



# Projet **BIOSURVEILLANCE**

« Proposition d'un pilote basé sur l'utilisation de biomarqueurs pour un appui à la surveillance de la qualité des masses d'eau du district Seine-Normandie »

**Coordination du projet : Benoit Xuereb<sup>1</sup>, Cédric Fisson<sup>2</sup> et Alain Geffard<sup>1</sup>**

**Représentants du consortium : Amara R<sup>1</sup>, Auffret M<sup>1</sup>, Bado-Nilles A<sup>1</sup>, Bonnard M<sup>2</sup>, Bonneville-Normand M<sup>3</sup>, Chaumot A<sup>2</sup>, Costil K<sup>1</sup>, Geffard O<sup>1</sup>, Le Foll F<sup>2</sup>, Palos-Ladeiro M<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>réfèrent d'équipe de recherche ; <sup>2</sup>animateur d'axe de travail ; <sup>3</sup>compilation des données

*Etude réalisée avec le concours financier de l'Agence de l'eau Seine-Normandie*



# TABLE DES MATIERES

<b>TABLE DES MATIERES</b>	<b>2</b>
<b>RESUME EXECUTIF</b>	<b>3</b>
<b>REMERCIEMENTS</b>	<b>4</b>
<b>SCIENTIFIQUES AYANT PARTICIPE AU PROJET</b>	<b>5</b>
<b>PARTICIPANTS AU SUIVI DE PROJET</b>	<b>6</b>
<b>CONTEXTE</b>	<b>7</b>
<b>CHAPITRE 1 – ASPECTS STRATEGIQUES</b>	<b>12</b>
1    Positionnement des stations d'étude	12
2    L'encagement d'espèces sentinelles	15
3    L'interprétation des réponses biologiques	16
4    Diffusion des résultats	17
<b>CHAPITRE 2 – ACQUIS DU PROJET</b>	<b>18</b>
1    Preuve de faisabilité	18
2    Caractérisation de l'état « écotoxicologique » des masses d'eau	19
<b>CHAPITRE 3 – LEVIERS D'AMELIORATION DE LA STRATEGIE</b>	<b>27</b>
1    Indice d'intégration des différentes réponses de biomarqueurs	27
2    Les perspectives offertes par les nouvelles approches d'écotoxicoprotéomique	29
<b>CHAPITRE 4 – LES BIOMARQUEURS POUR ETABLIR L'ETAT ECOTOXICOLOGIQUE DES MASSES D'EAU – REGARDS CROISES ENTRE RECHERCHE ET GESTION</b>	<b>33</b>
<b>LISTE DES ILLUSTRATIONS</b>	<b>36</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>38</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>42</b>

## RESUME EXECUTIF

Le projet BIOSURVEILLANCE, financé par l'Agence de l'Eau Seine-Normandie, a proposé de déployer une stratégie de surveillance active, pour un diagnostic et une comparaison de la qualité de masses d'eau, à l'échelle du *continuum* bassin versant - estuaire - littoral. La stratégie a reposé sur l'engagement de binômes ou trinômes d'espèces de différents groupes zoologiques – *i.e.* poissons, mollusques et crustacés – représentatifs des différentes masses d'eau – *i.e.* continentales, de transition et côtières. L'étude s'est focalisée sur des biomarqueurs reconnus, applicables de façon uniforme à l'ensemble des taxons ciblés – *i.e.* dommages primaires à l'ADN et activité de phagocytose. Un point central de cette stratégie consistait à la lecture des différents couples « réponse biologique/espèce » au regard de grilles spécifiques d'interprétation. Pour cela, le projet BIOSURVEILLANCE s'est appuyé sur un socle de connaissances et de maîtrise méthodologique développé dans le cadre d'un projet jumeau financé par l'Office Français de la Biodiversité, le projet SASHIMI. Un suivi pilote a ainsi été déployé durant 2 campagnes, à l'automne 2020 et 2021, sur 27 stations des *continuum* Seine, Orne et Vire. Les résultats ont été valorisés sous forme d'une carte interactive accessible par le grand public sur le site de l'observatoire de l'axe Seine. Le retour sur expérience a démontré la faisabilité de cette stratégie pour un suivi pérenne de l'état écotoxicologique des masses d'eau du *continuum*. Les résultats rendent compte de niveaux d'effets biologiques globalement très cohérents avec l'état DCE, permettant de renforcer le diagnostic. L'application de l'approche « biomarqueurs » à un ensemble de taxons s'est révélée être pertinente pour la classification des masses d'eau, du fait de la complémentarité entre les modèles étudiés pour un screening plus intégratifs des différents modes d'exposition et modes d'action des contaminants. Ces résultats ont fait l'objet d'une journée d'échange entre scientifiques et gestionnaires, à l'occasion d'un séminaire de restitution. Ces échanges ont permis de souligner l'intérêt des divers acteurs pour ce type d'approche et de mieux définir le périmètre des enjeux futurs, notamment pour un déploiement opérationnel dans le cadre d'un suivi à grande échelle.



## REMERCIEMENTS

Les membres du projet BIOSURVEILLANCE remercient

- L'Agence de l'Eau Seine Normandie pour avoir financé ce projet ;
- Les Directions Départementales des Territoires et de la Mer des départements du calvados et de la manche, le Service de la direction aéroportuaire du Conseil Départemental de la manche, HAROPA port, la capitainerie du port d'Antifer, la capitainerie du port de Ouistreham, le club de voile de Merville-Franceville et les ostréiculteurs du GAEC de Tatihu, pour nous avoir autorisé à effectuer les engagements sur le domaine littoral ;
- Le syndicat mix Synergie Mer et Littoral de Blainville-sur-mer (*i.e.* SMEL) et particulièrement Olivier Basuyaux, ainsi que la société Prelev'mar, pour nous avoir aidé à déposer les systèmes d'encagement de moules bleues et crevettes sur les stations de Blainville-sur-mer, Chausey et Cherbourg.
- L'Ifremer (laboratoire DYNECO-PHYSD) et la station marine de Luc-sur-Mer (laboratoire BOREA) pour les accès aux bouées marines SMILE et SCENES.
- VNF et les DREAL 02-14-50-60-76-77-78-89 pour les autorisations de déploiements sur les stations continentales.

### Le projet BIOSURVEILLANCE

Portage	Financement	Labélisation	Consortium scientifique
	 		

## SCIENTIFIQUES AYANT PARTICIPE AU PROJET

- **Équipe 1** : UMR-I02 SEBIO, Université Le Havre Normandie  
Coordination scientifique : Benoit XUEREB  
Autres chercheurs : Romain COULAUD, Frank LE FOLL  
Ingénieur.e.s et technicien.ne.s : Matthieu BONNEVALLE-NORMAND (non statutaire), Mayélé BURLION-GIORGI, Aurélie DUFLOT, Agnès PORET, Gauthier TREMOLET (non statutaire)
- **Équipe 2** : UMR-I02 SEBIO, Université Reims Champagne Ardenne  
Coordination scientifique : Alain GEFFARD  
Responsable volet Génotoxicité : Marc BONNARD  
Responsable volet Immunotoxicité : Mélissa PALOS LADEIRO  
Autres chercheurs ou ingénieurs : Odile DEDOURGE-GEFFARD, Antoine LE GUERNIC (non statutaire) Audrey CATTEAU (non statutaire), Damien RIOULT (plateforme Mobicyte).  
Doctorante : Julie DO NASCIMENTO. Techniciens : Isabelle BONNARD, Laurence DELA-HAUT, Quentin PEIGNOT (non statutaire)
- **Équipe 3** : UMR-I02 SEBIO, Ineris  
Coordination scientifique : Anne BADO-NILLES  
Autres chercheurs (ou équivalents) : Cyril TURIES, Olivier PALLUEL, Jean-Marc PORCHER  
Doctorante : Amélie CANT  
Alternante - Licence Professionnelle : Charline PEYROT
- **Équipe 4** : INRAE, Unité Riverly, Laboratoire d'écotoxicologie, Villeurbanne  
Coordination scientifique : Olivier GEFFARD  
Autres chercheurs (ou équivalents) : Khédidja ABBACI et Arnaud CHAUMOT
- **Équipe 5** : UMR LOG- 8187, Université du Littoral Côte d'Opale  
Coordination scientifique : Rachid AMARA  
Autres chercheurs (ou équivalents) : Mamadou DIOP, Michel LAREAL, Gabriel PASQUIER et Khalef RABHI
- **Équipe 6** : UMR BOREA, Université de Caen Normandie  
Coordinatrice scientifique : Katherine COSTIL. Chercheur : Antoine SERPENTINI.  
Autres chercheurs : Christophe ROGER et Nadège VILLAIN-NAUD  
Stagiaire de Master 2 : Elisa CHAPUIS
- **Équipe 7** : LEMAR (UMR 6538) Université de Bretagne Occidentale  
Coordination scientifique : Michel AUFFRET
- **Équipe 8** : GIP Seine Aval  
Coordination scientifique : Cédric FISSON  
Autres chercheurs (ou équivalents) : Éric L'EBRELLEC et Alexandre DUVAL

## PARTICIPANTS AU SUIVI DE PROJET

*Personnes ayant contribué au suivi du projet ou ponctuellement à un atelier de travail.*

GIP Seine-Aval : Nicolas Bacq, Maud Berlincourt, Elise Avenas, Cédric Fisson

Acteurs de l'estuaire : Maïa Akopian (OFB), Anne-Sophie Allonier-Fernandes (AESN), Aline Cattan (AESN), Emmanuel Jestin (AESN), Fanny Olivier (AESN), Olivier Perceval (OFB), Manuel Sarraza (AESN)

Scientifiques : Florence Menet-Nedelec (Ifremer)

## CONTEXTE

La Directive Européenne Cadre sur l'Eau (DCE 2000/06/EC) a été établie dans le but de garantir le « bon état » des masses d'eau continentales, de transition et littorales. La mise en pratique de cette directive se traduit sur le plan réglementaire par la mise en place de programmes de surveillance visant à évaluer et, le cas échéant, à définir des actions visant à améliorer l'état chimique et écologique des masses d'eau. Brièvement, l'état chimique est évalué au moyen de dosages, dans la colonne d'eau et plus récemment dans le biote et le sédiment, d'une liste de molécules à caractère prioritaire, interprétés au regard de normes de qualité environnementale (*i.e.* NQE, selon les directives filles 2008/105/CE et 2013/39/UE). L'état écologique, quant à lui, est évalué au moyen d'indices de diversité biocénotique, visant différentes communautés d'organismes (*e.g.* macro-invertébrés, poissons, macrophytes, phytoplancton), par comparaison à des standards de qualité écologique.

