

# Mesure des biomarqueurs d'immunotoxicité

Du développement à l'application en biosurveillance

M. Palos Ladeiro & K. Costil

Ensemble des collaborateurs :

R. Amara, M. Auffret, A. Bado-Nilles, Y. Ben Cheikh, M. Burlio-Giorgi, M. Charlé, A. Chaumot,  
M. Diop, O. Geffard, C. Lambert, J.M. Lebel, F. Le Foll, A. Poret, A. Serpentine,  
D. Rioult, G. Tremolet, B. Xuereb

Portage & coordination



Financement



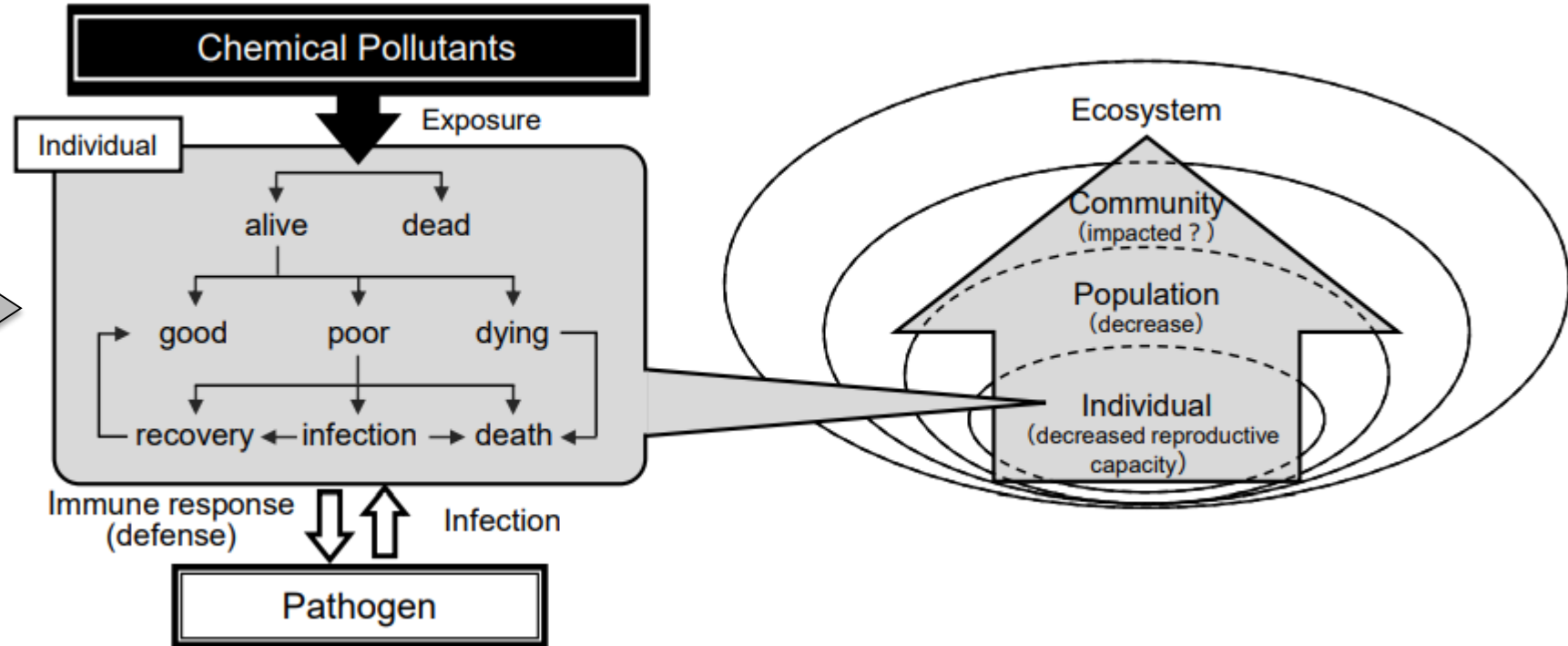
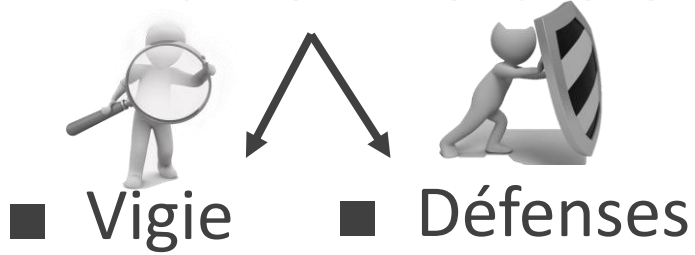
Labélisation



Consortium scientifique



L'immunité = 2 fonctions



International Journal of  
*Molecular Sciences* 2021, 22, 8305.



Review  
**Ecological Risks Due to Immunotoxicological Effects on Aquatic Organisms**

Chisato Kataoka <sup>1,\*</sup> and Shosaku Kashiwada <sup>2,3</sup>

L'immunité = 2 fonctions

L'immunité = plusieurs composantes

■ Anté-Immunité

- **Barrières** physiques, chimiques, microbiologiques (peau, muqueuses des voies respiratoire et uro-génitale, acidité des voies gastro-intestinales...)

## L'immunité = 2 fonctions

- Anté-Immunité

## L'immunité = plusieurs composantes

- Immunité innée

### Effecteurs moléculaires

- Reconnaissance
- Signalisation
- Internalisation
- Élimination



Etudes en immunologie pour étayer les relations hôte-pathogène



### Current Opinion in Microbiology

Volume 59, February 2021, Pages 58-64

### Molecular mechanisms employed by enteric bacterial pathogens to antagonise host innate immunity

Jiyao Gan<sup>1,2</sup>, Cristina Giogha<sup>2,3</sup>, Elizabeth L Hartland<sup>2,3</sup> ✉

Open Access Review

### The Defensive Interactions of Prominent Infectious Protozoan Parasites: The Host's Complement System

by Sajad Rashidi<sup>1,2</sup> , Reza Mansouri<sup>3</sup>, Mohammad Ali-Hassanzadeh<sup>4</sup>, Antonio Muro<sup>5</sup> , Paul Nguewa<sup>6,\*</sup> and Raúl Manzano-Román<sup>5,\*</sup>



### Virology Journal

Home About Articles Sections Submission Guidelines



Review | Open Access | Published: 19 March 2022

### The molecular mechanism of SARS-CoV-2 evading host antiviral innate immunity

Wenjing Gu, Hui Gan, Yu Ma, Lina Xu, Zhangkai J. Cheng, Bizhou Li, Xinxing Zhang, Wujun Jiang, Jinlv Sun ✉, Baoqing Sun ✉ & Chuangli Hao ✉

Virology Journal 19, Article number: 49 (2022) | Cite this article

5181 Accesses | 12 Citations | 5 Altmetric | Metrics

## L'immunité = 2 fonctions

### ■ Anté-Immunité

### Effecteurs moléculaires

- Reconnaissance
- Signalisation
- Internalisation
- Élimination

### Effecteurs cellulaires

- Apoptose / nécrose
- Phagocytose
- Encapsulation
- Aggrégation/coagulation



Etudes en écotoxicologie pour déterminer l'état de fonctionnalité des immunocytes

## L'immunité = plusieurs composantes

### ■ Immunité innée



Aquatic Toxicology  
Volume 40, Issues 2-3, January 1998, Pages 141-156



### Response of fish immune cells to in vitro organotin exposures

K. O'Halloran, J.T. Ahokas, P.F.A. Wright

Fish & Shellfish Immunology 46 (2015) 88-93



Contents lists available at ScienceDirect

Fish & Shellfish Immunology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/fsi](http://www.elsevier.com/locate/fsi)

Full length article

Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves

T. Renault

Ecotoxicology and Environmental Safety 120 (2015) 35-40

Contents lists available at ScienceDirect



Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ecoenv](http://www.elsevier.com/locate/ecoenv)

### Involvement of fish immunomarkers in environmental biomonitoring approach: Urban and agri-viticultural context

Anne Bado-Nilles<sup>a,b,\*</sup>, Sabrina Jolly<sup>a,b</sup>, Florent Lamand<sup>c</sup>, Alain Geffard<sup>a</sup>, Béatrice Gagnaire<sup>d</sup>, Cyril Turies<sup>b</sup>, Jean-Marc Porcher<sup>b</sup>, Wilfried Sanchez<sup>b</sup>, Stéphane Betoulle<sup>a</sup>

ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY : NEW CONCEPTS, NEW TOOLS

### Flow cytometry detection of lysosomal presence and lysosomal membrane integrity in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) immune cells: applications in environmental aquatic immunotoxicology.

