules après l'amendement, AE^{sed} l'efficacité d'assimilation du contaminant pour cette fraction (ou pour le sédiment non traité), et AE^{AC} celle du contaminant à partir des particules de charbon actif. A noter que dans cet exemple l'AE est inférée de l'ajustement du modèle aux données expérimentales, tous les autres paramètres étant déterminés.

Le modèle pourrait aussi être appliqué dans le cadre plus large de l'évaluation de la dangerosité des sédiments, pour traiter l'élément de preuve relatif à la bioaccumulation. La démarche serait identique à celle décrite dans la section précédente.

5.4 Perspectives

Comme esquissé au fil de l'eau dans ce rapport, plusieurs perspectives paraissent intéressantes, de nature à consolider la pertinence de ce modèle, et de permettre des applications opérationnelles :

- I. A court terme, compléter l'acquisition de données expérimentales sur la biotransformation du pyrène par *G. fossarum* et valoriser l'étude de la biotransformation, notamment en comparant la performance de l'approche de modélisation par inférence bayésienne avec les approches plus classiques déjà publiées.
- II. A plus long terme, il paraît essentiel d'explorer l'influence de la matière organique, ou d'autres adsorbants, sur les cinétiques d'accumulation de contaminants. Ce développement serait utile pour plusieurs applications : interprétation de données de surveillance (soit transposition de NQE_{biote} , soit transposition de mesures), contribution à l'évaluation de la dangerosité des sédiments (tier II, cf. Stamm et Babut, 2019) ou simulation de l'effet d'opérations de traitement.
- III. L'acquisition de données cinétiques de terrain, impliquant des organismes encagés, puis la modélisation de ces données, devrait permettre d'une manière générale de diminuer l'incertitude inhérente à l'utilisation sur le terrain de paramètres toxicocinétiques acquis au laboratoire, et plus précisément de modéliser l'accumulation de contaminants d'intérêt comme le benzo(a)pyrène.
- IV. Enfin, la mise à disposition du code des différents sous-modèles ouvrira la possibilité d'étendre ce cadre de modélisation à d'autres organismes et d'autres substances.

6 Glossaire, sigles & abréviations

AE	Efficacité d'assimilation d'un contaminant : différence entre le flux ingéré et le flux excrété (cf. § 4.2 page 28)
BDE	Bromodiphényléther
CAG	Charbon actif en grains
CBR	<i>Critical Body Residue</i> – concentration interne au-delà de laquelle on s'attend à observer des effets toxiques
DAG	<i>Directed Acyclic Graph</i> – représentation conceptuelle des liens entre variables et processus dans les modèles
DCE	Directive 2000/60 fixant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau
DIC	<i>Deviance Information Criterion</i> : critère propre à la procédure d'inférence bayésienne, qui donne une indication sur la qualité de l'ajustement du modèle aux données en regard de sa complexité. Il s'utilise en relatif.
ECD	Détecteur à capture d'électrons
GC	Chromatographie en phase gazeuse
HAP	Hydrocarbure polycyclique aromatique
HBCDD	Hexabromocyclododécane
IR	Taux d'ingestion - quantité moyenne de nourriture que peut ingérer un individu (cf. § 4.2 page 28)
K_{ow}	Coefficient de partage entre l'octanol (proxy des lipides de l'organisme) et l'eau : indicateur de l'hydrophobicité des substances organiques
LC	Chromatographie en phase liquide
LD	Limite de détection (dépend du rapport signal/bruit)
LQ	Limite de quantification (par convention, égale 3*LD)
MS	Spectrométrie de masse
NQE	Norme de qualité environnementale ; NQE_{biote} = NQE dont la cible est un organisme aquatique, en général un poisson
PBDE	Polybromodiphényléther
PCB	Polychlorobiphényle
PeCB	Pentachlorobenzène

Variables et paramètres des modèles

Variable, paramètre	Définition	Unité
AE	Efficacité d'assimilation	-
C_l	Concentration dans les feuilles	ng g ⁻¹ pf
C_m	Concentration tissulaire du métabolite	ng g ⁻¹ pf
C_p	Concentration tissulaire du composé parent	ng g ⁻¹ pf
C_s	Concentration dans le sédiment	ng g ⁻¹ ps
C_w	Concentration dans l'eau	ng L ⁻¹
IR	Taux d'ingestion	mg mg ⁻¹ j ⁻¹
k_e	Taux d'élimination (générique)	j ⁻¹
k_{em}	Taux d'élimination - métabolite	j ⁻¹
k_{ep}	Taux d'élimination – composé parent	j ⁻¹
k_g	Taux de croissance	j ⁻¹
k_l	Taux d'absorption à partir des feuilles	ng g ⁻¹ j ⁻¹
k_m	Taux de métabolisation du composé parent	j ⁻¹
k_s	Taux d'absorption à partir du sédiment	g _{Sed} g _{org} ⁻¹ j ⁻¹
k_w	Taux d'absorption à partir de l'eau	L g ⁻¹ j ⁻¹
L	Taille	mm

7 Index des tableaux et figures

Table des illustrations

Figure 1- Design expérimental pour les essais sur chironome	17
Figure 2- Design expérimental pour les essais sur gammare	18
Figure 3- Design expérimental des essais sur Radix	18
Figure 4 - Exemple de DAG (a) chironome ; (b) gammare	21
Figure 5 – Cinétique d'accumulation du PCB153 par le Radix	25
Figure 6 – Ajustement du modèle (Équation 8) aux données expérimentales pour le chironome : (a) accumulation du PCB 153 ; (b) croissance	26
Figure 7- Ajustement du modèle aux données expérimentales pour le gammare (conditions E1 et E2)	27
Figure 8 – Concentrations observées (points) et prédites (courbes) pour différentes substances (rouge) et leurs principaux métabolites (bleu) chez <i>N. diversicolor</i> et <i>G. pulex</i>	34
Figure 9 – Cinétiques d'accumulation et élimination du Chlorométhyl-1 nitro-4 benzène et de ses métabolites (en nmol kg ⁻¹ pf)	34
Figure 10 – Cinétique d'accumulation du PeCB par le gammare	36
Figure 11- Cinétiques de croissance (à gauche) et d'accumulation de l'HBCDD (somme des isomères, à droite) chez le chironome	38
Figure 12 – Concentrations d'HBCDD (isomères α , β , γ et somme) dans les gammares pendant l'accumulation (jusqu'à 9 jours) et la dépuration (9 à 18 jours) ; ligne pointillée bleue : LQ ; ligne pointillée rouge : LD	39
Figure 13 - Concentrations observées (points) et prédites (courbes) pour le BDE99 et le BDE47 chez le gammare (la ligne pointillée correspond à la LD du BDE99, celle du BDE47 est plus basse, à 0.013 ng g ⁻¹)	41
Figure 14 - Cinétique d'accumulation et de dépuration du BDE99 chez le Radix	42
Figure 15 - Simulation de l'accumulation du benzo(a)pyrène par <i>C. tentans</i> (A) et <i>H. azteca</i> (B)	47