Si l'intérêt de ces analyses chimiques et écologiques est incontestable, leur mise en pratique lors des précédents plans de gestion de la DCE, a souligné un certain nombre de limites. Plus précisément, les analyses chimiques actuelles ne sont pas exhaustives, dues à des raisons techniques et économiques. La réglementation se concentre donc uniquement sur les composés fortement soupçonnés de constituer une menace pour les communautés écologiques et/ou la santé humaine, en ignorant un corpus de substances potentiellement nocives. Par ailleurs, l'approche chimique ne rend pas compte de la toxicité réelle des contaminants, dans les conditions environnementales auxquelles les organismes sont exposés. Ce constat est d'autant plus vrai, si l'on considère les effets « cocktail », dans les cas assez communs de zones multicontaminées (Beyer et al. 2014). D'un autre côté, les indices mesurés dans le cadre de l'évaluation écologique ne permettent pas toujours d'identifier les facteurs d'érosion de la qualité écosystémique. La distinction entre les effets des contaminants et les effets associés à d'autres facteurs environnementaux (*e.g.* température, salinité, interactions trophiques, eutrophisation et autres dégradations de l'habitat) est complexe, l'ensemble de ces facteurs étant susceptibles de modifier les paramètres écologiques (*e.g.* Schiedek et al., 2007 ; Moe et al., 2013).

Face à ce constat, et tel que le souligne le rapport du groupe de travail d'experts européens CMEP (*i.e.* Chemical Monitoring and Emerging Pollutants) pour la Directive Cadre sur l'Eau, la mobilisation d'outils basés sur la mesure d'effets biologiques (*i.e.* EBT : Effect Based Tools) peut constituer un appui précieux aux gestionnaires, évaluateurs et opérateurs locaux impliqués dans l'analyse et la surveillance des masses d'eau de surface (Wernersson et al., 2015). Ces outils ont vocation à accompagner les actions de gestion, en i) permettant une prise en compte plus spécifique de la fraction biodisponible de contaminants, incluant des substances non ciblées par les analyses chimiques et des effets mélanges, et ii) précisant les liens de causalité entre états « chimique » et « écologique », particulièrement dans des situations de contraste entre les deux états. Selon Wernersson et al. (2015), deux catégories d'EBT peuvent être mobilisées pour des finalités différentes. L'approche par « Bioessais » repose sur des méthodes d'exposition *in vitro* ou *in vivo*, de cellules ou d'organismes, et vise à évaluer la toxicité d'échantillons environnementaux (généralement des extraits de matrice) dans un contexte expérimental contrôlé de laboratoire. Par définition, les bioessais sont des outils standardisés et reproductibles, autorisant un dépistage rapide. Les bioessais sont actuellement identifiés comme un support pertinent pour l'évaluation de « l'état chimique », en



tant qu'outils d'aide à la priorisation et la vérification de conformité, voire à l'identification des sources de contaminations (e.g. approche EDA : Effect Directed Analysis). Parallèlement, l'approche « Biomarqueurs » consiste à mesurer des réponses biologiques sur des organismes directement exposés dans le milieu naturel (*i.e.* directement prélevés ou transplantés dans des systèmes d'encagement). Il s'agira ici d'appréhender les réponses d'espèces mesurées au niveau sub-individuel, dans un contexte plus intégrateur et représentatif de la complexité et de la variabilité environnementale ; ceci dans le but de préciser les liens de causalité entre pressions, exposition et impacts biologiques (*i.e.* entre états chimique et écologique). L'intégration d'une sélection de biomarqueurs de pertinences toxicologiques, physiologiques et écologiques complémentaires, dans une stratégie de surveillance des masses d'eau, constitue dès lors une approche d'intérêt pour diagnostiquer une atteinte à la santé des organismes et préciser l'état de qualité du milieu.

L'intégration des EBT dans la stratégie de surveillance environnementale nécessite toutefois de s'assurer, au préalable, de leur opérationnalité. Il est notamment indispensable de préciser leurs conditions et limites d'application, et garantir une interprétation intelligible et robuste pour les gestionnaires qui centralisent l'information (Milinkovitch, 2019). Durant cette dernière décennie, de nombreux travaux de recherche ont été conduits, en ce sens, autour du développement de l'approche « Biomarqueurs » chez quelques espèces dites sentinelles<sup>1</sup>, pour une application opérationnelle en biosurveillance. L'effort a notamment été porté sur le développement de méthodes visant à une meilleure prise en compte de la variabilité naturelle et l'influence des facteurs dits « de confusion » sur la variabilité de la réponse biologique ; ce qui constituait sans nul doute la principale limite (Jemec et al., 2010). Le développement de l'approche dite active, par transplantation d'organismes dans des systèmes d'encagement, a permis de s'affranchir de l'influence de certains de ces facteurs de confusion (*i.e.* taille/âge, sexe, provenance des spécimens échantillonnés ; durée et aire d'exposition), réduisant ainsi la variabilité des mesures non liée à l'effet de la contamination et facilitant l'interprétation des données dans un objectif de diagnostic écotoxicologique (e.g. Bourgeault et al., 2010 ; Coulaud et al., 2011 ; Kerambrun et al., 2016 ; Le Guernic et al., 2016 ; Prygiel et al., 2016 ; Ciliberti et al., 2017 ; Marchand et al., 2020 ; Lopes et al., 2020 ; Cateau et al., 2022). L'approche active présente également l'avantage de laisser le libre choix des stations étudiées, indépendamment de la présence des espèces sur site. Parallèlement, la mobilisation de référentiels d'interprétation (*i.e.* valeur basale et seuils statistiques) a été proposée pour intégrer la part de variabilité « non-maitrisable » (e.g. Xuereb et al., 2009 ; Coulaud et al., 2011 ; Lacaze et al., 2011 ; Charron et al. 2013 ; Besse et al., 2013 ; Chaumot et al. 2015 ; Erraud et al. 2018 ; Leprêtre et al., 2023). Les référentiels ainsi construits permettent de s'affranchir d'une comparaison ponctuelle, à une échelle géographique très localisée et reposant sur l'étude de sites présumés de référence ou impactés, et devant présenter des caractéristiques physico-chimiques similaires (e.g. amont et aval d'une source de contamination identifiée). Les référentiels offrent alors la possibilité de considérer des stations isolées, déconnectées et réparties sur une large échelle géographique, tout en garantissant de pouvoir les comparer et les prioriser.

La recherche française a été proactive sur ces questions, notamment grâce au soutien des Agences de l'Eau et de l'Office Français de la Biodiversité. Sur les masses d'eau continen-

---

<sup>1</sup> Espèce dont les modifications de paramètres biologiques sont utilisées pour évaluer les risques associés à la présence de xénobiotiques (Rivière, 1993).

tale, les approches par encagement et la mobilisation de référentiels d'interprétation des biomarqueurs ont été pratiquées depuis la fin des années 2000s, d'abord chez le gammare (e.g. Geffard et al., 2019 ; Chaumot et al., 2021), puis la dreissène et plus récemment l'épinoche, pour aboutir à des déploiements conjoints ces dernières années (e.g. programmes PIREN Seine 2011-12 et 2016-18 ; projets EQUAL 2016-20 et BIOESSAI 2020-24 de l'AE Rhin-Meuse ; projet Interreg DIADEM 2017-20 ; projet MAQUEREAU 2020-23 de l'AE Artois-Picardie). Sur la partie plus en aval, des travaux de ce type ont été menés au niveau de l'estuaire de Seine, dans le cadre des précédents programmes Seine Aval, avec le projet ECOTONES (2015-17) qui visait la production de référentiels d'interprétation des biomarqueurs chez quelques espèces dont les crevettes *Palaemon* sp., ou le projet HQ-FISH (2017-20) qui a proposé le déploiement de systèmes d'encagement en estuaire avec le modèle flet, puis crevette (*P. longirostris* ; suite à l'accident Lubrizol de 2019). L'ensemble de ces projets a finalement conduit vers l'émergence de méthodologies plus ou moins finalisées chez quelques espèces représentatives des différentes masses d'eau continentales, estuariennes et littorales, et de différents groupes taxonomiques.

Fort de ce constat et étant donné la continuité entre les différents milieux aquatiques, une des problématiques émergentes consistait alors à définir et éprouver une stratégie de déploiement de l'approche « Biomarqueurs », pour l'appui à la surveillance de la qualité des différentes masses d'eau, à l'échelle du *continuum*. En effet, la prise en considération de contextes hydrologiques aux caractéristiques physico-chimiques très variées (i.e. milieu dulçaquicole, milieu estuarien, milieu côtier) ne permet pas l'utilisation d'une espèce sentinelle unique. La solution réside en partie dans la capacité à interpréter et comparer des réponses biologiques traduisant un effet toxique, mesurées sur différentes espèces, pour assurer la couverture du *continuum*. Un consortium de scientifiques et gestionnaires s'est fédéré autour de cette problématique, conduisant à la genèse de deux projets jumeaux, SASHIMI<sup>2</sup> et BIOSURVEILLANCE. L'ambition portée par ces projets était de mobiliser les acquis de ces dernières années pour construire une stratégie de surveillance active, assurant un diagnostic et une comparaison de la qualité de masses d'eau très différentes, à l'échelle du *continuum* bassin versant - estuaire – littoral.