Anne Bado-Nilles · Stéphane Betoulle · Alain Geffard · Jean-Marc Porcher · Béatrice Gagnaire · Wilfried Sanchez

## L'immunité = 2 fonctions

### ■ Anté-Immunité

### Effecteurs moléculaires

- Reconnaissance
- Signalisation
- Internalisation
- Élimination

### Effecteurs cellulaires

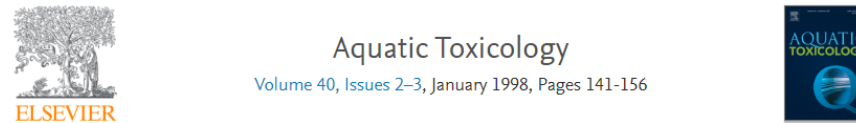
- Apoptose / nécrose
- Phagocytose
- Encapsulation
- Aggrégation/coagulation



Etudes en écotoxicologie pour déterminer l'état de fonctionnalité des immunocytes

## L'immunité = plusieurs composantes

### ■ Immunité innée



Response of fish immune cells to in vitro organotin exposures

K. O'Halloran, J.T. Ahokas, P.F.A. Wright



Immunotoxicological effects of environmental contaminants on marine bivalves

T. Renault



Assessment of fish immunomarkers in environmental biomonitoring approach: Urban and agri-viticultural context

Anne Bado-Nilles<sup>a,b,\*</sup>, Sabrina Jolly<sup>a,b</sup>, Florent Lamand<sup>c</sup>, Alain Geffard<sup>a</sup>, Béatrice Gagnaire<sup>d</sup>, Cyril Turies<sup>b</sup>, Jean-Marc Porcher<sup>b</sup>, Wilfried Sanchez<sup>b</sup>, Stéphane Betoulle<sup>a</sup>

ECOTOXICOLOGY AND ENVIRONMENTAL TOXICOLOGY : NEW CONCEPTS, NEW TOOLS

**Flow cytometry detection of lysosomal presence and lysosomal membrane integrity in the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.) immune cells: applications in environmental aquatic immunotoxicology.**

Anne Bado-Nilles · Stéphane Betoulle · Alain Geffard · Jean-Marc Porcher · Béatrice Gagnaire · Wilfried Sanchez

Peu de littérature sur les crustacés

### L'immunité = 2 fonctions

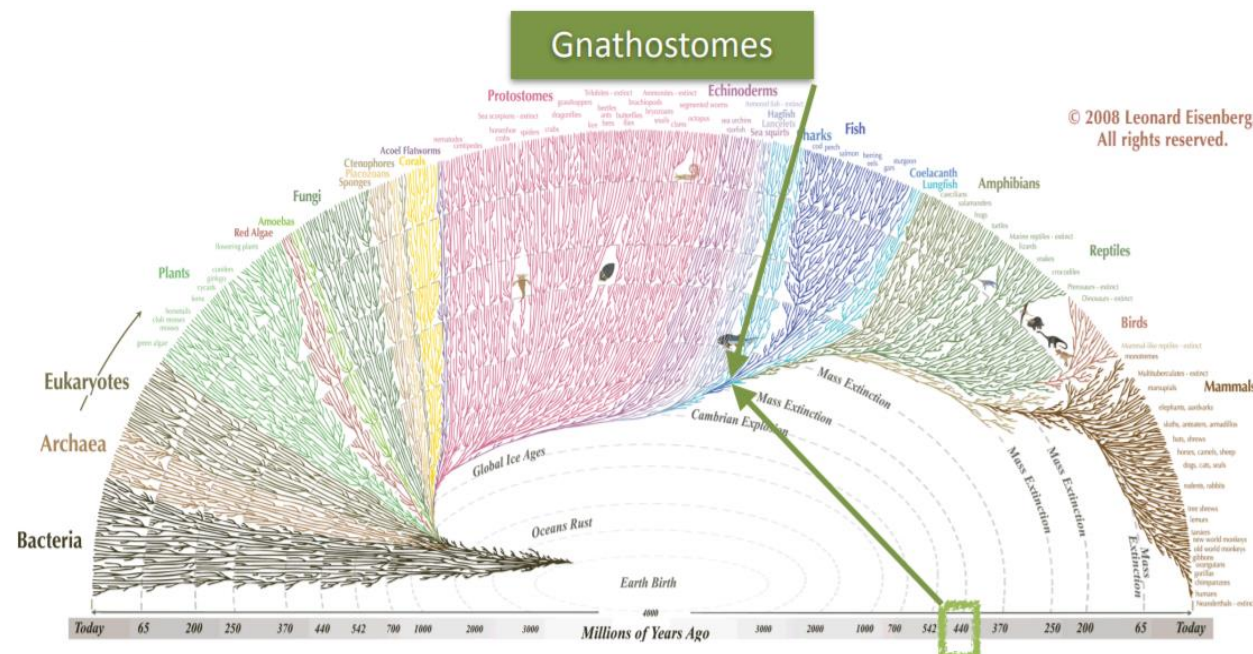
#### ■ Anté-Immunité

- - Haute spécificité antigénique
- - Effet mémoire en cas de réinfection

### L'immunité = plusieurs composantes

#### ■ Immunité innée

#### ■ Immunité acquise (adaptative)



# Immunité(s)

## Pourquoi s'intéresser aux marqueurs immunitaires ?

### L'immunité = 2 fonctions

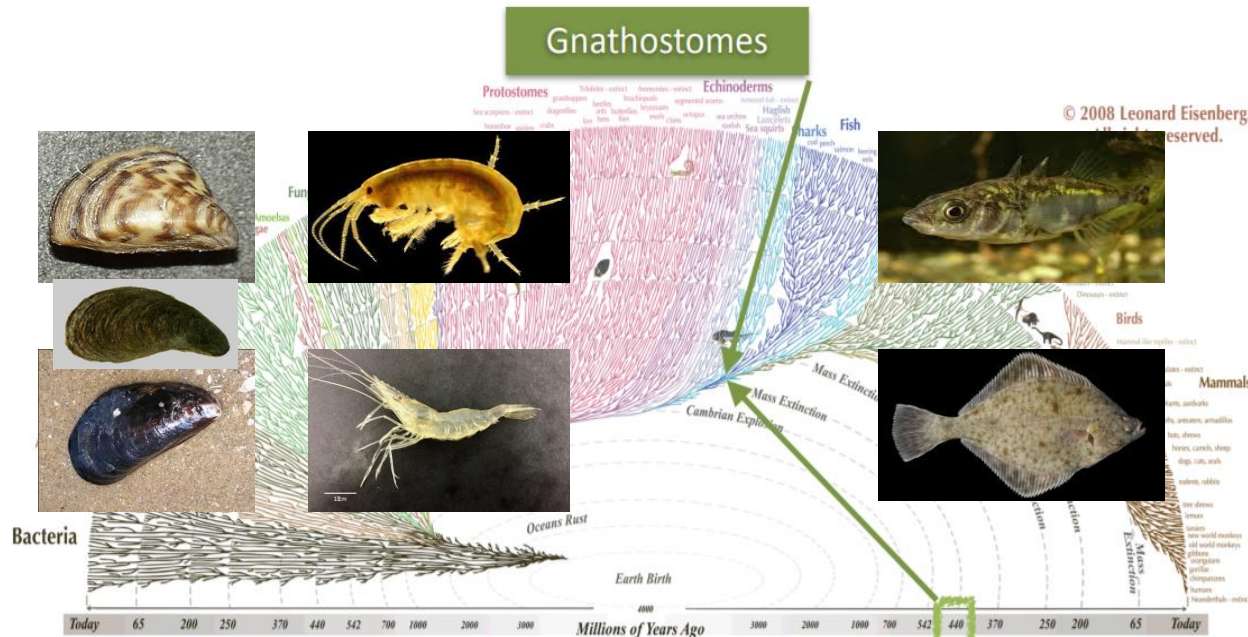
#### ■ Anté-Immunité

- - Haute spécificité antigénique
- - Effet mémoire en cas de réinfection

### L'immunité = plusieurs composantes

#### ■ Immunité innée

#### ■ Immunité acquise (adaptative)





L'immunité = 2 fonctions

■ Anté-Immunité

L'immunité = plusieurs composantes

■ Immunité innée

■ Immunité acquise  
(adaptative)



Point commun à l'ensemble du vivant

## Phagocytose

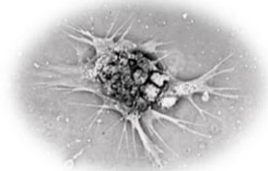
*BIOL.: Processus d'englobement et de digestion par une cellule de particules solides ou d'autres cellules qu'elle trouve dans son milieu. (Verch.-Bud. 1981).*



- Mécanismes d'action conservés
- Réponses prédictives, sensibles
- Permettent de s'affranchir de la réponse adaptative, plus complexe et spécifique d'agents du non-soi, par définition moins universelle pour décrire la qualité d'un milieu.