Liste des tableaux

Tableau 1 – Etude identifiées utilisant explicitement le concept de modèle biodynamique et questions scientifiques abordées	13
Tableau 2 – Substances chimiques et espèces invertébrées testées dans le cadre de cette étude	16
Tableau 3 – Résumé des méthodes d'analyse	19
Tableau 4 – Hypothèses testées pour le gammare	23
Tableau 5 – Concentrations de PCB 153 dans les différentes matrices expérimentales de l'essai gammare (écart-types des répliques indiqués quand disponibles)	24
Tableau 6 – Concentrations de PCB153 dans l'eau et les sédiments de l'essai Radix	25
Tableau 7 – Paramètres toxicocinétiques relatifs à l'accumulation du PCB153 par <i>C. riparius</i> et <i>G. fossarum</i> ...	27
Tableau 8 – Taux d'ingestion estimés pour les chironomes – essais I (PeCB), II (PCB153) et III (HBCDD)	28
Tableau 9 – Surface de feuille consommée par individu de gammare (mm ²)	29
Tableau 10 – Distribution des surfaces de feuille consommées (mm ² individu ⁻¹ j ⁻¹) par les gammares témoin par essai (I : PeCB ; II : PCB153 ; III : HBCDD ; IV : BDE99 ; V : pyrène)	30
Tableau 11 - Paramètres toxicocinétiques ajustés pour PCB153 chez le gammare	31
Tableau 12 – Comparaison des paramètres cinétiques obtenus avec différentes approches de modélisation pour le pyrène, l'aldicarbe et le carbofuran	35
Tableau 13 – Concentrations d'HBCDD (isomères α , β et γ et total) dans les sédiments et les chironomes – Moyennes de deux mesures (écart-types)	37
Tableau 14 - Concentrations d'HBCDD dans l'eau, les feuilles d'aulne et les sédiments au début et à la fin de la phase d'accumulation- moyennes (écart-types) sur deux mesures	39
Tableau 15 – Paramètres toxicocinétiques obtenus pour Σ HBCDD	40
Tableau 16 – Concentrations de BDE 99 dans l'eau, les feuilles d'aulne, les sédiments et les gammares	41
Tableau 17 – Concentrations de BDE99 dans l'eau et les sédiments de l'expérience Radix	42
Tableau 18 – Paramètres toxicocinétiques pour le BDE99	43
Tableau 20 – Contamination observée in situ (sédiment, invertébrés autochtones et encagés) pour l'HBCDD et le BDE99 (na : non analysé)	45

8 Annexes

8.1 Dispositifs d'enrichissement du sédiment et des feuilles d'aulne

Une solution mère de la substance testée est préparée avec un solvant (par ex. acétone), et répartie dans des flacons en verre brun ; on estime qu'il y a 2.4 kg de sédiment frais par flacon. Ensuite le solvant est évaporé de façon à ce que la substance soit répartie sur les parois. Le sédiment frais est ajouté dans les flacons, qui sont ensuite soumis à une agitation horizontale (cf. Photo 1) pendant 24h à 50Hz afin d'homogénéiser la contamination. Les flacons sont ensuite laissés à décanter en chambre froide pendant 72h. Les contenus des flacons de sédiment enrichi sont ensuite regroupés et homogénéisés manuellement, puis répartis dans les aquariums.

Les témoins solvants solvant sont préparés de la même manière (sans ajout de substance à tester).



Photo 1 – Dispositif d'agitation pour enrichissement des sédiments par des substances chimiques

La contamination des feuilles se fait soit sur des feuilles entières, soit sur des disques calibrés pour les tests d'alimentation.

Une solution mère est préparée, dans un volume de solvant plus important en raison de l'hétérogénéité de la matrice à contaminer. Les disques (ou les feuilles) ont été placés dans des bouteilles en verre contenant 1L d'eau de forage, auxquelles on ajoute le volume adéquat de solution mère. Les flacons sont ensuite placés à agitation horizontale pendant 72h à 25Hz.

8.2 Code du modèle

Script générique, à adapter ensuite à chaque cas.

```
#clean session
rm(list=ls())
#choose directory session
setwd("C:/Users/aude.ratier/Desktop/test_metabolisation/data_4_script/ashauer_sean
ine")

#import .csv data
data888 <- read.table("data.csv",header=TRUE,sep=";")

##### Define your data
#####
#xxx have to be replace by your data
#vector of times of the experiment
t<-xxx
#time at the end of uptake phase
tc=xxx
#number of observations at t=tc (during the uptake phase)
t==tc
ntc=xxx #the value of [[xxx]] when TRUE appeared
#time at the end of the experiment
tend=xxx
#concentration in water during the uptake phase - supposed constant
Cw<-xxx
#concentration in sediment during the uptake phase - supposed constant
Cs<-xxx
#concentration in leaves during the uptake phase - supposed constant
Cl<-xxx
#Concentration in biota (in ww) of the parent compound during the experiment;
should be the same length that time vector
Cobs<-xxx
length(Cobs)
nend=xxxx #complete with obtained value length(Cobs)
#The parent contaminant at t=0
C0<-Cobs[[1]]
#Concentration in biota (in ww) of the 1st metabolite during the experiment;
should be the same length that time vector
Cobsmet1<-xxx
#Concentration in biota (in ww) of the 2st metabolite during the experiment;
should be the same length that time vector
```

```

Cobsmet2<-xxx
#Concentration in biota (in ww) of the 3st metabolite during the experiment;
should be the same length that time vector
Cobsmet3<-xxx
#size of organisms
Lobs=xxx
length(Lobs)
ngrowth=xxx #complete with obtained value length(Lobs)

#check the plot of observed data
plot(Cobs~t)
points(Cobsmet1~t)
points(Cobsmet2~t)
points(Cobsmet3~t)

##### Compute the modele in jags #####
#####
require(rjags)
#modele jags
mod1<-
  "model
{

##### GROWTH #####

for (j in 1:ngrowth)
{
  L[j]<-Lmax-(Lmax-L0)*exp(-kg*t[j])
  Lobs[j]~dnorm(L[j], tauL)
}

##### BIOACC: UPTAKE PHASE #####

for(i in 1:ntc)
{
  Cpred[i] <- (((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1))/(ke+kg+km1+km2+km3)) + (C0-
((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1))/(ke+kg+km1+km2+km3))* (exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i]))
  Cobs[i] ~ dnorm(Cpred[i],tau)
}
}