Le projet SASHIMI a permis de construire le périmètre méthodologique de la stratégie déployée dans le projet BIOSURVEILLANCE. Celle-ci reposait, d'une part, sur l'encagement de binômes ou trinômes d'espèces pour de groupes zoologiques différents – i.e. poissons, mollusques et crustacés – pour i) permettre l'investigation des différents districts du *continuum*, et ii) considérer la question de la diversité de sensibilité de ces taxons vis-à-vis de leur position trophique et leur physiologie pour un screening plus intégratif des différents modes d'exposition et modes d'action des contaminants. Les espèces ciblées avaient, pour une grande majorité, déjà été étudiées dans un contexte de biosurveillance environnementale (cf. projet B&B<sup>3</sup>). De par leur répartition, leur abondance et/ou leur fonction écologique, ces espèces représentaient un intérêt pour de nombreux hydrosystèmes continentaux, estuariens et littoraux, aux niveaux national et européen (principalement l'Europe du nord), autorisant à terme d'envisager une utilisation sur une large échelle géographique. D'autre part, l'effort a été centré sur des effets toxiques mesurables de façon consensuelle sur l'ensemble des taxons ciblés, et reconnus impactant pour le maintien de l'organisme – i.e. la génotoxicité *via*

---

<sup>2</sup> Projet SASHIMI : Surveillance active de l'impact de la pression chimique par des biomarqueurs. - Office Français de la Biodiversité. <https://professionnels.ofb.fr/fr/node/1474>

<sup>3</sup> Projet « Biomarqueurs & Biodiversité » - Office Français de la Biodiversité - AMI 2017. [Base de données finale.](#)

le test Comet, et l'immunotoxicité *via* la mesure de l'activité phagocytaire. Le travail s'est articulé autour de trois objectifs : i) la définition du cadre d'application des méthodes d'encagement, ii) l'harmonisation des méthodes de mesure des biomarqueurs à l'ensemble des espèces et iii) la définition des référentiels d'interprétation (*i.e.* valeur basale et seuils statistiques) et des grilles de lecture, pour chaque couple biomarqueurs/espèces (*cf.* résumé en **Tableau 1** ; détaillé dans Xuereb et al., 2022 a,b). Le projet SASHIMI a ainsi permis de répondre aux prérequis nécessaires pour envisager une application opérationnelle.

S'appuyant sur le socle de connaissances et de méthodologies définies dans le cadre du projet SASHIMI, le présent projet BIOSURVEILLANCE proposait donc un pilote de déploiement de cette stratégie de surveillance du *continuum* sur des masses d'eau continentales, de transition et côtières du district Seine Normandie. Les engagements d'organismes ont ainsi été menés le long de 3 *continuum* - *i.e.* Seine, Orne et Vire - durant 2 années consécutives, à l'automne, sur un ensemble de 27 stations choisies en concertation avec les acteurs de bassins. Les données ont été interprétées au regard de référentiels spécifiques à chaque couple biomarqueur/espèce selon une échelle de gravité à 3 niveaux, intelligible pour un public de non spécialistes. Les résultats du projet BIOSURVEILLANCE ont fait l'objet i) d'une publication sous forme d'une carte interactive disponible sur le site de l'observatoire de l'axe Seine<sup>4</sup>, et ii) d'un séminaire de restitution et d'échanges avec les acteurs opérationnels<sup>5</sup>.

Le présent rapport propose, dans un premier temps, une lecture détaillée de la stratégie et des principaux acquis du projet BIOSURVEILLANCE (*cf.* Chap. 1 et 2). Des leviers d'amélioration de la stratégie, déjà identifiés par la communauté scientifique, sont abordés de façon didactique dans un second temps (*cf.* Chap. 3). Pour finir, la dernière partie retranscrit les grandes lignes de discussions et d'échanges tenus entre scientifiques et gestionnaires lors de la journée de séminaire, identifiant les futurs enjeux (*cf.* Chap. 4).

---

<sup>4</sup> Site internet de l'observatoire de l'axe Seine - <https://www.phresques.fr/>.

<sup>5</sup> Séminaire Apports des biomarqueurs pour la surveillance des masses d'eau côtières, de transition et continentales - <https://www.seine-aval.fr/restitution-biosurveillance/>.

Tableau 1. Synthèse des prérequis méthodologiques essentiels au déploiement opérationnel de la stratégie développée dans le cadre du projet SASHIMI (d'après Xuereb et al., 2022 a,b).

	Condition d'engagement		Référentiels (valeur basale ± [seuil.s statistique.s])			Grille de lecture
	Calibre des spécimens	Durée d'engagement	Activité de phagocytose		Dommages à l'ADN (% de tail DNA)	
			Capacité (en %)	Efficacité (en %)		
<b>Dreissène</b>	Adultes (22-25 mm)	21 jours	74.0 - [66.0]	56.0 - [41.0]	4.2 + [8.7]	Pas d'effet : ≤ 25% des observations dépassent les seuils Effet marqué : 25 < ≤ 75% des observations dépassent les seuils Effet très marqué : > 75% des observations dépassent les seuils
<b>Mytilopsis</b>	Adultes (> 15 mm)	28 jours	53.8 - [36.0]	22.4 - [15.0]	9.2 + [12.3]	
<b>Moule bleue</b>	Adultes (40-50 mm)	15 jours	41.1 ± [15.4 ; 66.9]	17.5 + [37.0]	2.4 + [6.3]	
<b>Gammare</b>	Adultes de sexe déterminé (8-10 mm)	7 jours	60.8 ± [42.2 ; 80.7]	31.4 ± [17.5 ; 58.2]	10.1 + [18.5]	
<b>Crevettes</b>	Adultes de sexe déterminé (P.s. 55-65 mm ; P.l. 30-40 mm)	15 jours	49.3 ± [32.3 ; 65.6]*	18.4 ± [8.4 ; 30.4]*	4.7 + [11.4]	
<b>Epinoche</b>	Adultes de sexe déterminé (35-45 mm)	21 jours	Seuils corrigés par un modèle en fonction de la taille		7.61 + [17.6]	Pas d'effet : ≤ 5% des observations dépassent les seuils Effet marqué : 5 < ≤ 20% des observations dépassent les seuils Effet très marqué : > 20% des observations dépassent les seuils
<b>Flet</b>	Juvénils (80-90 mm)	15 jours	75.5 ± [74.0 ; 77.0]	38.7 ± [35.9 ; 40.5]	32.3 + [33.5]	Pas d'effet : ≤ 40% des observations dépassent les seuils Effet marqué : 40 < ≤ 80% des observations dépassent les seuils Effet très marqué : > 80% des observations dépassent les seuils

\*Valeurs disponibles pour *Palaemon serratus*, uniquement ; P.s. : *Palaemon serratus* ; P.l. : *Palaemon longirostris*.



### 1 Positionnement des stations d'étude

La prise en compte du *continuum* de l'amont du bassin jusqu'à l'exutoire sur le littoral constituait l'aspect central du projet BIOSURVEILLANCE. Pour y répondre, la désignation des stations d'étude a été actée dans le cadre d'une co-construction avec les gestionnaires de bassins du district Seine Normandie, en considérant les critères suivants :

- une couverture des masses d'eau douce – eau de transition – eau marine, répondant à des contextes de pressions chimiques variables ;
- une priorité donnée à l'axe Seine et ses affluents, et aux petits estuaires de la baie de Seine ;
- la disponibilité de données supports, acquises dans le cadre des réseaux de suivi de la qualité des eaux – *i.e.* le réseau de suivi haute fréquence de la qualité physicochimique de l'eau (PHRESQUES<sup>6</sup>), le réseau de contrôle et surveillance de l'agence de l'eau Seine Normandie (RCS/RCO<sup>7</sup>), le réseau national d'observation de la contamination chimique du milieu marin de l'Ifremer (ROCHH<sup>8</sup>), et les stations historiques des programmes Seine Aval, PIREN Seine<sup>9</sup> et de l'observatoire MeSeine du SIAAP<sup>10</sup> ;

Les échanges entre scientifiques et gestionnaires ont permis de déboucher sur un consensus, sur les secteurs à investiguer, avec un total de 27 stations, incluant 3 *continuums* (**Figure 1** et **Tableau 2**) :

- **Continuum Seine** : 5 points suivis en amont de la confluence de la Seine avec les grands affluents – *i.e.* sur l'Yonne à l'aval de Sens (Pont-sur-Yonne, SE2), sur l'Aisne à Soisson (SE3), sur l'Oise à l'aval de Compiègne (Verberie, SE4), sur la Marne à l'aval d'Épernay (Jaulgonne, SE5), et sur l'Eure (Martot - les Damps, SE8) ;  
6 points sur l'axe Seine – *i.e.* en tête de Bassin (Marnay ; SE1), en amont et aval de Paris (Fontaine-le-Port, SE6 ; Triel, SE7), dans l'estuaire amont (Petit Couronne : SE9), dans l'estuaire aval (Tancarville, SE10) et à l'embouchure (bouée Scenes au large du Havre, SE11) ;  
1 point sur le littoral à proximité de l'embouchure (port d'Antifer, SE12).
- **Continuum de l'Orne** : 2 points suivis en eau douce en amont de Caen (Louvigny, OR1) et au niveau du barrage de Montalivet (Caen, OR2), 1 point en eau de transition mésohaline (port de Ouistreham : OR3), 1 point en eau de transition polyhaline (Merville-Franceville, OR4) et 1 point en eau salée à l'embouchure de l'Orne (bouée Smile au large de Luc-sur-Mer, OR5).

<sup>6</sup> Projet d'Harmonisation et de REforcement du Suivi haute-fréquence de la QUALité de l'Eau de la vallée de Seine ; <https://www.seine-aval.fr/phresques/>.

<sup>7</sup> Suivi de la qualité des eaux de surfaces ; <https://naiades.eaufrance.fr/>.

<sup>8</sup> Suivi de la contamination du sédiment et du biote sur la façade littorale ; <https://envlit.ifremer.fr/Surveillance-du-littoral/Contaminants-chimiques>.

<sup>9</sup> Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'eau et l'environnement du bassin de la Seine ; <https://piren-seine.fr/>.

<sup>10</sup> Observatoire du bassin francilien de Mesure en Seine ; <https://inneauvation.fr/decouvrir-inneauvation/observatoires-environnementaux/observatoire-riviere-1>.



- **Continuum de La Vire** : 1 point suivi en eau douce (La Meauffe : VI1), 1 point en eau de transition (jonction Doves/Taute/Canal de Carentan : VI2) et 1 point en eau salée en Baie des Veys (bouée de signalisation au large de Grandcamp-Maisy : VI3).
- **La Touque** : 1 point unique, au niveau de la rivière morte, durant la première campagne de 2020 (TO1). Du fait d'une augmentation en salinité observée en 2021, une partie des espèces a été engagée un peu plus en amont au niveau de Saint-Martin-aux-Chartrains (TO2), durant la seconde campagne.
- **Le long du littoral du Cotentin** : 5 points suivis aux niveaux de Saint-Vaast (CO1), Port Pignot (CO2), Cherbourg (CO3), Blainville-sur-Mer (CO4) et les îles Chausey (CO5).

L'ensemble de ces stations a fait l'objet de fiches descriptives détaillées consultables dans un rapport associé<sup>11</sup> au présent rapport et sur l'observatoire de l'axe Seine<sup>12</sup> (cf. section 4 – chapitre 1).