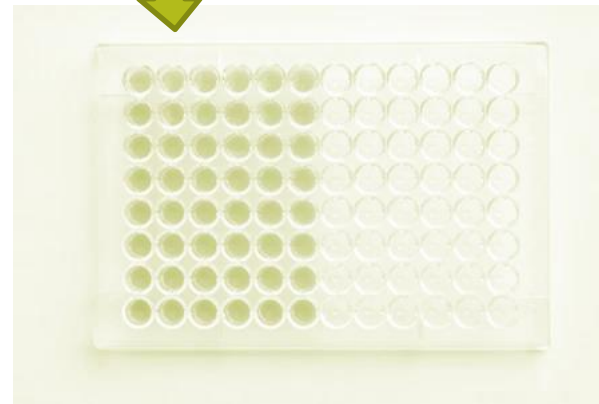
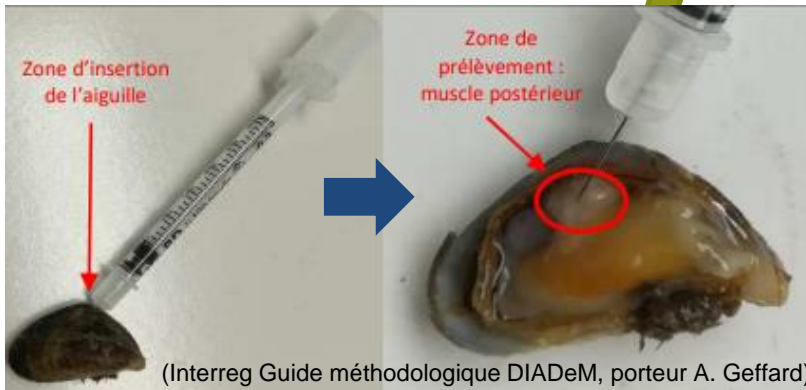
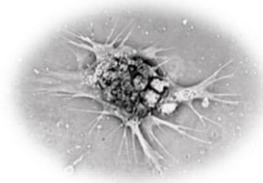
Comparaison des conditions individuelles

- Identification des immunocytes
- Optimisation du prélèvement et maintien des immunocytes
- Variabilité individuelle



Comparaison des conditions individuelles

- Identification des immunocytes
- Optimisation du prélèvement et maintien des immunocytes
- Variabilité individuelle

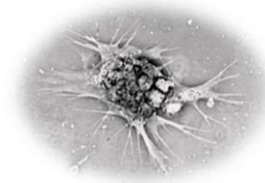


Miniaturisation du test pour

1. Evaluation de plusieurs réponses biologiques sur le même prélèvement (cytotoxicité et immunotoxicité)
2. Calibration des paramètres inter-échantillons (nombre de cellules, volume final, volume de réactifs)
3. Passage de plus d'échantillons (N = 10/site ou conditions)

Comparaison des conditions individuelles


- Identification des immunocytes
- Optimisation du prélèvement et maintien des immunocytes
- Variabilité individuelle



Développement de différents immunomarqueurs en lien avec l'activité phagocytaire

- Calibration épreuve de phagocytose
- Répétabilité des mesures

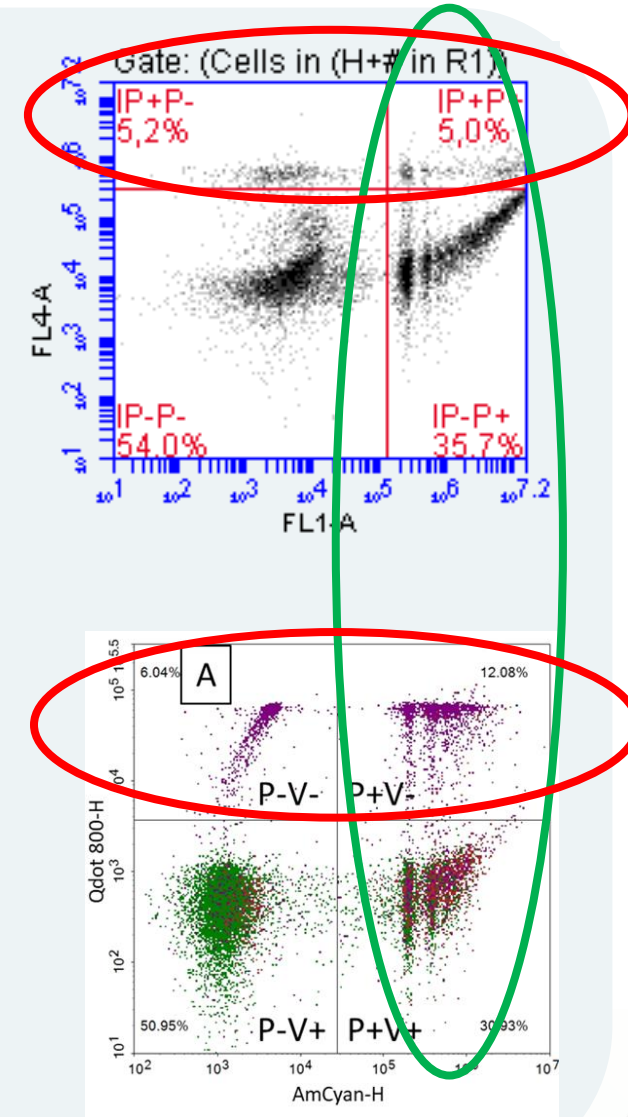


 **Fish & Shellfish Immunology**  
Volume 98, March 2020, Pages 224-235

Full length article

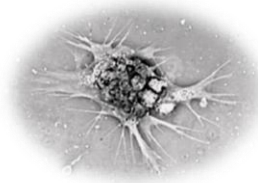
**A new protocol for the simultaneous flow cytometric analysis of cytotoxicity and immunotoxicity on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) hemocytes**

Iris Barjhoux <sup>a</sup> ✉, Damien Rioult <sup>a, b</sup> ✉, Alain Geffard <sup>a</sup> ✉, Melissa Palos Ladeiro <sup>a</sup> ✉



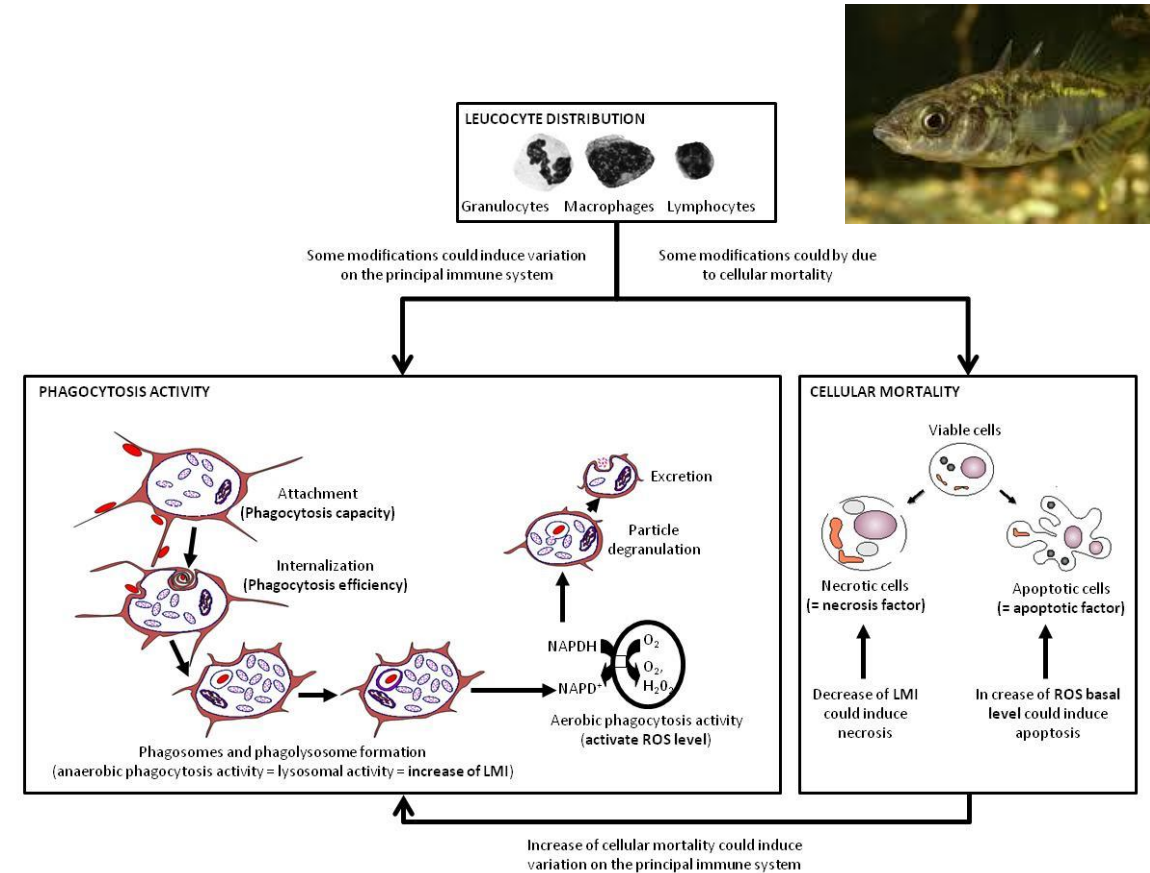
Comparaison des conditions individuelles