```

```

CpredMet1[i] <-
(((km1*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/((ke+kg+km1+km2+km3)-
kemet1))*(exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i])-exp(-kemet1*t[i]))) +
((((km1*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/kemet1)*(1-exp(-
kemet1*t[i])))
CobsMet1[i] ~ dnorm(CpredMet1[i],tauMet1)

CpredMet2[i] <-
(((km2*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/((ke+kg+km1+km2+km3)-
kemet2))*(exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i])-exp(-kemet2*t[i]))) +
((((km2*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/kemet2)*(1-exp(-
kemet2*t[i])))
CobsMet2[i] ~ dnorm(CpredMet2[i],tauMet2)

CpredMet3[i] <-
(((km3*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/((ke+kg+km1+km2+km3)-
kemet3))*(exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i])-exp(-kemet3*t[i]))) +
((((km3*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/kemet3)*(1-exp(-
kemet3*t[i])))
CobsMet3[i] ~ dnorm(CpredMet3[i],tauMet3)
}

```

BIOACC: ELIMINATION PHASE

```

for(i in ntc2:nend)
{
Cpred[i] <- (((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1))/(ke+kg+km1+km2+km3) * exp(-
(ke+kg+km1+km2+km3)*(t[i]-tc)))+(C0-
(((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1))/(ke+kg+km1+km2+km3))*exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i]))
Cobs[i] ~ dnorm(Cpred[i],tau)

CpredMet1[i] <-
((((km1*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/((ke+kg+km1+km2+km3)-
kemet1))*(exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i])-exp(-kemet1*t[i]))) +
((((km1*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/kemet1)*(1-exp(-
kemet1*t[i])))*)*exp(-kemet1*(t[i]-tc))
CobsMet1[i] ~ dnorm(CpredMet1[i],tauMet1)

CpredMet2[i] <-
((((km2*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/((ke+kg+km1+km2+km3)-
kemet2))*(exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i])-exp(-kemet2*t[i]))) +
((((km2*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1)))/(ke+kg+km1+km2+km3))/kemet2)*(1-exp(-
kemet2*t[i])))*)*exp(-kemet2*(t[i]-tc))
CobsMet2[i] ~ dnorm(CpredMet2[i],tauMet2)
}

```

```

CpredMet3[i]
(((km3*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1))/(ke+kg+km1+km2+km3))/((ke+kg+km1+km2+km3)-
kemet3))*(exp(-(ke+kg+km1+km2+km3)*t[i])-exp(-kemet3*t[i]))) +
(((km3*((kw*Cw)+(ks*Cs)+(k1*C1))/(ke+kg+km1+km2+km3))/kemet3)*(1-exp(-
kemet3*t[i])))*)*exp(-kemet3*(t[i]-tc))
CobsMet3[i] ~ dnorm(CpredMet3[i],tauMet3)
}

```

<-

PRIOR DISTRIBUTIONS

#growth prior#

```
logkg~dunif(-5,2)
```

```
kg<-10^logkg
```

```
logLmax ~ dnorm(0.04921802,1)
```

```
Lmax<-10^logLmax
```

```
logL0 ~ dnorm(0.04921802,1)
```

```
L0<-10^logL0
```

```
sigmaL ~ dgamma(0.001,0.001)
```

```
tauL <- 1/(sigmaL*sigmaL)
```

#bioacc prior#

```
logkw~dunif(-5,2)
```

```
kw<-10^logkw
```

```
logks~dunif(-5,2)
```

```
ks<-10^logks
```

```
logk1~dunif(-5,2)
```

```
k1<-10^logk1
```

```
logke ~ dnorm(0.04921802,1)
```

```
ke<-10^logke
```

```

logkm1 ~ dunif(-5,2)
km1<-10^logkm1

logkm2 ~ dunif(-5,2)
km2<-10^logkm2

logkm3 ~ dunif(-5,2)
km3<-10^logkm3

logkemet1 ~ dunif(-5,2)
kemet1<-10^logkemet1

logkemet2 ~ dunif(-5,2)
kemet2<-10^logkemet2

logkemet3 ~ dunif(-5,2)
kemet3<-10^logkemet3

sigma ~ dgamma(0.001,0.001)
tau <- 1/(sigma*sigma)

tauMet1<- 1/(sigmaMet1*sigmaMet1)
sigmaMet1 ~ dgamma(0.001,0.001)

tauMet2<- 1/(sigmaMet2*sigmaMet2)
sigmaMet2 ~ dgamma(0.001,0.001)

tauMet3<- 1/(sigmaMet3*sigmaMet3)
sigmaMet3 ~ dgamma(0.001,0.001)
}
"

#data definition
data=list(Lobs=Lobs,Cobs=Cobs,CobsMet1=Cobsmet1,CobsMet2=Cobsmet2,CobsMet3=Cobsmet
3,Cw=Cw,Cs=Cs,C1=C1,t=t,C0=C0,tc=tc,ntc=ntc,
ntc2=ntc+1,nend=nend,ngrowth=ngrowth)

#initial value - change if necessary
inits=list(list(logkm1=0,logkm2=0,logkm3=0,logkemet1=0,logkemet2=0,logkemet3=0,log
kw=2,logks=2,logk1=2,logkg=0.372912,logL0=1,logLmax=1,logke=0.372912,sigma=10,sigm
aMet1=10,sigmaMet2=10,sigmaMet3=10,sigmaL=10),

```

```
list(logkm1=1,logkm2=1,logkm3=1,logkemet1=1,logkemet2=1,logkemet3=1,logkw=1,logks=
1,logkl=1,logkg=-0.5,logL0=-1,logLmax=-
1,logke=0.372912,sigma=10,sigmaMet1=10,sigmaMet2=10,sigmaMet3=10,sigmaL=1),
```

```
list(logkm1=0.5,logkm2=0.5,logkm3=0.5,logkemet1=0.5,logkemet2=0.5,logkemet3=0.5,lo
gkw=-1,logks=-1,logkl=-1,logkg=-
1,logL0=0,logLmax=0,logke=0.372912,sigma=10,sigmaMet1=10,sigmaMet2=10,sigmaMet3=10
,sigmaL=10))
```

```
#model compilation
```

```
m1<- jags.model(file = textConnection(mod1), inits=inits, data=data, n.chains = 3)
```

```
#Raftery and lewis method
```

```
update(m1,20000)
```

```
mcmc1<-coda.samples(m1,
c("L0","Lmax","km1","km2","km3","kemet1","kemet2","kemet3","kw","ks","kl","ke","kg
","sigma","sigmaL","sigmaMet1","sigmaMet2","sigmaMet3"), n.iter= 5000, thin=1)
```

```
RL <- raftery.diag(mcmc1)
```

```
resmatrixtot <- rbind(RL[[1]]$resmatrix,RL[[2]]$resmatrix,RL[[3]]$resmatrix )
```

```
thin <- round(max(resmatrixtot[,"I"])+0.5)
```

```
niter <- max(resmatrixtot[,"Nmin"])*thin
```

```
#implementation
```

```
update(m1,20000)
```

```
mcmc1<-coda.samples(m1,
c("L0","Lmax","km1","km2","km3","kemet1","kemet2","kemet3","kw","ks","kl","ke","kg
","sigma","sigmaL","sigmaMet1","sigmaMet2","sigmaMet3"), n.iter, thin)
```

```
#DIC computation
```

```
#dic<-dic.samples(m1, n.iter, thin)
```

```
summary(mcmc1)
```

```
#checking of MCMC chains convergence
```

```
gelman.diag(mcmc1) #value=1
```

```
geweke.diag(mcmc1) #value between -2 and 2
```

```
#checking no autocorrelation
```

```
autocorr.plot(mcmc1[[1]])
```

```
plot(mcmc1, density=F)
```

```
#MCMC linked
```

```
mcmctot1<-as.data.frame(as.matrix(mcmc1))
```

```
#creation of a random sample (500 samples)
```

```
mcmctotsample1<-mcmctot1[sample.int(nrow(mcmctot1), size=500),]
```

```
##### comparison between a priori and a posteriori distribution
#####
```

```

#a priori distribution
data00=list(t=t,Cw=Cw,Cs=Cs,C1=C1,C0=C0,tc=tc,ntc=ntc, nend=nend,ngrowth=ngrowth)
m00<- jags.model(file = textConnection(mod1), inits=inits,data=data00, n.chains =
3)
update(m00,50000)
mcmc00<-coda.samples(m00,
c("km1","km2","km3","kemet1","kemet2","kemet3","kw","ks","k1","ke","kg","L0","Lmax
","sigma","sigma1","sigmaMet1","sigmaMet2","sigmaMet3"), n.iter= 100000, thin=100)
mcmctot00<-as.data.frame(as.matrix(mcmc00)) #concatenation des 3 chaines
#plot prior and posterior distributions for each model parameter
par(mfrow=c(4,2))
for (i in 1:ncol(mcmctot1))
{
  plot(density(mcmctot1[,i]), lwd=4,main=names(mcmctot1)[i])
  lines(density(mcmctot00[,i]), col="red", lwd=2)
}