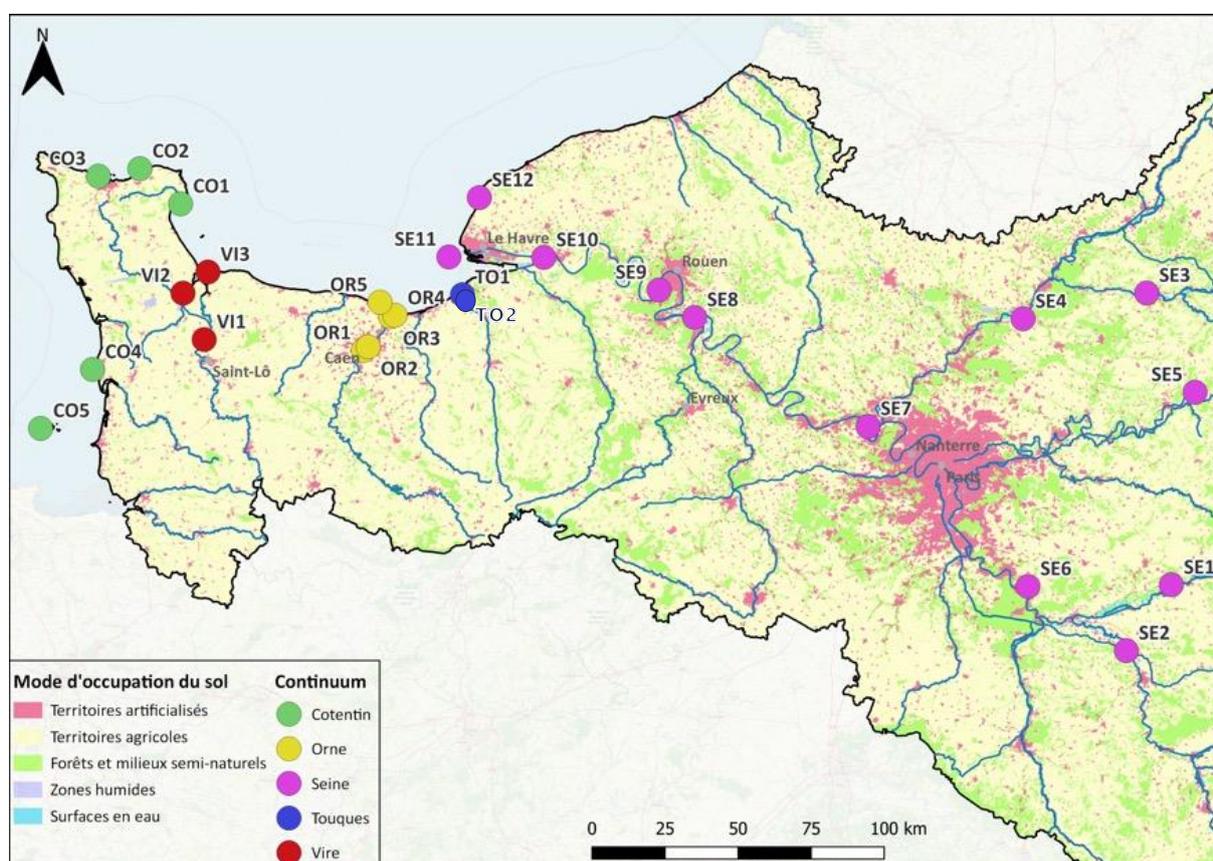


Figure 1. Positionnement des 27 stations suivies dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE, sur le district Seine-Normandie.

<sup>11</sup> <https://www.seine-aval.fr/projet/biosurveillance/>.

<sup>12</sup> <https://www.phresques.fr/cartographie/thematique/1/motcle/48>.

**Tableau 2. Détails des stations suivies dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE, leur localisation respective et les réseaux de mesures existants à proximité.**

ID	Station Biosurveillance	Continuum	Masse d'eau	Secteur	Coordonnées				Suivis additionnels à proximité	
					X_Lambert_93	Y_Lambert_93	Longitude	Latitude	Réseau	Station
SE1	La Vieille Seine à Melz-sur-Seine	Seine	Continentale	Tête de bassin	730730,0	6821138,9	3,416	48,490	AESN - RCS Banque Hydro	03012100 - LA SEINE A COURCEROY 1 H1700010 - La Seine à Pont-sur-Seine
SE2	L'Yonne à Pont-sur-Yonne	Seine	Continentale	Yonne	715373,1	6798471,0	3,207	48,286	AESN - RCO Banque Hydro	03031040 - L'YONNE A PONT-SUR-YONNE 2 F3580004 - L'Yonne à Pont-sur-Yonne
SE3	L'Aisne à Soissons	Seine	Continentale	Aisne	722298,4	6921383,3	3,307	49,392	AESN - RCO Banque Hydro	03153000 - L'AINSE A VENIZEL 1 H6501020 - L'Aisne à Soissons
SE4	L'oise à Verberie	Seine	Continentale	Oise	680047,2	6912530,3	2,726	49,312	AESN - RCB Banque Hydro	03135000 - L'OISE A VERBERIE 1 H2080001 - L'oise à Creil
SE5	La Marne à Jaulgonne	Seine	Continentale	Marne	738847,8	6887287,3	3,532	49,084	AESN - RCO/RCB Banque Hydro	03107000 - LA MARNE A JAULGONNE 2 F6130001 - La Marne à Reuil
SE6	La Seine à Fontaine-le-Port	Seine	Continentale	Amont de Paris	681708,5	6820571,0	2,752	48,485	AESN - RACQT Banque Hydro	03046388 - LA SEINE A FONTAINE-LE-PORT 1 F4470001 - La Seine à Melun
SE7	La Seine à Triel	Seine	Continentale	Aval de Paris	627036,4	6875581,3	2,003	48,976	AESN - RCO MeSeine / PIREN Banque Hydro	03125500 - LA SEINE A TRIEL-SUR-SEINE 1 Andrézy H3000002 - La Seine à Poissy (Débit disponible à Vernon)
SE8	L'Eure à Martot - Les Damps	Seine	Continentale	Eure	567710,9	6913014,9	1,181	49,303	AESN-RCO/RBOU Banque Hydro	03193000 - L'EURE A LERY 1 (proche amont) H4380210 - L'Eure à Louviers
SE9	La Seine à Petit-Couronne	Seine	Transition	Estuaire de la Seine	555605,8	6922434,9	1,012	49,385	AESN SYNAPSES Banque Hydro	03183730 - LA SEINE A PETIT-COURONNE 1 Rouen H3200001 - La Seine à Vernon
SE10	La Seine à Tancarville	Seine	Transition	Estuaire de la Seine	516164,5	6933621,9	0,464	49,475	AESN SYNAPSES	03186000 - TANCARVILLE 1 Tancarville
SE11	Large du Havre	Seine	Littorale	Embouchure de la Seine	483717,0	6933783,0	0,017	49,467	SCENES site d'étude du projet	Large du Havre ECUME
SE12	Antifer	Seine	Littorale	Nord du Havre	494144,4	6954166,9	0,150	49,653	Ifremer - ROCCH Ifremer - ROCCH	SED : 010-P-071 (2km), 010-P-052 (2km), 010-P-215 (2km); MV : 010-P-005 (10km) SED : 010-P-034 (4km), 010-P-040 (5km), 010-P-041 (6km); MV : 010-P-014 (1km), 009-P-014 (15km)
TO1	La Rivière Morte à la Touques	Touques	Continentale	Rivière	488378,3	6920814,7	0,088	49,352	AESN - RCB/RBOU	03228000 - LA TOUQUES A SAINT-MARTIN-AUX-CHARTRAINS 1
TO2	La Touques à Saint-Martin-aux-Chartrains	Touques	Continentale	Rivière	492552,3	6915364,9	0,148	49,304	AESN - RCB/RBOU Banque Hydro	03228000 - LA TOUQUES A SAINT-MARTIN-AUX-CHARTRAINS 1 03237800 - L'ORNE A LOUVIGNY 1 I3621020 - L'Orne à Louvigny
OR1	L'Orne à Louvigny	Orne	Continentale	Fleuve	454477,2	6901654,8	-0,367	49,168	AESN - RCB Banque Hydro	03238000 - L'ORNE A CAEN 1 I3741010 - L'Orne à Caen [Pont de Vaucelles]
OR2	L'Orne à Caen	Orne	Continentale	Port de Caen	456116,7	6902939,0	-0,346	49,180	AESN - RACQT Ifremer - ROCCH	3239010 - LE CANAL DE CAEN À LA MER A BENOUVILLE 1 SED : 010-P-204 (1km); MV : 010-P-117 (2km), 010-P-120 (2km)
OR3	L'Orne au port de Ouistreham	Orne	Transition	Port de Ouistreham	463715,0	6913302,0	-0,247	49,276	AESN - RACQT Ifremer - ROCCH	3239010 - LE CANAL DE CAEN À LA MER A BENOUVILLE 1 SED : 010-P-204 (1km); MV : 010-P-117 (1km), 010-P-120 (2km)
OR4	L'Orne au club de voile de Merville-Franceville	Orne	Transition	Embouchure de l'Orne	465315,0	6913717,0	-0,226	49,280	SMILE Ifremer - ROCCH	Large de Luc-sur-Mer SED : 010-P-133 (4km); 010-P-120 (5km)
OR5	Large de Luc-sur-Mer	Orne	Littorale	Embouchure	460152,0	6918218,0	-0,299	49,318	AESN - RCO/RCB Banque Hydro	03252500 - LA VIRE A PONT-HEBERT 3 I5221010 - La Vire à Saint-Lô [Pont de Gourfaleur]
VI1	La Vire à La Meauffe	Vire	Continentale	Fleuve	400039,1	6905399,1	-1,115	49,178	AESN-RACQT site d'étude du projet	03255960 - LE CANAL DE CARENTAN A CARENTAN LES MARAIS 1 ECUME
VI2	La Vire au canal de Carentan	Vire	Transition	Canal	392801,0	6921334,0	-1,226	49,318	Ifremer - ROCCH	SED : 014-P-072 (2km), 014-P-039 (4km), 014-P-044 (5km); MV : 014-P-007 (1km), 014-P-055 (1km), 014-P-012 (3km), 014-P-014 (3km)
VI3	Baie des Veys	Vire	Littorale	Baie des Veys	401328,0	6928598,0	-1,114	49,387	Ifremer - ROCCH	SED : 015-P-042 (5km), 015-P-040 (6km); MV : 015-P-005 (4km)
CO1	Saint-Vaast	Cotentin	Littorale	Est Cotentin	391964,0	6952033,0	-1,260	49,593	Ifremer - ROCCH	SED : 016-P-046 (6km); MV : 016-P-027 (12km), 015-P-035 (17km)
CO2	Port Pignot	Cotentin	Littorale	Nord Cotentin	378063,0	6964097,0	-1,462	49,694	Ifremer - ROCCH	SED : 016-P-011 (2km), 016-P-010 (3km); MV : 016-P-027 (3km)
CO3	Cherbourg	Cotentin	Littorale	Nord Cotentin	363884,0	6961531,0	-1,656	49,664	Ifremer - ROCCH	SED : 018-P-029 (7km); MV : 018-P-115 (1km)
CO4	Blainville-sur-Mer	Cotentin	Littorale	Ouest Cotentin	361907,0	6895121,0	-1,629	49,067	Ifremer - ROCCH site d'étude du projet	SED : 019-P-013 (4km); MV : 019-P-001 (6km)
CO5	Chausey	Cotentin	Littorale	Ouest Cotentin	344114,0	6874873,0	-1,855	48,875	Ifremer - ROCCH	