- Identification des immunocytes
- Optimisation du prélèvement et maintien des immunocytes
- Variabilité individuelle



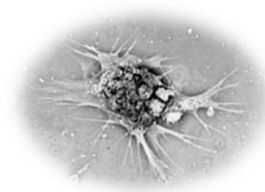
Développement de différents immunomarqueurs en lien avec l'activité phagocytaire

- Calibration épreuve de phagocytose
- Répétabilité des mesures



Comparaison des conditions individuelles

- Identification des immunocytes
- Optimisation du prélèvement et maintien des immunocytes
- Variabilité individuelle



Développement de différents immunomarqueurs en lien avec l'activité phagocytaire

- Calibration épreuve de phagocytose
- Répétabilité des mesures

Ecotoxicology and Environmental Safety 145 (2017) 333–339



Contents lists available at ScienceDirect

Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ecoenv](http://www.elsevier.com/locate/ecoenv)



Evaluation of chlorpyrifos effects, alone and combined with lipopolysaccharide stress, on DNA integrity and immune responses of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*

Adrien Marchand<sup>a</sup>, Jean-Marc Porcher<sup>a</sup>, Cyril Turies<sup>a</sup>, Edith Chadili<sup>a</sup>, Olivier Palluel<sup>a</sup>, Patrick Baudoin<sup>a</sup>, Stéphane Betoulle<sup>b</sup>, Anne Bado-Nilles<sup>a,\*</sup>

Validation en condition de laboratoire  
(*in vitro* / *in vivo*)



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

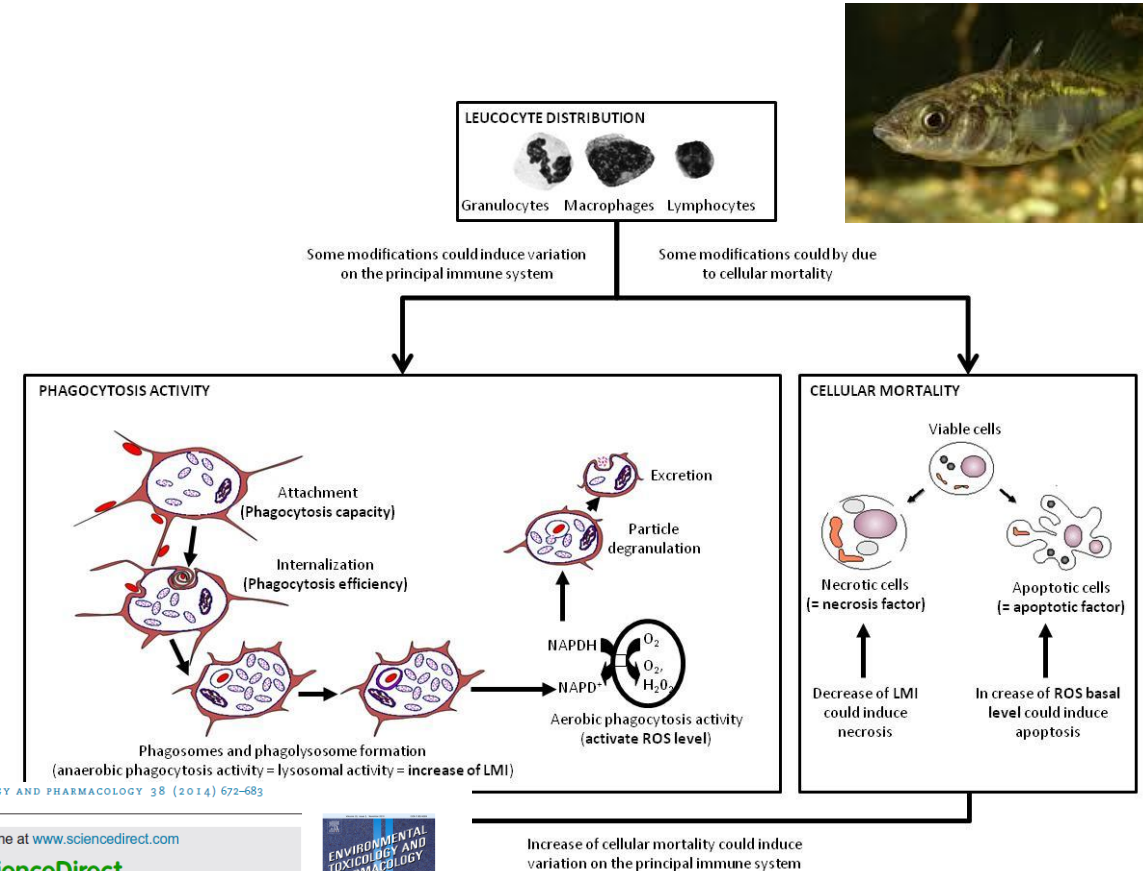
ScienceDirect

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/etap](http://www.elsevier.com/locate/etap)



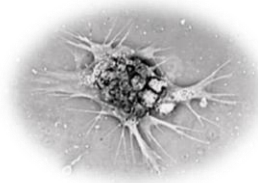
Detection of immunotoxic effects of estrogenic and androgenic endocrine disrupting compounds using splenic immune cells of the female three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* (L.)

A. Bado-Nilles<sup>a,b,\*</sup>, R. Techer<sup>b</sup>, J.M. Porcher<sup>b</sup>, A. Geffard<sup>a</sup>, B. Gagnaire<sup>c</sup>, S. Betoulle<sup>a</sup>, W. Sanchez<sup>b</sup>



Comparaison des conditions individuelles

- Identification des immunocytes
- Optimisation du prélèvement et maintien des immunocytes
- Variabilité individuelle



Développement de différents immunomarqueurs en lien avec l'activité phagocytaire

- Calibration épreuve de phagocytose
- Répétabilité des mesures

Application des immunomarqueurs *in situ*

- Evaluation pression immunotoxique sur X sites
- Discrimination d'un gradient de pression

Fish Physiol Biochem (2016) 42:643–657  
DOI 10.1007/s10695-015-0166-2



**In situ experiments to assess effects of constraints linked to caging on ecotoxicity biomarkers of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.)**

Antoine Le Guernic · Wilfried Sanchez · Olivier Palluel · Anne Bado-Nilles · Cyril Turiès · Edith Chadili · Isabelle Cavalié · Christelle Adam-Guillermin · Jean-Marc Porcher · Alain Geffard · Stéphane Betouille · Béatrice Gagnaire

Ecotoxicology and Environmental Safety 223 (2021) 112580



Ecotoxicology and Environmental Safety

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ecoenv](http://www.elsevier.com/locate/ecoenv)



Application in a biomonitoring context of three-spined stickleback immunomarker reference ranges

Adrien Marchand<sup>a,1</sup>, Cleo Tebby<sup>b,1</sup>, Audrey Catteau<sup>a</sup>, Cyril Turiès<sup>a</sup>, Jean-Marc Porcher<sup>a</sup>, Anne Bado-Nilles<sup>a,\*</sup>



Science of the Total Environment

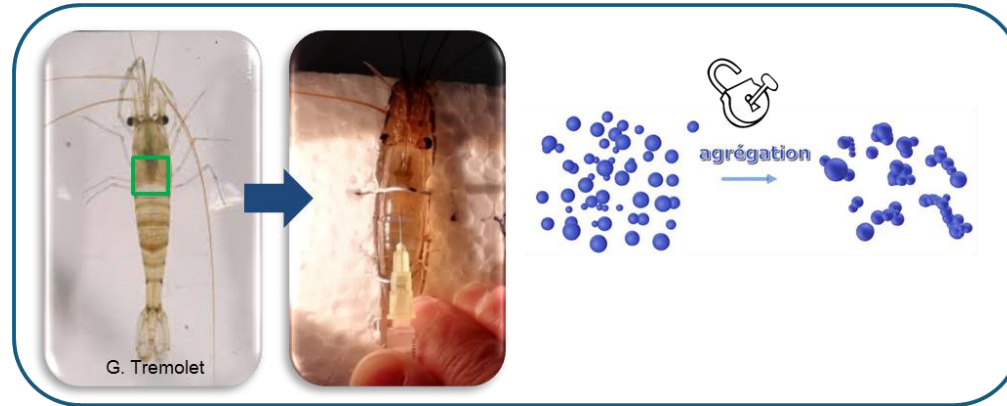
journal homepage: [www.elsevier.com/locate/scitotenv](http://www.elsevier.com/locate/scitotenv)