```

```

##### MODEL PREDICTIONS
#####
#parameter vector creation on the random sample
vLmax<-mcmctotsample1[,"Lmax"]
vL0<-mcmctotsample1[,"L0"]
vkw<-mcmctotsample1[,"kw"]
vks<-mcmctotsample1[,"ks"]
vk1<-mcmctotsample1[,"k1"]
vke<-mcmctotsample1[,"ke"]
vkg<-mcmctotsample1[,"kg"]
vkemet1<-mcmctotsample1[,"kemet1"]
vkemet2<-mcmctotsample1[,"kemet2"]
vkemet3<-mcmctotsample1[,"kemet3"]
vkm1<-mcmctotsample1[,"km1"]
vkm2<-mcmctotsample1[,"km2"]
vkm3<-mcmctotsample1[,"km3"]
vsigma<-mcmctotsample1[,"sigma"]
vsigma1<-mcmctotsample1[,"sigma1"]
vsigmaMet1<-mcmctotsample1[,"sigmaMet1"]
vsigmaMet2<-mcmctotsample1[,"sigmaMet2"]
vsigmaMet3<-mcmctotsample1[,"sigmaMet3"]
vCpred<-mcmctotsample1[,"Cpred"]
vCpredMet1<-mcmctotsample1[,"CpredMet1"]

```



```

vCpredMet2<-mcmctotsample1[,"CpredMet2"]
vCpredMet3<-mcmctotsample1[,"CpredMet3"]
vL<-mcmctotsample1[,"L"]

#number of predictions
l<-500
#creation of time vector predictions
vt<-seq(0,tend,length.out = l)
#creation of storage vector of quantiles for 2.5, 50 and 97.5%
qinfL<-vector(length = l); qmedL<-vector(length = l); qsupL<-vector(length = l)
qinf<-vector(length = l); qmed<-vector(length = l); qsup<-vector(length = l)
qinfm<-vector(length = l); qmedm<-vector(length = l); qsupm<-vector(length = l)
qinfm2<-vector(length = l); qmedm2<-vector(length = l); qsupm2<-vector(length = l)
qinfm3<-vector(length = l); qmedm3<-vector(length = l); qsupm3<-vector(length = l)
#implementation of predictions
for (i in 1:l)
{
  vL<-vLmax-(vLmax-vL0)*exp(-vkg*vt[i])
  vLobs~dnorm(vL, tauL)

  if(vt[i]<tc+0.00001)
  {
    vCpred<-(((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)) + (C0-
    (((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))* (exp(-
    (vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*vt[i])))
    vCpredMet1 <-
    (((vkm1*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/((vke+vkm1+vkm2+vkm
    3+vkg)-vkemet1))*(exp(-(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*vt[i])-exp(-vkemet1*vt[i]))) +
    (((vkm1*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/vkemet1)*(1-
    exp(-vkemet1*vt[i])))
    vCpredMet2 <-
    (((vkm2*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/((vke+vkm1+vkm2+vkm
    3+vkg)-vkemet2))*(exp(-(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*vt[i])-exp(-vkemet2*vt[i]))) +
    (((vkm2*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/vkemet2)*(1-
    exp(-vkemet2*vt[i])))
    vCpredMet3 <-
    (((vkm3*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/((vke+vkm1+vkm2+vkm
    3+vkg)-vkemet3))*(exp(-(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*vt[i])-exp(-vkemet3*vt[i]))) +
    (((vkm3*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vkl*Cl))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/vkemet3)*(1-
    exp(-vkemet3*vt[i])))}

  else

```

```

{
  vCpred<-(((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)) * exp(-
(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*(vt[i]-tc)))+(C0-
(((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)))*exp(-
(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*vt[i]))
  vCpredMet1<-
(((vkm1*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/((vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)-vkemet1))*(exp(-(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*(vt[i])))-exp(-vkemet1*(vt[i]))))
+
(((vkm1*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/vkemet1)*(1-exp(-vkemet1*(vt[i])))))*exp(-vkemet1*(vt[i]-tc))
  vCpredMet2<-
(((vkm2*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/((vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)-vkemet2))*(exp(-(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*(vt[i])))-exp(-vkemet2*(vt[i]))))
+
(((vkm2*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/vkemet2)*(1-exp(-vkemet2*(vt[i])))))*exp(-vkemet2*(vt[i]-tc))
  vCpredMet3<-
(((vkm3*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/((vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)-vkemet3))*(exp(-(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg)*(vt[i])))-exp(-vkemet3*(vt[i]))))
+
(((vkm3*((vkw*Cw)+(vks*Cs)+(vk1*C1))/(vke+vkm1+vkm2+vkm3+vkg))/vkemet3)*(1-exp(-vkemet3*(vt[i])))))*exp(-vkemet3*(vt[i]-tc))}

tau<-1/(vsigma*vsigma)
tauL<-1/(vsigmaL*vsigmaL)
tauMet1<-1/(vsigmaMet1*vsigmaMet1)
tauMet2<-1/(vsigmaMet2*vsigmaMet2)
tauMet3<-1/(vsigmaMet3*vsigmaMet3)

vLobs<-dnorm(vL[i],tauL)
vCobs<-dnorm(vCpred[i],tau)
vCobsMet1<-dnorm(vCpredMet1[i],tauMet1)
vCobsMet2<-dnorm(vCpredMet2[i],tauMet2)
vCobsMet3<-dnorm(vCpredMet3[i],tauMet3)

qinfL[i]<-quantile(vL, probs=0.025)
qmedL[i]<-quantile(vL, probs=0.5)
qsupL[i]<-quantile(vL, probs=0.975)

qinf[i]<-quantile(vCpred, probs=0.025)
qmed[i]<-quantile(vCpred, probs=0.5)
qsup[i]<-quantile(vCpred, probs=0.975)