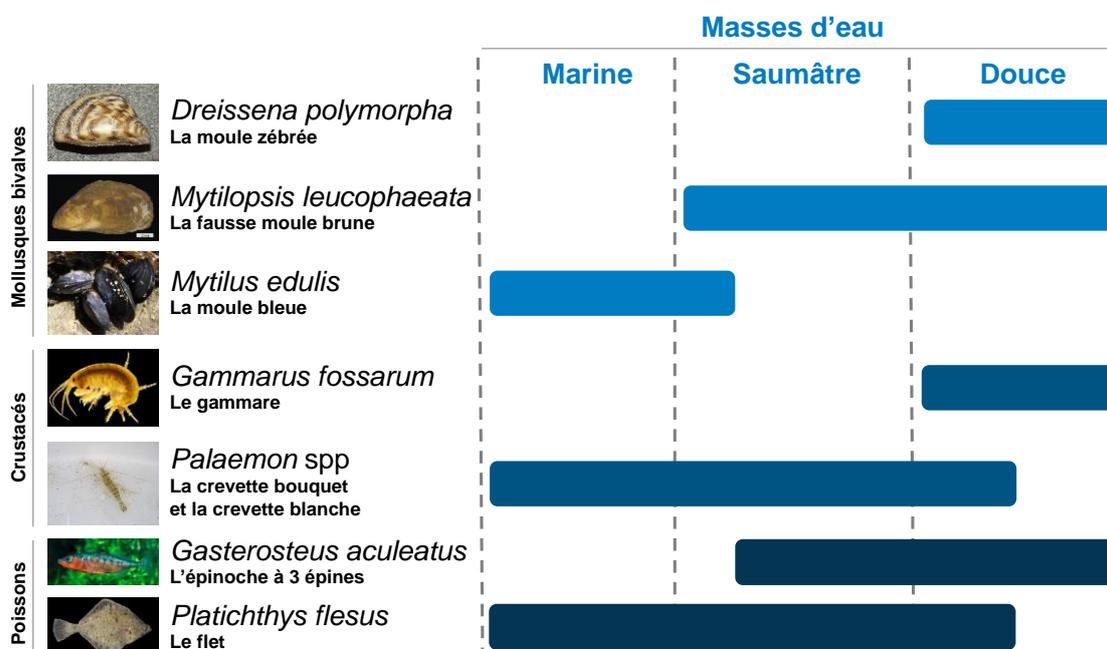
AESN : Agence de l'Eau Seine Normandie ; ECUME : projet 'Etude d'outils d'évaluation de la contamination Chimique dans les eaux de la Manche' ; MeSeine : Observatoire du bassin francilien de Mesure en Seine ; PIREN : Programme Interdisciplinaire de Recherche sur l'eau et l'environnement du bassin de la Seine ; RACQT : Réseau d'Acquisition Tournant de l'AESN (i.e. prélèvements 2 années consécutives uniquement tous les 6 ans : 1 année pour la physico-chimie et l'année suivante pour la physico-chimie, les micropolluants et les indices biologiques); RBOU : Réseau de BOUclage ; RCO : Réseau de Contrôle Opérationnel ; ROCCH : Réseau d'Observation des Contaminants Chimiques ; RCS : Réseau de Contrôle et de Surveillance ; SCENES : Station Côtière pour l'observation de l'Environnement en Estuaire de Seine ; SMILE : Système de Mesure Instrumenté Littoral pour L'Environnement.



## 2 L'encagement d'espèces sentinelles

La **Figure 2** donne un récapitulatif des espèces sentinelles retenues pour la stratégie de surveillance du *continuum* au regard de leur capacité de couverture des différentes masses d'eau. Brièvement, parmi ces espèces figurent (ordonnées en fonction de leur capacité de couverture de l'amont vers l'aval) :

- 3 espèces de bivalves - *i.e.* la dreissène ou moule zébrée (*Dreissena polymorpha*), la fausse moule brune (*Mytilopsis leucophaeata*) et la moule bleue (*Mytilus edulis*) ;
- 3 espèces de crustacés - *i.e.* un gammare (*Gammarus fossarum*), la crevette blanche (*Palaemon longirostris*) et la crevette bouquet (*P. serratus*) ;
- 2 espèces de poissons téléostéens – *i.e.* l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) et le flet (*Platichthys flesus*).



**Figure 2. Espèces mobilisées dans le cadre du projet SASHIMI et leur capacité de couverture des différentes masses d'eau<sup>13</sup>.**

Les encagements ont été effectués en 2020 et en 2021 durant la saison automnale (*i.e.* octobre et novembre) selon la méthodologie développée dans le cadre du projet SASHIMI (résumé en **Tableau 1**). Les dates de l'ensemble des encagements sont consultables en **Annexe 1** (Tableau S1 et S2). Cette période a été identifiée comme la plus favorable, permettant i) de garantir l'approvisionnement de tous les organismes, ii) d'éviter les épisodes climatiques et hydrodynamiques trop contraignants, et iii) d'éviter la pleine saison de reproduction pour la majorité des espèces. Durant les campagnes d'encagement, la superposition des

<sup>13</sup> N.B. Dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE, l'encagement de l'épinoche à trois épines n'a été proposé qu'en eau douce et milieu saumâtre mais il est également réalisable en eau marine (INERIS, communication personnelle).

espèces a été privilégiée, de sorte à obtenir un ensemble « bivalve, crustacé, poisson », dans la mesure du possible (au regard des contraintes de déploiement propres à chacune des espèces). Le **Tableau 3** propose un récapitulatif de la distribution de chaque espèce, sur chaque station, ainsi que le nombre d'espèces engagées par station. Il peut être souligné que l'engagement des espèces introduites (*i.e.* moule zébrée et fausse moule brune) a été réalisé uniquement sur les bassins où leur présence avait été préalablement renseignée ; ce qui explique que la fausse moule n'ait pas été déployée sur la Seine.

**Tableau 3. Distribution des espèces sentinelles sur les différentes stations d'études.**

ID	Station Biosurveillance	Espèces							Nb sp. / station
		Dreissène	Mytilopsis	Moule bleue	Gammare	Crevette	Epinoche	Flet	
SE1	La Vieille Seine à Melz-sur-Seine	x			x				2
SE2	L'Yonne à Pont-sur-Yonne	x			x				2
SE3	L'Aisne à Soissons	x			x				2
SE4	L'oise à Verberie	x			x		x		3
SE5	La Marne à Jaulgonne	x			x		x		3
SE6	La Seine à Fontaine-le-Port	x			x		x		3
SE7	La Seine à Triel	x			x		x		3
SE8	L'Eure à Martot - Les Damps	x			x				2
SE9	La Seine à Petit-Couronne	x			x	x	x	x	5
SE10	La Seine à Tancarville					x			1
SE11	Large du Havre			x		x		x	3
SE12	Antifer			x		x		x	3
TO1	La Rivière Morte à la Touques	x	x		x				3
TO2	La Touques à Saint-Martin-aux-Chartrains	x			x				2
OR1	L'Orne à Louvigny	x	x		x				3
OR2	L'Orne à Caen	x	x		x				3
OR3	L'Orne au port de Ouistreham		x			x			2
OR4	L'Orne au club de voile de Merville-Franceville		x	x		x			3
OR5	Large de Luc-sur-Mer			x		x		x	3
VI1	La Vire à La Meauffe	x	x		x				3
VI2	La Vire au canal de Carentan		x						1
VI3	Baie des Veys			x		x		x	3
CO1	Saint-Vaast			x		x			2
CO2	Port Pignot			x		x			2
CO3	Cherbourg			x		x			2
CO4	Blainville-sur-Mer			x		x			2
CO5	Chausey			x		x			2

Le dégradé de bleus de la colonne « ID » rappelle la nature de la masse d'eau (*i.e.* continentale, de transition ou littorale) de chaque station.  : les dreissènes et les gammares ont été engagés sur la station TO1 en 2020, puis sur la station TO2 en 2021 du fait d'une augmentation de salinité observée en TO1. Les moules brunes ont été engagées en TO1 durant les 2 campagnes.

### 3 L'interprétation des réponses biologiques

Comme précédemment souligné, l'objectif était de favoriser l'harmonisation méthodologique et d'optimiser les possibilités d'inter-comparaison des résultats entre masses d'eau et espèces. L'effort analytique a ainsi été centré sur 2 biomarqueurs reconnus et applicables de façon consensuelle à l'ensemble des espèces sentinelles – *i.e.* la mesure des dommages à l'ADN (*i.e.* génotoxicité), *via* le test Comet, et la mesure de la réponse phagocytaire (*i.e.* immunotoxicité) en cytométrie en flux.

La lecture des résultats biomarqueur/espèce a été basée sur la mobilisation de référentiels d'interprétation (*i.e.* valeur de référence et valeur.s seuil.s) établis pour chaque couple biomarqueur-espèce, selon la méthodologie développée dans le cadre du projet SASHIMI (ré-

sumé en **Tableau 1**). Pour tous les couples biomarqueur/espèce, une classification du niveau d'effet a été produite, au regard de la distribution des répliques biologiques, vis-à-vis de leur seuil de significativité. Une grille d'interprétation à trois niveaux – *i.e.* « pas d'effet », « effet marqué » et « effet très marqué » - a été ainsi proposée pour une interprétation semi-quantitative accessible pour un public non-spécialiste.