Interest of a multispecies approach in active biomonitoring: Application in the Meuse watershed

Audrey Catteau<sup>a,\*</sup>, Jean-Marc Porcher<sup>b</sup>, Anne Bado-Nilles<sup>b</sup>, Isabelle Bonnard<sup>a</sup>, Marc Bonnard<sup>a</sup>, Arnaud Chaumot<sup>c</sup>, Elise David<sup>a</sup>, Odile Dedourge-Geffard<sup>a</sup>, Laurence Delahaut<sup>a</sup>, Nicolas Delorme<sup>c</sup>, Adeline François<sup>c</sup>, Laura Garnero<sup>c</sup>, Christelle Lopes<sup>d</sup>, Katherine Nott<sup>f</sup>, Patrice Noury<sup>c</sup>, Olivier Palluel<sup>b</sup>, Mélissa Palos-Ladeiro<sup>a</sup>, Hervé Quéau<sup>c</sup>, Sébastien Ronkart<sup>f</sup>, Khadija Sossey-Alaoui<sup>e</sup>, Cyril Turiès<sup>b</sup>, Bernard Tychon<sup>c</sup>, Olivier Geffard<sup>c</sup>, Alain Geffard<sup>a,\*</sup>





Marine Pollution Bulletin 185 (2022) 114289



Contents lists available at ScienceDirect

## Marine Pollution Bulletin

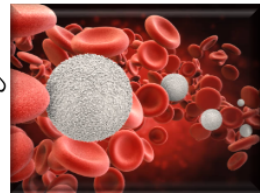
journal homepage: [www.elsevier.com/locate/marpolbul](http://www.elsevier.com/locate/marpolbul)



Baseline

### Bioaccumulation of trace metal elements and biomarker responses in caged juvenile flounder at a polluted site: Effects of fish density and time exposure

Mamadou Diop<sup>a,\*</sup>, Jérôme Couteau<sup>b,c</sup>, Anne Bado-Nilles<sup>b,c</sup>, Eric Tavernier<sup>a</sup>, Baghdad Ouddane<sup>e</sup>, Jeremy Denis<sup>a</sup>, Gwendoline Duong<sup>a</sup>, François Gevaert<sup>a</sup>, Sebastien Monchy<sup>a</sup>, Jean Laroche<sup>d</sup>, Rachid Amara<sup>a</sup>



### c.f. focus sur *Mytilopsis leucophaeata* par K. Costil

### Transfert d'un bioessai d'immunotoxicité chez *Gammarus fossarum*

Mélissa Palos-Ladeiro<sup>1</sup>, Magalie Charlé<sup>2</sup>, Damien Rioult<sup>1</sup>, Antoine Le Guernic<sup>1</sup>, Arnaud Chaumot<sup>2</sup>, Alain Geffard<sup>1</sup>, Olivier Geffard<sup>2</sup>

1 : UMR I-02 SEBIO, UFR Sciences Exactes et Naturelles, Campus Moulin de la Housse, BP 1039, 51687 Reims, France  
2 : INRAE, Riverlab, Laboratoire d'écotoxicologie, 5 Avenue de la Doua, CS20244, 69625 Villeurbanne Cedex, France  
Contact : melissa.palos@univ-reims.fr



Contente :

L'espèce *Gammarus fossarum* est un modèle crustacé pour investiger les masses d'eau continentales (CE encart 1). Cet artémiole amphipode présente de nombreux avantages à être déployé lors des campagnes de biomonitoring active. De part et d'autre dans la chaîne trophique (décomposeur et source de nourriture pour de nombreuses espèces), il joue un rôle important dans les écosystèmes. Le gammarus est sensible à la pollution de l'eau et a déjà fait son preuves pour la surveillance de la qualité des eaux continentales à l'aide des marqueurs de toxicité générale (test d'immortalité, de reproduction et de reproduction). Les marqueurs d'immunotoxicité n'ayant quant à eux pas été investigués malgré que le système immunitaire constitue une cible d'action des contaminants.

Objectifs :

1) développer un bioessai pour mesurer la cytotoxicité et de l'immunosuppression chez *Gammarus fossarum* en se basant sur la mortalité induite par une exposition à des toxines (Cytotoxicité, Cytotoxicité polynucléaire),  
2) appliquer les biomarqueurs après exposition d'organismes en cages.

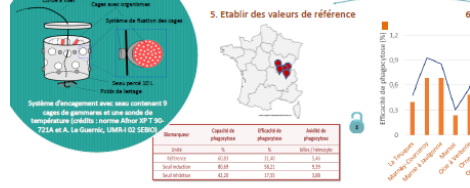
### Mesure de l'immunocompétence via un bioessai de phagocytose

Verrous techniques Verrous analytiques



Les gammarus sont anesthésiés sur glace, l'hémolyse est pratiquée entre la dorsale et le ventral, la suspension est centrifugée. Pool de cinq gammarus.  
La concentration cellulaire est déterminée par comptage des noyaux en microscopie à fluorescence après coloration des noyaux cellulaires avec un colorant vital (Dapi 0.13342).  
Des tests utilisant différentes (1) tailles de microbilles fluorescentes et (2) ratios billes/cellules sont réalisés afin de sélectionner la mesure la plus sensible. Les billes de 0.2µm à un ratio de 200 billes/hémocyte est retenue. Les hémocytes sont incubés à 18°C et à l'obscurité.

### Procédure d'enrichissement



Les gammarus de référence (INRAE) sont placés dans le dispositif d'enrichissement spécifique (CE encart 2) et placés sur 20 sites (5 sites investigués sur 4 campagnes) pendant 7 jours entre novembre 2019 et septembre 2021. Juste après le début, à la fin de l'exposition, les individus sont ramené au laboratoire. Le bioessai de cytotoxicité et d'immunotoxicité est réalisé à J+24h. Les valeurs de référence et les résultats sont obtenus selon la méthode de Besse et al. 2019<sup>1</sup>.

Application in situ pendant 7 jours sur 13 sites à pression anthropique contrôlée lors de l'année 2020. Les résultats indiquent une discrimination des sites métrés en évidence une induction de l'efficacité de phagocytose (dosage) associée à une induction de l'activité (score) pour 8 des 13 sites investigués.

Conclusion et perspectives  
Le développement de la mesure de la cytotoxicité et de l'immunosuppression chez le gammarus a été réalisé grâce à l'artémiole acquise chez une autre espèce sentinelle. Certains verrous ont été relevés comme étant liés au modèle gammarus. C'est le cas de la faible quantité de matériel biologique prélevée et des caractéristiques intrinsèques au modèle crustacé (i.e. coquillage). L'application in situ permet de discriminer des sites et de démontrer la preuve de concept de l'utilisation des biomarqueurs pour G. fossarum en bio-surveillance des milieux.

Remerciements : Les auteurs remercient l'Agence de l'eau Artois-Picardie (projet Mequreux) et Rhône-Méditerranée Corse ainsi que l'OFB (projet SASHIMI) et l'Agence de l'eau Seine-Normandie (projet BIOSURVEILLANCE)

1. Mamez et al. 2017. The trophic ecology of the freshwater gammarus sp. (Crustacea, amphipoda) and its potential as a functional feeding group concept. Biological Reviews, 92, 269-284.  
2. Besse B et al. 2018. Amphipoda bioassays in freshwater ecosystems (Crustacea amphipoda): review, update, and a reliable tool. Aquatic Toxicology, 192, 222-233.  
3. Bado-Nilles et al. 2020. A new protocol for the simultaneous flow cytometric analysis of cytotoxicity and immunotoxicity on water mussel (Dreissena polymorpha) hemocytes. Fish Shellfish Immunol, 95, 218-230.  
4. Besse et al. 2013. Caged Gammarus fossarum: Challenge to a robust test for the characterization of freshwater contamination levels in contaminated waters. Towards the generalization of biomonitoring. Water, Air, and Soil Pollution, 184, 1-10.  
5. Lapeze et al. 2020. In Situ Reproductive Bioassay with Caged Gammarus fossarum (Crustacea): Part 2—Evaluating the Behavior of Using a Most Sensitive Temperature-Dependent Model as a Reference to Assess Toxicity in Freshwater Ecosystems. Toxicity and Chem, 33, 65-82.