```

```

qinfm[i]<-quantile(vCpredMet1, probs=0.025)
qmedm[i]<-quantile(vCpredMet1, probs=0.5)
qsupm[i]<-quantile(vCpredMet1, probs=0.975)

qinfm2[i]<-quantile(vCpredMet2, probs=0.025)
qmedm2[i]<-quantile(vCpredMet2, probs=0.5)
qsupm2[i]<-quantile(vCpredMet2, probs=0.975)

qinfm3[i]<-quantile(vCpredMet3, probs=0.025)
qmedm3[i]<-quantile(vCpredMet3, probs=0.5)
qsupm3[i]<-quantile(vCpredMet3, probs=0.975)
}

library(Hmisc)
par(mfrow=c(1,1))
#observed data
plot(Cobs~t, pch=16, xlim=c(0,tend),ylim=c(0,max(Cobs)),col="red",xlab="Time (d)",
ylab="Contaminant concentration in organism (units ww)")
#predicted data
lines(vt, qmed, col="black", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qinf, col="black", lwd=0.5, lty=2)
lines(vt, qsup, col="black", lwd=0.5, lty=2)
points(Cobsmet1~t, pch=1, col="blue") #donnes observees
lines(vt, qmedm, col="darkblue", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qinfm, col="darkblue", lwd=0.5, lty=2)
lines(vt, qsupm, col="darkblue", lwd=0.5, lty=2)
points(Cobsmet2~t, pch=21, col="darkgreen") #donnes observees
lines(vt, qmedm2, col="darkgreen", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qinfm2, col="darkgreen", lwd=0.5, lty=2)
lines(vt, qsupm2, col="darkgreen", lwd=0.5, lty=2)
points(Cobsmet3~t, pch=21, col="green") #donnes observees
lines(vt, qmedm3, col="green", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qinfm3, col="green", lwd=0.5, lty=2)
lines(vt, qsupm3, col="green", lwd=0.5, lty=2)
abline(v=tc, lty=3)

#Or plot with polygon function
library(Hmisc)

```

```

par(mfrow=c(1,1))
plot(Cobs~t, pch=16, col="black",xlab="Time (d)", ylab="Contaminant concentration
in organism (units ww)") #donnees observees
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinf,rev(qsup)),col="#c1d2d2fe",border=NA, lwd=2)
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinfm,rev(qsupm)),col="#99ca968a",border=NA, lwd=2)
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinfm2,rev(qsupm2)),col="#b6c76a",border=NA, lwd=2)
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinfm3,rev(qsupm3)),col="#deee96",border=NA, lwd=2)
points(Cobs~t, pch=16, col="darkgreen")
points(Cobsmet~t, pch=16, col="chartreuse3")
points(Cobsmet2~t, pch=16, col="#089043")
points(Cobsmet3~t, pch=16, col="#green")
lines(vt, qmed, col="darkgreen", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qmedm, col="chartreuse3", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qmedm2, col="#089043", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qmedm3, col="#deee96", lwd=2, lty=1)
abline(v=tc,lty=2)

```

#growth plot#

```

plot(Lobs~t, data=data, pch=16, xlab="Time (d)", ylab="Size of xxxxx (units)",
col="blue")
lines(vt, qinfL, col="red", lwd=1, lty=2)
lines(vt, qmedL, col="red", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qsupL, col="red", lwd=1, lty=2)
points((data998[,2]/24), (data998[,1]), col="black", pch=1)
legend("topleft", legend = c("median model prediction","95% credibility
interval","mean measured sizes","measured sizes"), col = c("red",
"red","blue","black"), lty = c(1,2,0,0),lwd=c(2,1,0,0),pch=c(-1,-1,16,1),
cex=0.60)

```

```

#####
#####

```

```

##### Application to NQEbiota / Field data
#####

```

```

#####
#####

```

NQE=xxxx #complete with NQE value in biota (ww)

Cs=xxx #complete with contaminant concentration in sediment on the field

Cw=xxx #complete with contaminant concentration in water on the field

```

plot(Cobs~t, pch=16, col="black",xlab="Time (d)", ylab="Contaminant concentration
in organism (units ww)") #donnes observees
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinf,rev(qsup)),col="#c1d2d2fe",border=NA, lwd=2)
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinfm,rev(qsupm)),col="#99ca968a",border=NA, lwd=2)
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinfm2,rev(qsupm2)),col="#b6c76a",border=NA, lwd=2)
polygon(c(vt,rev(vt)),c(qinfm3,rev(qsupm3)),col="#deee96",border=NA, lwd=2)
points(Cobs~t, pch=16, col="darkgreen")
points(Cobsmet~t, pch=16, col="chartreuse3")
points(Cobsmet2~t, pch=16, col="#089043")
points(Cobsmet3~t, pch=16, col="#green")
lines(vt, qmed, col="darkgreen", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qmedm, col="chartreuse3", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qmedm2, col="#089043", lwd=2, lty=1)
lines(vt, qmedm3, col="#deee96", lwd=2, lty=1)
abline(v=tc,lty=2)
abline(h=NQE,lty=2, col="red")

```

8.3 Valorisation

Conférences scientifiques

- Aude Ratier, Marc Babut, Christelle Lopes, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Olivier Geffard - Modélisation biodynamique de l'accumulation de composés organiques persistants par des invertébrés benthiques d'eau douce – Communication orale, SEFA, Lille, 29-30 Juin 2017.
- Aude Ratier, Christelle Lopes, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Laurent Peluhet, Nicolas Delorme, Hervé Quéau, Olivier Geffard, Marc Babut - A Bayesian approach to estimate biodynamic model parameters: bioaccumulation of PCB 153 by the freshwater crustacean *Gammarus fossarum* – Communication affichée, SETAC, Rome (I), 13-17 mai 2018).
- Aude Ratier, Christelle Lopes, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Laurent Peluhet, Nicolas Delorme, Laura Garnero, Olivier Geffard, Marc Babut - Bioaccumulation and biotransformation of Hexabromocyclododecane (HBCD) by the freshwater crustacean *Gammarus fossarum*: a Bayesian approach to estimate biodynamic model parameters - Communication affichée, SETAC, Rome (I), 13-17 mai 2018.
- Aude Ratier, Christelle Lopes, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Olivier Geffard, Marc Babut - Approche bayésienne pour estimer les paramètres d'un modèle biodynamique chez les invertébrés benthiques d'eau douce - Communication orale, SEFA, Montpellier, 27-28 juin 2018
- Aude Ratier, Christelle Lopes, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Olivier Geffard, Marc Babut - An attempt to account for biotransformation in bioaccumulation models for aquatic invertebrate species. - Communication orale, SETAC, Helsinki (FI), 26-30 mai 2019.
- Aude Ratier, Christelle Lopes, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Olivier Geffard, Marc Babut - Bioaccumulation of brominated flame retardants (BFRs) by two freshwater invertebrates exposed by different routes - Communication affichée, SETAC, Helsinki (FI), 26-30 mai 2019.