Une évaluation globale par station a été secondairement appliquée au regard de la réponse la plus déclassante, selon le principe de *one out - all out*, tel que cela est actuellement appliqué pour l'évaluation de « l'état chimique » et « l'état écologique » dans le cadre de la DCE. Ainsi, il a suffi qu'une seule espèce soit classée comme « effet marqué » en immunotoxicité, pour que la note globale de la station en immunotoxicité soit « effet marqué », même si les autres espèces présentaient un « état de référence ».

#### 4 Diffusion des résultats

Pour valoriser les résultats issus du projet BIOSURVEILLANCE et favoriser leur croisement avec les données environnementales disponibles par ailleurs, ces derniers ont été diffusés sur l'observatoire environnemental de la Seine (<https://www.phresques.fr/>). Développé par le GIP Seine-Aval dans le cadre du projet PHRESQUES, cet outil englobe une interface cartographique et un volet textuel permettant la diffusion d'indicateurs dont la confrontation offre une vision évolutive de l'état de santé de la Seine et une meilleure compréhension de son fonctionnement environnemental. Concernant le projet BIOSURVEILLANCE, il permet d'accéder i) à la situation et au descriptif détaillé des stations d'étude, ii) aux niveaux d'effets génotoxiques et immunotoxiques mesurés par station/année/organisme. Cet outil est alimenté *via* un back office permettant de renseigner les textes et d'afficher les résultats (fichiers geojson).

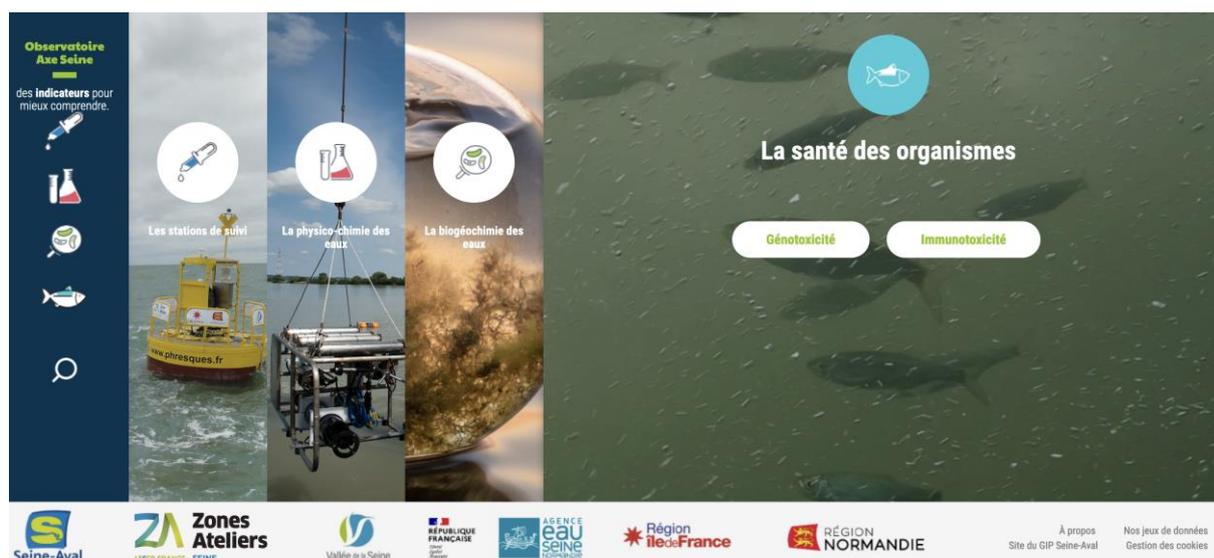


Figure 3. Portail d'accès de l'observatoire de l'axe Seine (<https://www.phresques.fr/>).

## CHAPITRE 2 – ACQUIS DU PROJET

### 1 Preuve de faisabilité

Sur les 131 systèmes déployés durant ces deux campagnes, seuls 7 ont présenté un défaut de récupération à l'issue de la période d'encagement, soit un taux de récupération de 95 % (**Tableau 4**). En effet, concernant les dreissènes, un système a été retrouvé émergé sur la station de Jaulgonne (SE5), à la suite d'une baisse d'environ 1 m du niveau de la Marne en 2020. En 2021, le système de la station de Verberie (SE4) n'a pas été retrouvé. Le système d'encagement des épinoches a également subi une émergence à Jaulgonne (SE5) en 2020 et a été dérobé l'année suivante sur la même station. De même, à l'issue de la campagne de 2020, le système d'encagement de crevettes blanches de la station de Petit-Couronne (SE9) présentait une légère ouverture (la récupération d'une partie des spécimens ayant tout de même été assurée), alors que celui de la station de Tancarville (SE10) avait été dérobé. En 2021, le système de la station de Tancarville a été retrouvé complètement envasé.

**Tableau 4. Taux de survie par station d'encagement, observés pour de chacune des espèces durant les campagnes 2020 et 2021.**

ID	Station Biosurveillance	Dreissène		Mytilopsis		Moule bleue		Gammare		Crevette		Epinoche		Flet	
		2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021	2020	2021
SE1	La Vieille Seine à Melz-sur-Seine	98,3	91,0					68,6	80,0						
SE2	L'Yonne à Pont-sur-Yonne	99,2	88,5					76,4	87,8						
SE3	L'Aisne à Soissons	99,2	83,5					83,6	89,4						
SE4	L'oise à Verberie	99,2						88,6	82,2			96,0	93,0		
SE5	La Marne à Jaulgonne		89,0					87,1	92,8						
SE6	La Seine à Fontaine-le-Port	99,2	91,0					85,7	85,6			100	100		
SE7	La Seine à Triel	97,5	91,5					85,7	86,7			100	100		
SE8	L'Eure à Martot - Les Damps	99,2	92,0					82,1	91,1						
SE9	La Seine à Petit-Couronne	96,7	82,0					81,4	76,7	50,0	75,6	73,0	90,0	93,3	93,3
SE10	La Seine à Tancarville														
SE11	Large du Havre					95,0	82,5			46,0	42,0			93,3	53,3
SE12	Antifer					85,0	77,5			56,0	64,0			100	66,7
TO1	La Rivière Morte à la Touques	95,0		97,8	92,6			80,7							
TO2	La Touques à Saint-Martin-aux-Chartrains		91,5						93,3						
OR1	L'Orne à Louvigny	98,3	92,0	97,7	92,6			82,9	90,6						
OR2	L'Orne à Caen	99,2	87,5	95,5	92,7			80,0	91,1						
OR3	L'Orne au port de Ouistreham			96,7	87,9					72,5	87,2				
OR4	L'Orne au club de voile de Merville-Franceville			95,1	28,7	82,5	75,0			58,0	62,0				
OR5	Large de Luc-sur-Mer					92,5	87,0			50,0	52,0			100	66,7
VI1	La Vire à La Meauffe	95,0	94,0	100	90,8			71,4	95,6						
VI2	La Vire au canal de Carentan			100	96,6										
VI3	Baie des Veys					100,0	82,5			60,0	54,0			93,3	86,7
CO1	Saint-Vaast					97,5	100,0			39,0	83,0				
CO2	Port Pignot					95,0	97,5			77,0	66,0				
CO3	Cherbourg					95,0	89,5			73,0	60,0				
CO4	Blainville-sur-Mer					95,0	100			63,0	74,0				
CO5	Chausey						97,4			53,0	64,0				

Le dégradé de bleus de la colonne « ID » rappelle la nature de la masse d'eau (*i.e.* continentale, de transition ou littorale) de chaque station. Les cellules noires indiquent un « défaut » du système d'encagement, rapporté lors de la récupération.

Les taux de survie observés à l'issue de la période d'encagement étaient globalement très satisfaisants (**Tableau 4**), avec des valeurs respectives (*i.e.* moyenne sur les deux années  $\pm$  écart-type) de  $94 \pm 5$ ,  $90 \pm 18$ ,  $91 \pm 8$ ,  $85 \pm 7$ ,  $62 \pm 13$ ,  $94 \pm 9$  et  $85 \pm 16$  % pour la dreissène,

la fausse moule brune, la moule bleue, le gammare, les crevettes, l'épinoche et le flet. Les taux de survie un peu plus faibles observés chez les crevettes s'expliquent essentiellement par un comportement de cannibalisme exacerbé en captivité, et ce malgré l'enrichissement des casiers avec des refuges (*i.e.* modules en PVC et en substrats grillagés). Quelques taux de survie remarquablement bas ont toutefois été rapportés chez les fausses moules brunes engagées à l'embouchure de l'Orne (OR4) en 2021 (28.7 % de survie), ne permettant pas de valider cette exposition et la considération des mesures de biomarqueurs. Des tendances d'évolution des taux de survie entre les campagnes 2020 et 2021 semblaient se dégager. Chez l'ensemble des bivalves et le flet, les taux de survie étaient globalement plus faibles en 2021, avec des diminutions (*i.e.* moyenne des différences entre 2020 et 2021  $\pm$  écart-type) de  $9 \pm 4$ ,  $14 \pm 23$ ,  $5 \pm 7$  et  $23 \pm 18$  % observées pour la dreissène, la fausse moule brune, la moule bleue, et le flet. *A contrario*, les survies étaient globalement meilleures en 2021 chez les crustacés et l'épinoche, avec des augmentations (*i.e.* moyenne des différences entre 2021 et 2020  $\pm$  écart-type) de  $6 \pm 8$ ,  $6 \pm 16$  et  $5 \pm 11$  % observées pour le gammare, les crevettes, et l'épinoche.

Le pilote de déploiement des espèces sentinelles dans des systèmes d'encagement, réalisé en 2020 et 2021, a démontré la **faisabilité logistique de la stratégie de suivi du *continuum* proposée par le projet BIOSURVEILLANCE**. Les **taux de survie** observés étaient **satisfaisants pour l'interprétation des marqueurs** suivis.