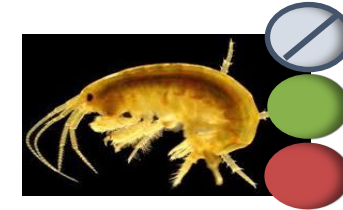
# Immunité cellulaire Du développement à l'application

Préparation des échantillons

Prélèvement des immunocytes *In situ*

Prélèvement des immunocytes au laboratoire après 24h

Prélèvement en pool



Epreuve de phagocytose

Incubation immunocytes - billes pendant 4h

Incubation immunocytes - billes pendant 2h

Incubation immunocytes - billes pendant 1h

Lecture des résultats

Acquisition des résultats sur frais (jour J ou +24h)

Acquisition des résultats après fixation (différé)

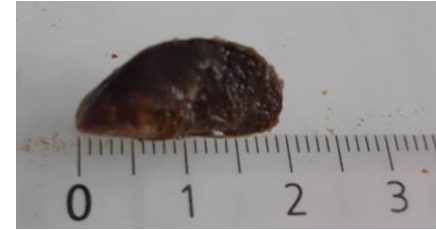
Disponibilité des protocoles d'évaluation de l'immunotoxicité sur toutes les espèces ✓

Application *in situ* en 2020 et 2021 ✓

c.f. Présentations

«Interprétation des biomarqueurs et valeurs de référence» (O. Geffard)  
«Etat écotoxique des masses d'eau et valorisation des résultats» (M. Bonneville-Normand)

☞ Fausse moule brune » décrite par Conrad (1831)



## Knowledge document for a risk assessment of the dark false mussel, *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) in the European Union

*Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831)

Radboud Universiteit 



Figure 2. *Mytilopsis leucophaeata*, Netherlands, Noord-Holland, Umuiden, NMR 15868, Actual size 16mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).



Figure 4. *Mytilopsis leucophaeata*, Netherlands, Zuid-Holland, Hellevoetsluis, Kippenbrug, NMR 76237, Actual size 19mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).



Figure 3. *Mytilopsis leucophaeata*, United States, Texas, Orange, NMR 61022, Actual size 20mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).

Euwes 2018

- ☞ Fausse moule brune » décrite par Conrad (1831)
- ☞ Bivalve de la famille des *Dreissenidae*

## Knowledge document for a risk assessment of the dark false mussel, *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) in the European Union

*Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831)

Radboud Universiteit 



Figure 2. *Mytilopsis leucophaeata*, Netherlands, Noord-Holland, IJmuiden, NMR 15868, Actual size 16mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).

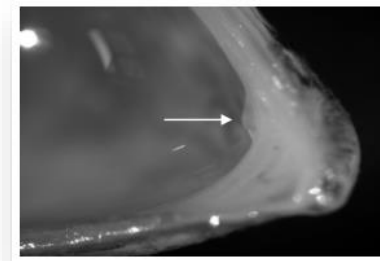
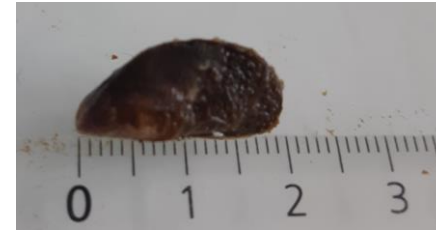


Figure 4. *Mytilopsis leucophaeata*, Netherlands, Zuid-Holland, Hellevoetsluis, Kippenbrug, NMR 76237, Actual size 19mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).

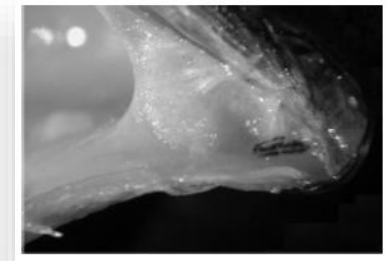


Figure 3. *Mytilopsis leucophaeata*, United States, Texas, Orange, NMR 61022, Actual size 20mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).

Eeuwes 2018



*M. leucophaeata*



*D. polymorpha*

Verween *et al.* 2010

- ☞ Fausse moule brune » décrite par Conrad (1831)
- ☞ Bivalve de la famille des *Dreissenidae*

## Knowledge document for a risk assessment of the dark false mussel, *Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831) in the European Union

*Mytilopsis leucophaeata* (Conrad, 1831)

Radboud Universiteit 



Figure 2. *Mytilopsis leucophaeata*, Netherlands, Noord-Holland, IJmuiden, NMR 15868, Actual size 16mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).



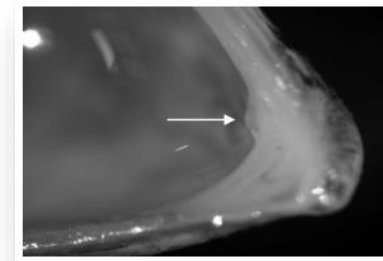
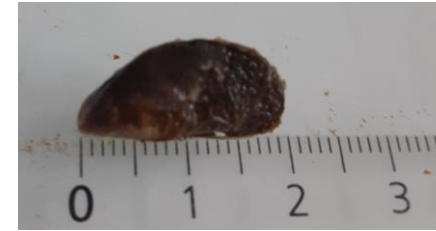
Figure 4. *Mytilopsis leucophaeata*, Netherlands, Zuid-Holland, Hellevoetsluis, Kippenbrug, NMR 76237, Actual size 19mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).



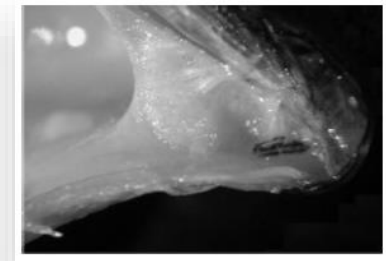
Figure 3. *Mytilopsis leucophaeata*, United States, Texas, Orange, NMR 61022, Actual size 20mm (Natural History Museum Rotterdam 2017).

Eeuwes 2018

- ☞ Taille : 15-20 mm avec un maximum de 30 mm
- ☞ Longévité de 5 ans maxi.
- ☞ Nutrition par filtration (55 mL h<sup>-1</sup> pour un ind. de 20 mm à 20°C)



*M. leucophaeata*

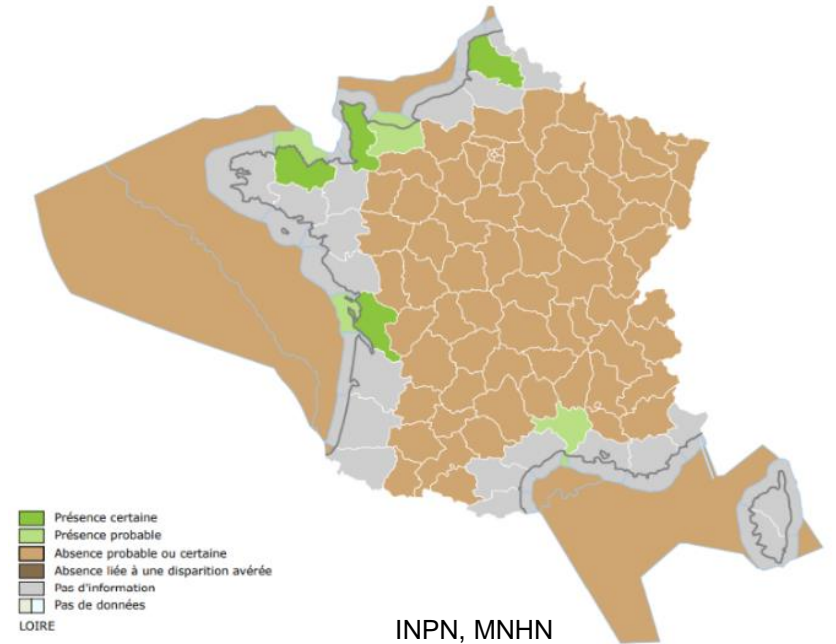


*D. polymorpha*

Verween *et al.* 2010



- 👉 Origine : Golfe du Mexique et côtes atlantiques sud des USA
- 👉 Introduction en Europe (port d'Anvers) en 1835
- 👉 1<sup>ère</sup> découverte en France en 1872 dans le Nord (et en 1898 dans le canal de Caen à la mer)
- 👉 Espèce invasive (?)