Articles dans des revues scientifiques à comité de lecture

1. Aude Ratier, Christelle Lopes, Pierre Labadie, Hélène Budzinski, Nicolas Delorme, Hervé Quéau, Laurent Peluhet, Olivier Geffard, Marc Babut - A unified Bayesian framework for estimating model parameters for the bioaccumulation of organic chemicals by benthic invertebrates: proof of concept with PCB153 and two freshwater species – soumis à *Ecotoxicology and Environmental Safety* (Elsevier)
2. Aude Ratier, Christelle Lopes, Véronique Duvillard, Hélène Budzinski, Pierre Labadie, Sylvie Augnagneur, Partick Pardon, Laura Garnero, Nicolas Delorme, Olivier Geffard, Marc Babut - Bioaccumulation of brominated flame retardants (BFRs) by two freshwater invertebrates – in prep.

9 Bibliographie

- Arnot JA, Mackay D, Parkerton TF, Bonnell M (2008). A database of fish biotransformation rates for organic chemicals. *Environ Toxicol Chem*, **27** : 2263-2270.
- Arnot JA, Meylan W, Tunkel J, Howard PH, Mackay D, Bonnell M, Boethling RS (2009). A quantitative structure-activity relationship for predicting metabolic biotransformation rates for organic chemicals in fish. *Environ Toxicol Chem*, **28** : 1168-1177.
- Ashauer R, Hintermeister A, O'Connor I, Elumelu M, Hollender J, Escher BI (2012). Significance of xenobiotic metabolism for bioaccumulation kinetics of organic chemicals in gammarus pulex. *Environ Sci Technol*, **46** : 3498-3508.
- Babut M (2016). *Conception d'une stratégie de veille vis-à-vis des contaminants émergents dans le bassin Rhône-Méditerranée*, Agence de l'Eau Rhône-Méditerranée-Corse / Irstea, Lyon.
- Babut M, Ferrari BJD, Lauzent M, Simonnet-Laprade C, Labadie P, Budzinski H (2016). *Accumulation de contaminants prioritaires par des invertébrés et poissons d'eau douce - Facteurs d'amplification trophique pour l'hexabromocyclododécane, le perfluorooctane sulfonate et les polybromodiphényléthers*, Onema
- Baudrimont M, Andres S, Durrieu G, Boudou A (2003). The key role of metallothioneins in the bivalve *Corbicula fluminea* during the depuration phase, after in situ exposure to Cd and Zn. *Aquat Toxicol*, **63** : 89-102.
- Belzunce-Segarra MJ, Simpson SL, Amato ED, Spadaro DA, Hamilton IL, Jarolimek CV, Jolley DF (2015). The mismatch between bioaccumulation in field and laboratory environments: Interpreting the differences for metals in benthic bivalves. *Environ Pollut*, **204** : 48-57.
- Bertin D, Ferrari BJD, Labadie P, Sapin A, Garric J, Budzinski H, Houde M, Babut M (2014). Bioaccumulation of perfluoralkyl compounds in midge (*Chironomus riparius*) larvae exposed to sediment. *Environ Pollut*, **189** : 27-34.
- Bertin D, Labadie P, Ferrari BJD, Sapin A, Garric J, Geffard O, Budzinski H, Babut M (2016). Potential exposure routes and accumulation kinetics for poly- and perfluorinated alkyl compounds for a freshwater amphipod: *Gammarus* spp. (Crustacea). *Chemosphere*, **155** : 380-387.
- Bodin N, Abarnou A, Fraisse D, Defour S, Loizeau V, Le Guellec AM, Philippon X (2007). PCB, PCDD/F and PBDE levels and profiles in crustaceans from the coastal waters of Brittany and Normandy (France). *Mar Pollut Bull*, **54** : 657-668.
- Booij K, Smedes F, Van Weerlee EM, Honkoop PJC (2006). Environmental monitoring of hydrophobic organic contaminants: The case of mussels versus semipermeable membrane devices. *Environ Sci Technol*, **40** : 3893-3900.
- Bourgeault A, Gourlay-Francé C (2013). Monitoring PAH contamination in water: Comparison of biological and physico-chemical tools. *Sci Tot Environ*, **454-455** : 328-336.
- Brooke LT, Ankley GT, Call DJ, Cook PM (1996). Gut content weight and clearance rate for three species of freshwater invertebrates. *Environ Toxicol Chem*, **15** : 223-228.
- Burkhard LP, Arnot JA, Embry MR, Farley KJ, Hoke RA, Kitano M, Leslie HA, Lotufo GR, Parkerton TF, Sappington KG, Tomy GT, Woodburn KB (2012). Comparing laboratory- and field-measured biota-sediment accumulation factors. *Integr Environ Assess Manag*, **8** : 32-41.
- Caillot A (1970). Radioactive tracer sediment marking methods, (Les methodes de marquage des sediments par des indicateurs radioactifs). *Houille blanche*, **25** : 661-674.
- Carrasco-Navarro V, Jæger I, Honkanen JO, Kukkonen JVK, Carroll J, Camus L (2015). Bioconcentration, biotransformation and elimination of pyrene in the arctic crustacean *Gammarus setosus* (Amphipoda) at two temperatures. *Mar Environ Res*, **110** : 101-109.
- Casado-Martinez MC, Smith BD, DelValls TA, Luoma SN, Rainbow PS (2009a). Biodynamic modelling and the prediction of accumulated trace metal concentrations in the polychaete *Arenicola marina*. *Environ Pollut*, **157** : 2743-2750.
- Casado-Martinez MC, Smith BD, DelValls TA, Rainbow PS (2009b). Pathways of trace metal uptake in the lugworm *Arenicola marina*. *Aquat Toxicol*, **92** : 9-17.
- Casado-Martinez MC, Smith BD, Luoma SN, Rainbow PS (2010). Bioaccumulation of arsenic from water and sediment by a deposit-feeding polychaete (*Arenicola marina*): A biodynamic modelling approach. *Aquat Toxicol*, **98** : 34-43.
- Casado-Martinez MC, Smith BD, Rainbow PS (2013). Assessing metal bioaccumulation from estuarine sediments: Comparative experimental results for the polychaete *Arenicola marina*. *J Soils Sediments*, **13** : 429-440.