## 2 Caractérisation de l'état « écotoxicologique » des masses d'eau

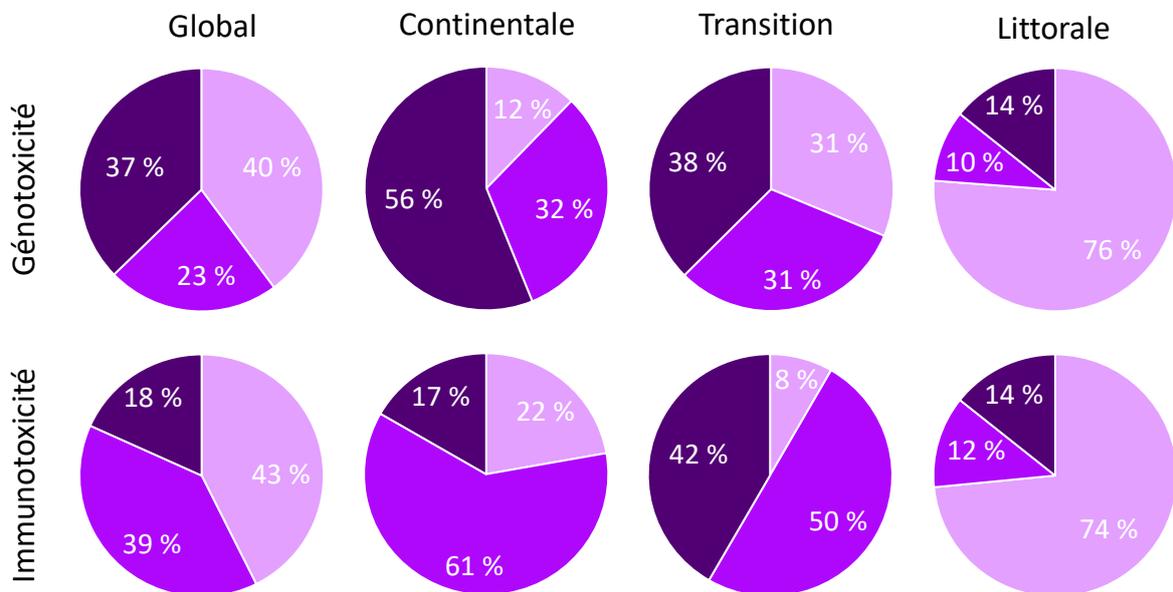
Sur un total de 252 postes d'analyses (*i.e.* groupes d'échantillons / marqueurs / espèces / stations) prévus post-encagement, 232 (*i.e.* 92 %) ont pu être menés sur tout le long du processus analytique jusqu'à l'interprétation des réponses biologiques en niveaux d'effet. Le **Tableau 5** présente les niveaux d'effets génotoxiques et immunotoxiques mesurés sur les différents groupes d'organismes engagés en 2020 et 2021 (*cf.* Tableau S3 de l'**Annexe 2** pour une visualisation plus détaillée). Globalement, 41 % des couples marqueurs/espèces analysés n'ont pas retranscrit d'effets significatifs. Sur les 59 % restants, 31 et 28 % présentés respectivement des niveaux « effet marqué » et « effet très marqué ».

La **Figure 4** présente la répartition cumulée sur l'ensemble des espèces et sur les deux années de suivi, des niveaux d'effets génotoxiques et immunotoxiques. La mesure des dommages à l'ADN a retranscrit d'avantage d'effets (notamment d'effets très marqués), en comparaison à la mesure de l'activité de phagocytose. Ce résultat est cohérent au regard du nombre de molécules susceptibles d'induire des dommages génotoxiques (*i.e.* un tiers des contaminants, selon Claxtoma et al., 1998). Par ailleurs, quelle que soit la réponse biologique mesurée, les niveaux d'effets tendent à diminuer, des masses d'eau continentales vers les masses d'eau littorales, suggérant une diminution de la pression écotoxicologique le long du *continuum*. Ce constat doit toutefois être tempéré au regard i) du déséquilibre de l'effort d'échantillonnage entre les masses d'eau, avec 57, 16 et 48 encagements analysés en eau continentale, eau de transition et eau littorale, sur les 2 années, et ii) d'une difficulté de comparaison stricte entre espèce (en dépit de l'effort d'harmonisation méthodologique mise en œuvre pour comparer au mieux).

**Tableau 5. Récapitulatif des niveaux d'effets génotoxiques et immunotoxiques, rapportés sur les différentes stations étudiées, pour les trois groupes taxonomiques, à l'issue des campagnes d'engagement 2020 et 2021.**

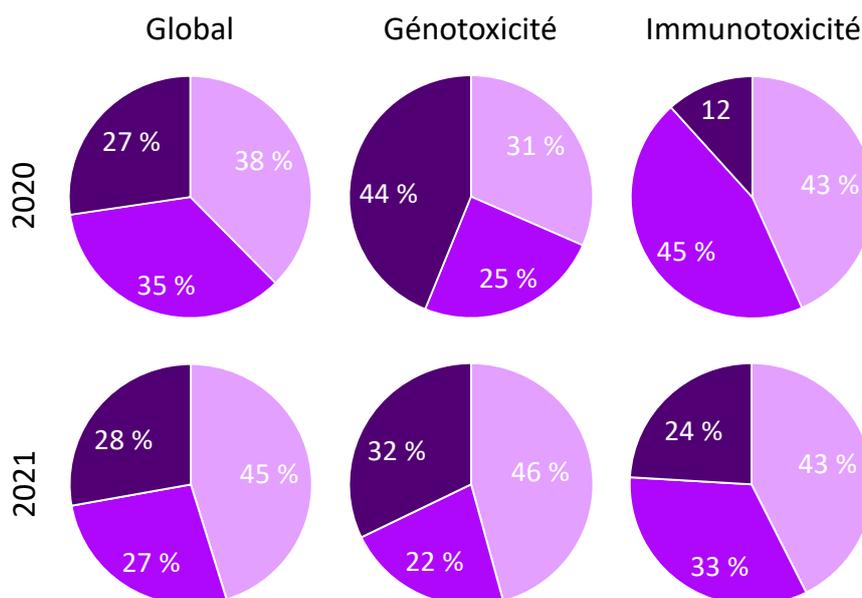
	Campagne 2020						Campagne 2021					
	Génotoxicité		Poisson	Immunotoxicité		Poisson	Génotoxicité		Poisson	Immunotoxicité		Poisson
	Mollusques	Crustacés		Mollusques	Crustacés		Mollusques	Crustacés		Mollusques	Crustacés	
SE1												
SE2												
SE3												
SE4												
SE5												
SE6												
SE7												
SE8												
SE9												
SE11												
SE12												
TO1												
TO2												
OR1												
OR2												
OR3												
OR4												
OR5												
VI1												
VI2												
VI3												
CO1												
CO2												
CO3												
CO4												
CO5												

Le dégradé de bleus de la colonne « ID » rappelle la nature de la masse d'eau (*i.e.* continentale, de transition ou littorale) de chaque station. Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – *i.e.* « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■), non échantillonné / non analysé (■). Lorsque deux espèces du même groupe ont été co-encagées sur une même station, le niveau donné à gauche correspond à l'espèce présentant la répartition la plus en amont (*e.g.* pour TO1 2020 / colonne « Mollusques » : dreissène à gauche et fausse moule brune à droite).



**Figure 4. Répartition des niveaux des effets génotoxiques et immunotoxiques, cumulés sur l'ensemble des espèces durant les campagnes 2020 et 2021, sur la globalité des encagements ou par type de masses d'eau.**

Ces résultats sont une compilation de 57, 16 et 49 encagements analysés en eau continentale, eau de transition et eau littorale, respectivement. Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – *i.e.* « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■).



**Figure 5. Répartition des niveaux d'effets observés en 2020 et 2021, globalement et par type de réponse (i.e. génotoxique et immunotoxique), cumulée sur l'ensemble des espèces.**

Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – i.e. « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■).

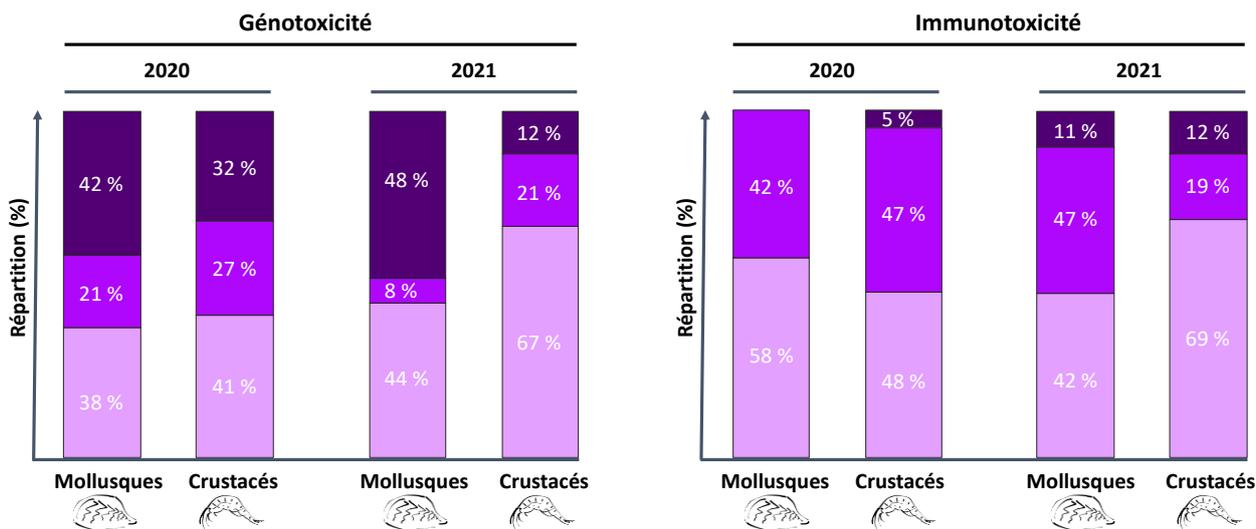
L'analyse par année (**Figure 5**) ne souligne pas de changement majeur des niveaux d'effet observés. Globalement, le niveau cumulé d'« effets marqués » et d'« effets très marqués » diminue de 7 % en 2021. En considérant plus en détail la réponse génotoxique, cette diminution s'explique par une diminution de 12 % du niveau d'« effets très marqués ». *A contrario*, le niveau cumulé d'effets immunotoxiques reste stable, avec une diminution de 12 % du niveau d'« effets marqués » mais une augmentation d'un facteur 2,2 du niveau d'« effets très marqués », en 2021. Une analyse plus fine, par groupe d'organisme et par station (**Tableau 5**), permet de souligner quelques micro-phénomènes :