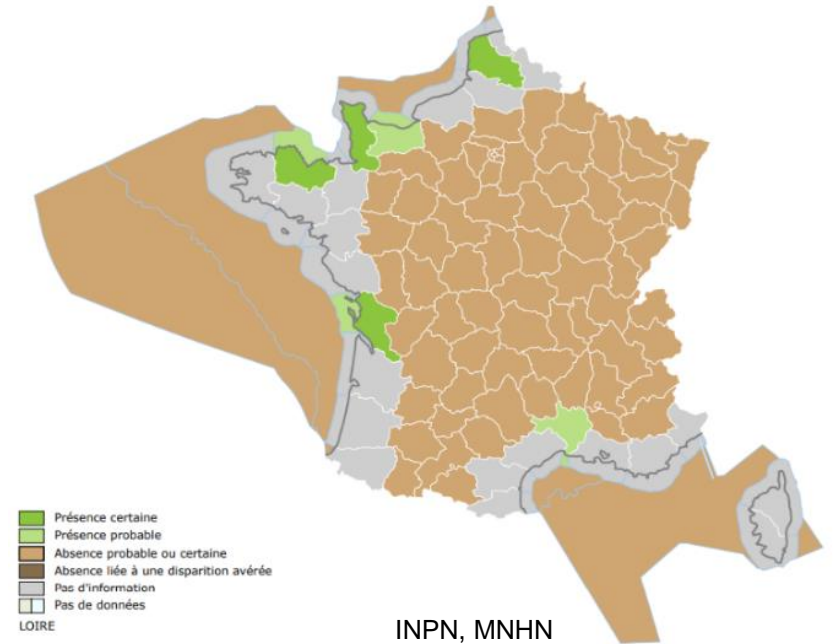


- 👉 Origine : Golfe du Mexique et côtes atlantiques sud des USA
- 👉 Introduction en Europe (port d'Anvers) en 1835
- 👉 1<sup>ère</sup> découverte en France en 1872 dans le Nord (et en 1898 dans le canal de Caen à la mer)
- 👉 Espèce invasive (?)

## Présence en :

Pays-Bas, Allemagne, Pays de Galle (fin du 19<sup>ème</sup> et début du 20<sup>ème</sup> siècle)

Espagne (1993), région ponto-caspienne (1996), Finlande (Mer Baltique) (2003), Pologne (2010), Suède (2011)



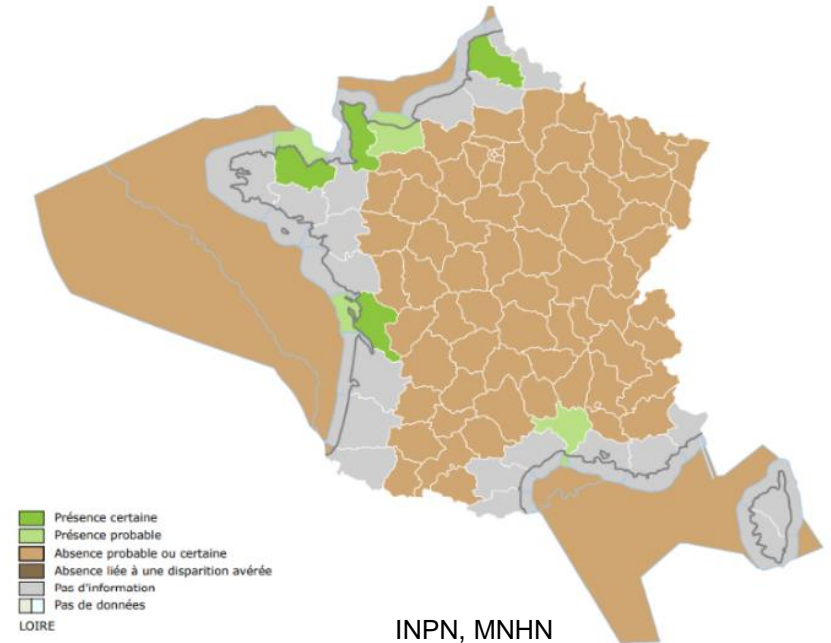
- 👉 Origine : Golfe du Mexique et côtes atlantiques sud des USA
- 👉 Introduction en Europe (port d'Anvers) en 1835
- 👉 1<sup>ère</sup> découverte en France en 1872 dans le Nord (et en 1898 dans le canal de Caen à la mer)
- 👉 Espèce invasive (?)

## Présence en :

Pays-Bas, Allemagne, Pays de Galle (fin du 19<sup>ème</sup> et début du 20<sup>ème</sup> siècle)

Espagne (1993), région ponto-caspienne (1996), Finlande (Mer Baltique) (2003), Pologne (2010), Suède (2011)

- 👉 Habitat : fixé sur les substrats durs (e.g. pierres) ou au sein de récifs de *Ficopomatus enigmaticus*



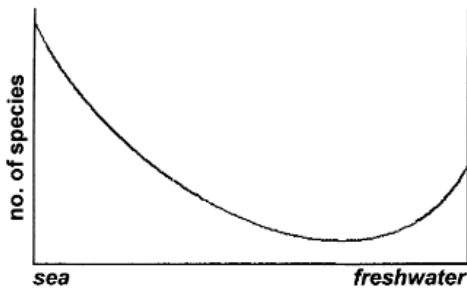
- ↳ Espèce euryhaline : amplitude de salinité de 0,1 à 26,4 PSU
- ↳ Optimum de salinité : eaux saumâtres : oligohalines (0,5 – 5 PSU) et mésohalines (5-18 PSU)



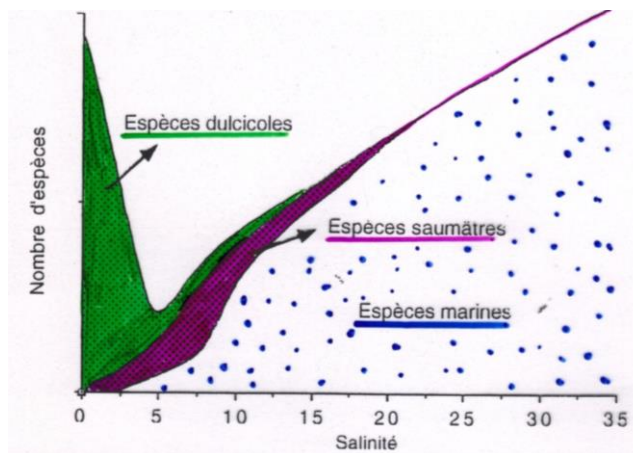
- ↳ Espèce euryhaline : amplitude de salinité de 0,1 à 26,4 PSU
- ↳ Optimum de salinité : eaux saumâtres : oligohalines (0,5 – 5 PSU) et mésohalines (5-18 PSU)
- ↳ **Espèce pouvant être présente sur une grande partie du continuum terre-mer**

- 👉 Espèce euryhaline : amplitude de salinité de 0,1 à 26,4 PSU
- 👉 Optimum de salinité : eaux saumâtres : oligohalines (0,5 – 5 PSU) et mésohalines (5-18 PSU)
- 👉 **Espèce pouvant être présente sur une grande partie du continuum terre-mer**

### Richesse spécifique le long du gradient terre-mer

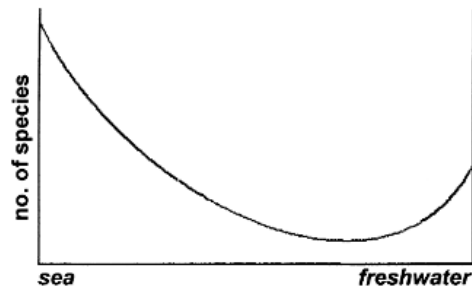


Cognetti & Maltagliata 2000

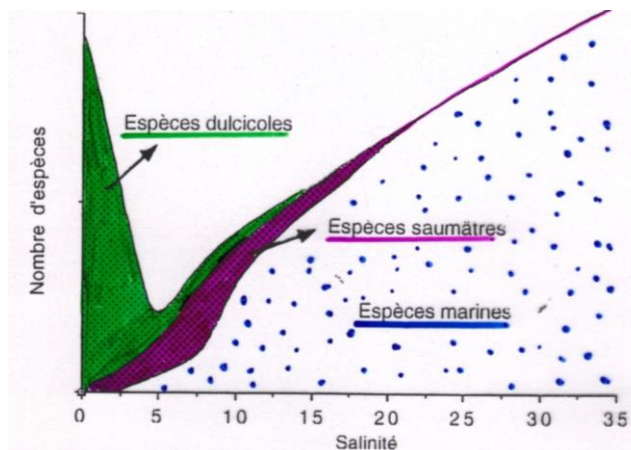


- 👉 Espèce euryhaline : amplitude de salinité de 0,1 à 26,4 PSU
- 👉 Optimum de salinité : eaux saumâtres : oligohalines (0,5 – 5 PSU) et mésohalines (5-18 PSU)
- 👉 **Espèce pouvant être présente sur une grande partie du continuum terre-mer**

## Richesse spécifique le long du gradient terre-mer



Cognetti & Maltagliata 2000



## 3. *Mytilopsis leucophaeata*: The brackish water equivalent of *Dreissena polymorpha*? A review

Verween *et al.* 2010

Annick Verween, Magda Vincx and Steven Degraer

## Survey of PAH in low density residential stormwater ponds in coastal South Carolina: False dark mussels (*Mytilopsis leucophaeata*) as potential biomonitors

Alan T. Flemming<sup>a</sup>, John E. Weinstein<sup>b,\*</sup>, Alan J. Lewitus<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Masters of Science in Environmental Studies Program, 66 George Street, College of Charleston, Charleston, SC 29424, USA