- Coulaud R, Geffard O, Xuereb B, Lacaze E, Quéau H, Garric J, Charles S, Chaumot A (2011). In situ feeding assay with *Gammarus fossarum* (Crustacea): Modelling the influence of confounding factors to improve water quality biomonitoring. *Water Research*, **45** : 6417-6429.
- Covaci A, Gerecke AC, Law RJ, Voorspoels S, Kohler M, Heeb NV, Leslie H, Allchin CR, de Boer J (2006). Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the Environment and Humans: A Review. *Environ Sci Technol*, **40** : 3679-3688.
- Croteau MN, Hare L, Campbell PGC, Couillard Y (2002). Metallothionein-like metal-binding protein in the biomonitor *Chaoborus*: occurrence and relationship to ambient metal concentrations in lakes. *Environ Toxicol Chem*, **21** : 737-741.
- Croteau MN, Luoma SN (2009). Predicting dietborne metal toxicity from metal influxes. *Environ Sci Technol*, **43** : 4915-4921.
- Di Toro DM, Zarba CS, Hansen DJ, Berry WJ, Swartz RC, Cowan CE, Pavlou SP, Allen HE, Thomas NA, Paquin PR (1991). Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning. *Environ Toxicol Chem*, **10** : 1541-1583.
- Du M, Lin L, Yan C, Zhang X (2012). Diastereoisomer- and enantiomer-specific accumulation, depuration, and bioisomerization of hexabromocyclododecanes in Zebrafish (*Danio rerio*). *Environ Sci Technol*, **46** : 11040-11046.
- Duvillard V (2018). *Cinétiques d'accumulation et d'élimination d'un retardateur de flamme et de son/ses métabolite(s) par un invertébré benthique d'eau douce, Gammarus sp.* Université Paris-Descartes, 69.
- Forrow DM, Maltby L (2000). Toward a mechanistic understanding of contaminant-induced changes in detritus processing in streams: Direct and indirect effects on detritivore feeding. *Environ Toxicol Chem*, **19** : 2100-2106.
- Galic N, Forbes VE (2017). Effects of temperature on the performance of a freshwater amphipod. *Hydrobiologia*, **785** : 35-46.
- Gelman A, Carlin J, Stern HS, Rubin DB (1995). *Bayesian Data analysis (2nd ed.)*. Vol. CRC Press
- Giessing AMB, Mayer LM, Forbes TL (2003). Synchronous fluorescence spectrometry of 1-hydroxypyrene: A rapid screening method for identification of PAH exposure in tissue from marine polychaetes. *Mar Environ Res*, **56** : 599-615.
- Gobas FAPC, Lo JC (2016). Deriving bioconcentration factors and somatic biotransformation rates from dietary bioaccumulation and depuration tests. *Environ Toxicol Chem*, **35** : 2968-2976.
- Golding LA, Borgmann U, George Dixon D (2013). Cadmium bioavailability to *Hyalella azteca* from a periphyton diet compared to an artificial diet and application of a biokinetic model. *Aquat Toxicol*, **126** : 291-298.
- Hakk H, Letcher RJ (2003). Metabolism in the toxicokinetics and fate of brominated flame retardants - A review. *Environ Int*, **29** : 801-828.
- Hirabayashi K (1998). Organic matter processing by chironomid larvae (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia*, **382** : 113-118.
- Janssen EML, Croteau M-NI, Luoma SN, Luthy RG (2010). Measurement and Modeling of Polychlorinated Biphenyl Bioaccumulation from Sediment for the Marine Polychaete *Neanthes arenaceodentata* and Response to Sorbent Amendment. *Environ Sci Technol*, **44** : 2857-2863.
- Janssen EML, Thompson JK, Luoma SN, Luthy RG (2011). PCB-induced changes of a benthic community and expected ecosystem recovery following in situ sorbent amendment. *Environ Toxicol Chem*, **30** : 1819-1826.
- Kühnert A, Vogs C, Altenburger R, Küster E (2013). The internal concentration of organic substances in fish embryos—A toxicokinetic approach. *Environ Toxicol Chem*, **32** : 1819-1827.
- Kuo DTF, Chen CC (2016). Deriving in vivo biotransformation rate constants and metabolite parent concentration factor/stable metabolite factor from bioaccumulation and bioconcentration experiments: An illustration with worm accumulation data. *Environ Toxicol Chem*, **35** : 2903-2909.
- Landrum PF (1989). Bioavailability and toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed to sediments for the amphipod *Pontoporeia hoyi*. *Environ Sci Technol*, **23** : 588-595.
- Laue H, Gfeller H, Jenner KJ, Nichols JW, Kern S, Natsch A (2014). Predicting the bioconcentration of fragrance ingredients by rainbow trout using measured rates of in vitro intrinsic clearance. *Environ Sci Technol*, **48** : 9486-9495.
- Law RJ, Allchin CR, de Boer J, Covaci A, Herzke D, Lepom P, Morris S, Tronczynski J, de Wit CA (2006). Levels and trends of brominated flame retardants in the European environment. *Chemosphere*, **64** : 187-208.
- Lebrun JD, Leroy D, Giusti A, Gourelay-Francé C, Thomé JP (2014). Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in *Gammarus pulex*: Relative importance of different exposure routes and multipathway modeling. *Aquat Toxicol*, **154** : 107-113.