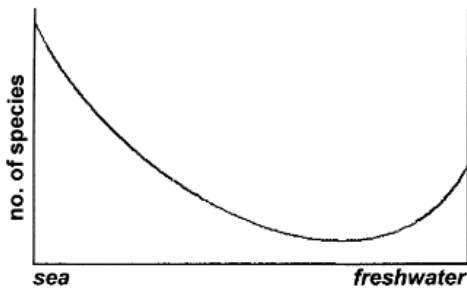
<sup>b</sup> Department of Biology, The Citadel, 171 Moultrie Street, Charleston, SC 29409, USA

<sup>c</sup> NOAA Center for Sponsored Coastal Ocean Research, 1305 East West Hwy, Silver Spring, MD 20910, USA

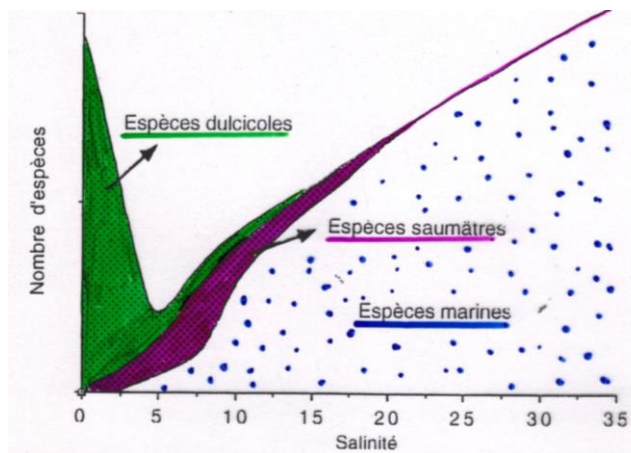
Flemming *et al.* 2008

- 👉 Espèce euryhaline : amplitude de salinité de 0,1 à 26,4 PSU
- 👉 Optimum de salinité : eaux saumâtres : oligohalines (0,5 – 5 PSU) et mésohalines (5-18 PSU)
- 👉 **Espèce pouvant être présente sur une grande partie du continuum terre-mer**

## Richesse spécifique le long du gradient terre-mer



Cognetti & Maltagliata 2000



## 3. *Mytilopsis leucophaeata*: The brackish water equivalent of *Dreissena polymorpha*? A review

Verween *et al.* 2010

Annick Verween, Magda Vincx and Steven Degraer

## Survey of PAH in low density residential stormwater ponds in coastal South Carolina: False dark mussels (*Mytilopsis leucophaeata*) as potential biomonitors

Alan T. Flemming<sup>a</sup>, John E. Weinstein<sup>b,\*</sup>, Alan J. Lewitus<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Masters of Science in Environmental Studies Program, 66 George Street, College of Charleston, Charleston, SC 29424, USA

<sup>b</sup> Department of Biology, The Citadel, 171 Moultrie Street, Charleston, SC 29409, USA

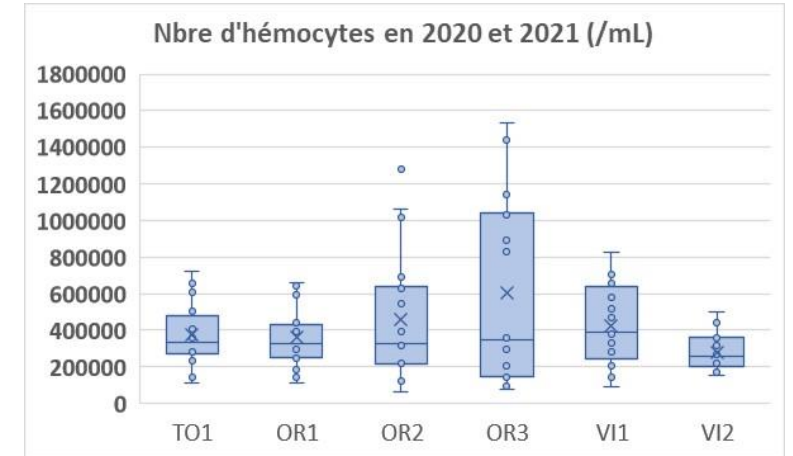
<sup>c</sup> NOAA Center for Sponsored Coastal Ocean Research, 1305 East West Hwy, Silver Spring, MD 20910, USA

Flemming *et al.* 2008

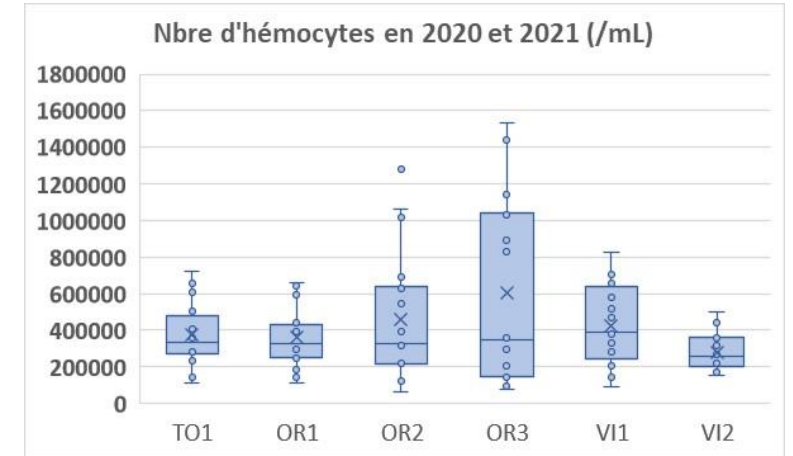
- 👉 **Aucune étude sur les biomarqueurs d'immunotoxicité chez *M. leucophaeata***

➔ Méthodologie appliquée à *D. polymorpha* transférée à *M. leucophaeata*



- ➔ Méthodologie appliquée à *D. polymorpha* transférée à *M. leucophaeata*
- ➔ La quantité d'hémolymphe prélevée est très faible mais  
la densité hémodocytaire est « suffisante »

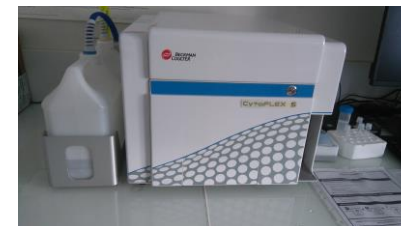


- ➔ Méthodologie appliquée à *D. polymorpha* transférée à *M. leucophaeata*
- ➔ La quantité d'hémolymphe prélevée est très faible mais  
la densité hémodocytaire est « suffisante »



## Principales différences méthodologiques

<i>Dresseina polymorpha</i> 	<i>Mytilopsis leucophaeata</i> 
Incubation en plaque 96 puits avec solution L15 (75 000 cell. /échantillon dans un puits )	Incubation en microtube (100 000 cell. / échantillon)
4h d'incubation avec les billes (50 / hémocyte ; 16°C)	1h d'incubation avec les billes (100 / hémocyte ; 17°C)
Lecture de la fluorescence sur « du frais »	Fixation (formaldéhyde à 3,7%) puis lecture différée (au moins 1 semaine)



☞ L'étude des biomarqueurs d'immunotoxicité est possible chez *M. leucophaeata*

*MAIS* oblige à se limiter aux plus grands individus



☞ L'étude des biomarqueurs d'immunotoxicité est possible chez *M. leucophaeata*

*MAIS* oblige à se limiter aux plus grands individus

☞ Chez *M. leucophaeata*, la fixation des hémocytes avec lecture de la fluorescence différée est possible : **avantage pour l'utilisation, en routine, des marqueurs d'immunotoxicité**

☞ L'étude des biomarqueurs d'immunotoxicité est possible chez *M. leucophaeata*

*MAIS* oblige à se limiter aux plus grands individus

☞ Chez *M. leucophaeata*, la fixation des hémocytes avec lecture de la fluorescence différée est possible : **avantage pour l'utilisation, en routine, des marqueurs d'immunotoxicité**

☞ Problème de la distribution géographique encore mal connue (notamment en France)

☞ Variabilité interindividuelle importante, à considérer ...

☞ Des valeurs de référence et seuils ont été proposées *MAIS* elles doivent être affinées ...

# Merci à toutes les contributions

Xuereb B., Abbaci K., Amara R., Auffret M., Bado-Nilles A., Bonnard I., Bonnard M., Bonnevalle-Normand M., Burlion M., Cant A., Catteau A., Charle M., Chaumot A., Costil K., Coulaud R., Couteau J., Dedourge-Geffard O., Delahaut L., Diop M., Dufлот A., Geffard O., Fisson C., Le Foll F., Le Guernic A., Maillet G., Palos-Ladeiro M., Peignot Q., Porcher J.M., Poret A., Rioult D., Serpentine A., Tremolet G., Geffard A.



## Merci de votre attention

Portage & coordination



Financement



Labélisation



Consortium scientifique