- Lebrun JD, Perret M, Geffard A, Gourlay-Francé C (2012). Modelling copper bioaccumulation in *Gammarus pulex* and alterations of digestive metabolism. *Ecotoxicology*, **21** : 2022-2030.
- Lebrun JD, Perret M, Uher E, Tusseau-Vuillemin MH, Gourlay-Francé C (2011). Waterborne nickel bioaccumulation in *Gammarus pulex*: Comparison of mechanistic models and influence of water cationic composition. *Aquat Toxicol*, **104** : 161-167.
- Liu C, Gin KYH, Chang VWC, Goh BPL, Reinhard M (2011). Novel Perspectives on the Bioaccumulation of PFCs – the Concentration Dependency. *Environ Sci Technol*, **45** : 9758-9764.
- Lo JC, Letinski DJ, Parkerton TF, Campbell DA, Gobas FAPC (2016). In vivo biotransformation rates of organic chemicals in fish: Relationship with bioconcentration and biomagnification factors. *Environ Sci Technol*, **50** : 13299-13308.
- Luoma SN, Rainbow PS (2005). Why is metal bioaccumulation so variable ? Biodynamics as a unifying concept. *Environ Sci Technol*, **39** : 1921-1931.
- McLeod PB, Luoma SN, Luthy RG (2008). Biodynamic modeling of PCB uptake by *Macoma balthica* and *Corbicula fluminea* from sediment amended with activated carbon. *Environ Sci Technol*, **42** : 484-490.
- Meador JP, Adams WJ, Escher BI, McCarty LS, McElroy AE, Sappington KG (2011). The tissue residue approach for toxicity assessment: Findings and critical reviews from a Society of Environmental Toxicology and Chemistry Pellston Workshop. *Integr Environ Assess Manag*, **7** : 2-6.
- Meador JP, Collier TK, Stein JE (2002). Use of tissue and sediment-based threshold concentrations of polychlorinated biphenyls (PCBs) to protect juvenile salmonids listed under the US Endangered Species Act. *Aquatic Conserv- Mar Freshw Ecosyst*, **12** : 493-516.
- Nichols JW, Huggett DB, Arnot JA, Fitzsimmons PN, Cowan-Ellsberry CE (2013). Toward improved models for predicting bioconcentration of well-metabolized compounds by rainbow trout using measured rates of in vitro intrinsic clearance. *Environ Toxicol Chem*, **32** : 1611-1622.
- P.E., C.E. (2013). *Directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau. Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE* In: Européenne C (ed). Journal Officiel des Communautés Européennes L226/221 - L226-217.
- Péry ARR, Mons R, Flammarion P, Lagadic L, Garric J (2002). A modeling approach to link food availability, growth, emergence, and reproduction for the midge *Chironomus riparius*. *Environ Toxicol Chem*, **21** : 2507-2513.
- Poma G, Volta P, Roscioli C, Bettinetti R, Guzzella L (2014). Concentrations and trophic interactions of novel brominated flame retardants, HBCD, and PBDEs in zooplankton and fish from Lake Maggiore (Northern Italy). *Sci Tot Environ*, **481** : 401-408.
- Reinfelder JR, Fisher NS, Luoma SN, Nichols JW, Wang WX (1998). Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach. *Sci Tot Environ*, **219** : 117-135.
- Romito AM, Eggert SL, Diez JM, Bruce Wallace J (2010). Effects of seasonality and resource limitation on organic matter turnover by Chironomidae (Diptera) in southern Appalachian headwater streams. *Limnol Oceanogr*, **55** : 1083-1092.
- Rust AJ, Burgess RM, Brownawell BJ, McElroy AE (2004). Relationship between metabolism and bioaccumulation of benzo[a]pyrene in benthic invertebrates. *Environ Toxicol Chem*, **23** : 2587-2593.
- Sappington KG, Bridges TS, Bradbury SP, Erickson RJ, Jan Hendriks A, Lanno RP, Meador JP, Mount DR, Salazar MH, Spry DJ (2011). Application of the Tissue Residue Approach in Ecological Risk Assessment. *Integr Environ Assess Manag*, **7** : 116-140.
- Schuler LJ, Wheeler M, Bailer AJ, Lydy MJ (2003). Toxicokinetics of sediment-sorbed benzo[a]pyrene and hexachlorobiphenyl using the freshwater invertebrates *Hyaella azteca*, *Chironomus tentans*, and *Lumbriculus variegatus*. *Environ Toxicol Chem*, **22** : 439-449.
- Spacie A, Hamelink JL (1985). Bioaccumulation. In: Rand GM, Petrocelli SR. *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, 495-519.
- Stamm E, Babut M (2019). *Guide opérationnel pour l'évaluation du danger des sédiments contaminés : Une démarche graduée pour estimer le danger*
- Stapleton HM, Letcher RJ, Baker JE (2004a). Debromination of Polybrominated Diphenyl Ether Congeners BDE 99 and BDE 183 in the Intestinal Tract of the Common Carp (*Cyprinus carpio*). *Environ Sci Technol*, **38** : 1054-1061.
- Stapleton HM, Letcher RJ, Li J, Baker JE (2004b). Dietary accumulation and metabolism of polybrominated diphenyl ethers by juvenile carp (*Cyprinus carpio*). *Environ Toxicol Chem*, **23** : 1939-1946.

- Szabo DT, Diliberto JJ, Hakk H, Huwe JK, Birnbaum LS (2010). Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane gamma: Effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism. *Toxicol Sci*, **117** : 282-293.
- Tachet H, Richoux P, Bournaud M, Usseglio-Polatera P (2010). *Invertébrés d'eau douce - Systématique, biologie, écologie*. Vol. CNRS éditions
- Tlili K, Labadie P, Bourges C, Desportes A, Chevreuil M (2012). Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers by the freshwater benthic amphipod *Gammarus pulex*. *Arch Environ Contam Toxicol*, **63** : 69-76.
- Tomy GT, Palace VP, Halldorson T, Braekevelt E, Danell R, Wautier K, Evans B, Brinkworth L, Fisk AT (2004). Bioaccumulation, Biotransformation, and Biochemical Effects of Brominated Diphenyl Ethers in Juvenile Lake Trout (*Salvelinus namaycush*). *Environ Sci Technol*, **38** : 1496-1504.
- Urien N, Uher E, Billoir E, Geffard O, Fechner LC, Lebrun JD (2015). A biodynamic model predicting waterborne lead bioaccumulation in *Gammarus pulex*: Influence of water chemistry and in situ validation. *Environ Pollut*, **203** : 22-30.
- Van der Linde A, Jan Hendriks A, Sijm DTHM (2001). Estimating biotransformation rate constants of organic chemicals from modeled and measured elimination rates. *Chemosphere*, **44** : 423-435.
- Wang WX, Fisher NS (1999). Assimilation efficiencies of chemical contaminants in aquatic invertebrates: A synthesis. *Environ Toxicol Chem*, **18** : 2034-2045.
- Wang WX, Rainbow PS (2008). Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, **148** : 315-323.
- Wästlund D (1999). *The role of sediment characteristics and food regimen in a toxicity test with Chironomus riparius*, Swedish University of Agricultural Sciences - Department of Environmental Assessment, Uppsala.
- Watts MM, Pascoe D (2000). A Comparative Study of *Chironomus riparius* Meigen and *Chironomus tentans* Fabricius (Diptera:Chironomidae) in Aquatic Toxicity Tests. *Arch Environ Contam Toxicol*, **39** : 299-306.
- Wilding J, Maltby L (2006). Relative toxicological importance of aqueous and dietary metal exposure to a freshwater crustacean: Implications for risk assessment. *Environ Toxicol Chem*, **25** : 1795-1801.
- Zegers BN, Mets A, Van Bommel R, Minkenberg C, Hamers T, Kamstra JH, Pierce GJ, Boon JP (2005). Levels of hexabromocyclododecane in harbor porpoises and common dolphins from western European seas, with evidence for stereoisomer-specific biotransformation by cytochrome P450. *Environ Sci Technol*, **39** : 2095-2100.
- Zhang Y, Sun H, Zhu H, Ruan Y, Liu F, Liu X (2014). Accumulation of hexabromocyclododecane diastereomers and enantiomers in two microalgae, *Spirulina subsalsa* and *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicol Environ Safe*, **104** : 136-142.
- Zhao CM, Wang WX (2010). Biokinetic uptake and efflux of silver nanoparticles in *Daphnia magna*. *Environ Sci Technol*, **44** : 7699-7704.

Irstea

1, rue Pierre-Gilles de Gennes
CS 10030
92761 Antony Cedex

01 40 96 61 21

www.irstea.fr

Agence Française pour la Biodiversité

Hall C – Le Nadar
5, square Félix Nadar
94300 Vincennes

01 45 14 36 00

www.afbiodiversite.fr