- Une augmentation de la réponse écotoxique a été observée en 2021, sur les stations en amont du bassin de la Seine - i.e. La vieille Seine à Melz-sur-Seine (SE1), L'Yonne à Pont-sur-Yonne (SE2) et L'Aisne à Soissons (SE3). Cela s'est notamment traduit par une augmentation du niveau de génotoxicité mesuré sur ces stations, chez les gammarès, en 2021. Chez les dreissènes encagées sur ces mêmes stations, le niveau de génotoxicité qui était déjà « très marqué » en 2020, est resté constant ; en revanche, le niveau d'immunotoxicité est passé de « pas d'effet » à « effet marqué » en 2021 sur les stations SE1 et SE3.
- Les niveaux de génotoxicité mesurés chez les gammarès encagés sur les stations de La Marne à Jaulgonne (SE5), La Seine à Triel (SE7), L'Eure à Martot - Les Damps (SE8), La Seine à Petit-Couronne (SE9), L'Orne à Louvigny (OR1) et L'Orne à Caen (OR2) ont montré une diminution en 2021, passant d'un statut « effet très marqué » au statut « effet marqué » (i.e. SE5, SE7 et SE8), voir « pas d'effet » (i.e. SE9, OR1 et OR2). Cette même tendance a été observée chez les épinoches et les flets encagés sur en station SE4, SE7 et/ou SE9, ainsi que chez les fausses moules brunes pour la station OR2. Une tendance inverse a été observée à la fois chez les gammarès et les épinoches encagés sur la station de La Seine à Fontaine-le-Port (SE6). Les niveaux d'effets immu-

notoxiques, quant à eux, ont présenté une tendance à l'augmentation sur l'ensemble de ces stations, excepté chez les dreissènes encagées sur SE7, les gammares encagés sur SE1, SE8 et OR1, les épinoches encagés sur SE9, les flets encagés sur SE11 et OR5 et les moules encagées sur OR5.

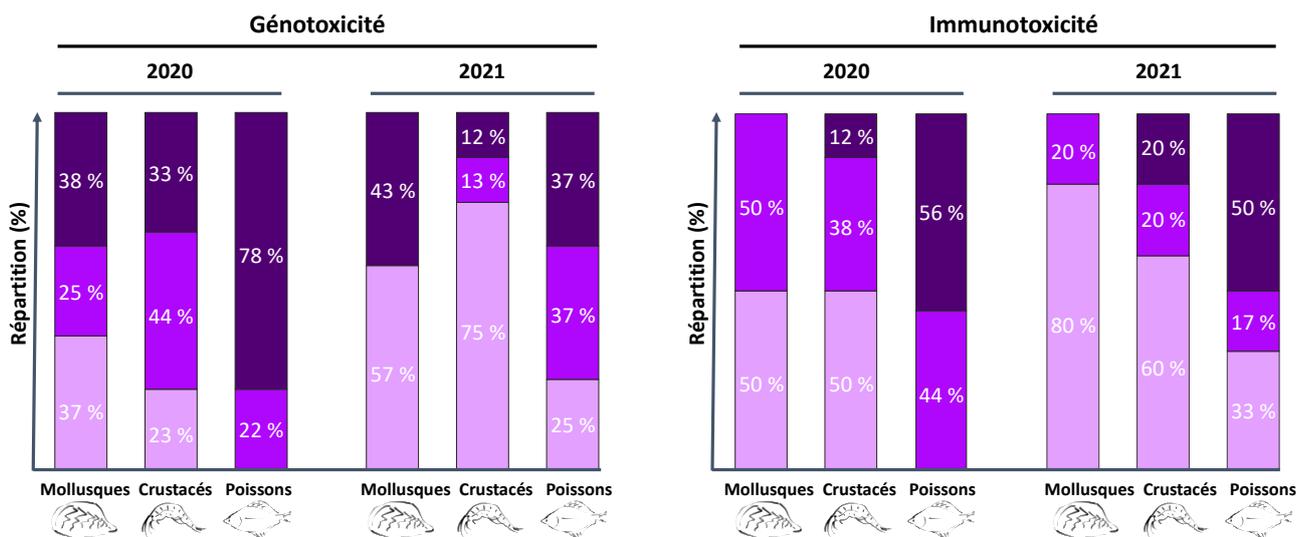
- Les effets significatifs observés sur les stations littorales en 2020 ont montré une tendance à l'atténuation en 2021. C'est le cas des effets génotoxiques mesurés chez les moules bleues et les flets sur la station du port d'Antifer (SE12) et ceux mesurés sur les crevettes et les flets, sur les stations de Luc-sur-Mer (OR5) et la Baie des Veys (VI3). En revanche, des niveaux significatifs d'effets, absents en 2020, ont été rapportés concernant l'immunotoxicité chez les crevettes sur les stations VI3 et CO2 (avec un niveau « marqué »), ainsi que chez les moules bleues sur la station OR4.

Les résultats du présent pilote soulignent l'intérêt de travailler avec différents modèles pour renforcer le diagnostic, en confirmant certaines tendances ou, au contraire, en usant de leur diversité en termes de physiologie et/ou de mode d'exposition dans une approche complémentaire. La **Figure 6** illustre la répartition des niveaux d'effets, observés chez les mollusques et les crustacés, en 2020 et 2021, cumulés sur 16 à 23 stations de co-encagement (*i.e.* en fonction des marqueurs/années). Ces résultats tendent à montrer des répartitions de niveaux de dommages génotoxiques assez proches en 2020, puis beaucoup plus contrastés en 2021, avec notamment un niveau « effet très marqué » davantage diagnostiqué chez les mollusques bivalves (*e.g.* respectivement 48 % et 12 % pour les bivalves et les crustacés en 2021). Concernant la réponse immunitaire, en proportions, les mollusques ont présenté moins d'effets significatifs cumulés que les crustacés en 2020 (*i.e.* respectivement 42 et 52 %), alors que l'inverse a été observé en 2021 (*i.e.* respectivement 58 et 41 %). La comparaison des résultats observés chez les mollusques, crustacés et poissons n'a pu être réalisée que pour un sous-échantillon de 5 à 8 stations sur lesquels les 3 groupes ont été co-encagés (**Figure 7**). Sur ces stations, les poissons ont globalement montré de plus forts niveaux d'effets génotoxiques et immunotoxiques en comparaison aux autres groupes, avec notamment 100% d'effets significatifs pour les deux marqueurs en 2020. Il est toutefois remarquable de constater, sur ces stations de co-encagement, une tendance générale à l'atténuation des effets, entre 2020 et 2021, chez les trois groupes. Les conclusions tirées de ces différentes comparaisons entre espèces restent toutefois à prendre avec précaution au regard du manque de recul. En effet, il semble encore nécessaire d'acquérir davantage de données permettant la comparaison et l'intercalibration des référentiels, pour pouvoir répondre au questionnement relatif aux différences de sensibilité entre espèces sentinelles (notamment pour retranscrire et comparer les seuils biologiques ; *cf.* **Encart 1**).



**Figure 6. Répartition des niveaux d'effets observés en 2020 et 2021, par type de réponse (i.e. génotoxique et immunotoxique), observés chez les mollusques bivalves et les crustacés, cumulés sur les 16 à 23 stations où les 2 groupes ont été co-engagés.**

Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – i.e. « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■).



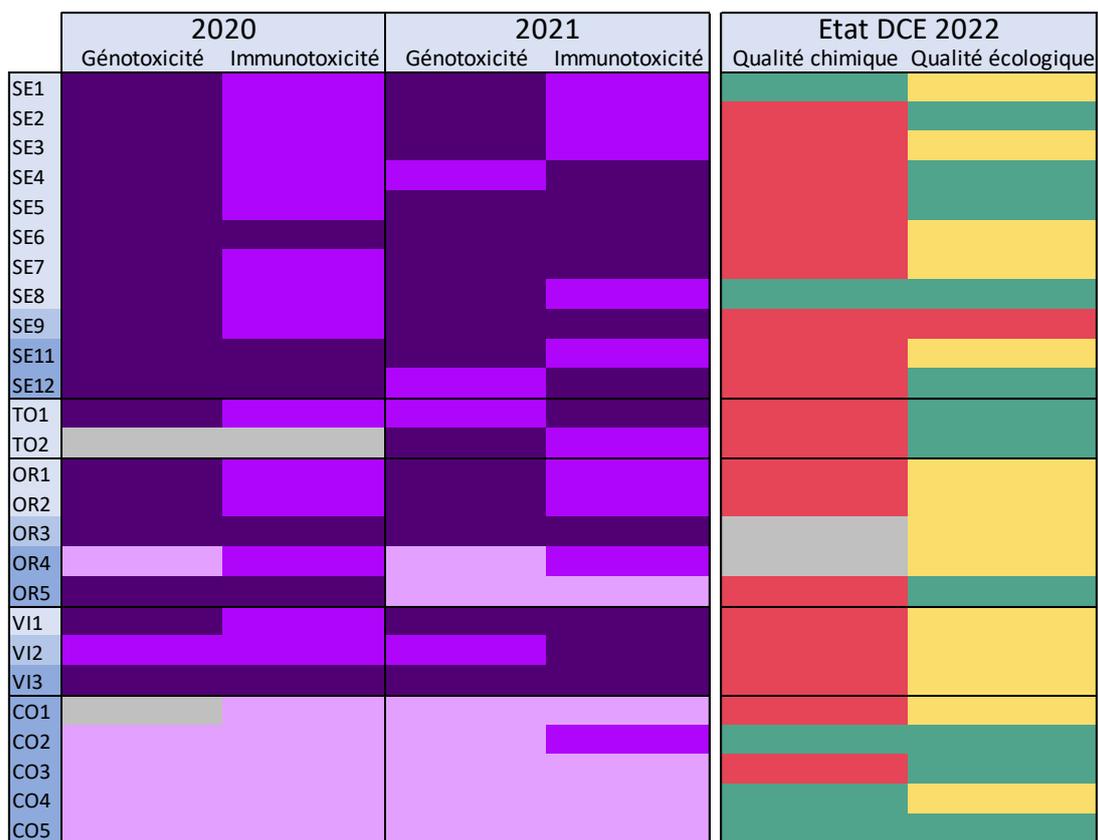
**Figure 7. Répartition des niveaux d'effets observés en 2020 et 2021, par type de réponse (i.e. génotoxique et immunotoxique), observés chez les mollusques bivalves, les crustacés et les poissons, cumulés sur les 5 à 8 stations où les 3 groupes ont été co-engagés.**

Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – i.e. « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■).

Les niveaux d'effets mesurés sur différentes espèces pour une même station ont été compilés selon l'approche « one out, all out » (cf. Chapitre 1 - section 3) de sorte à produire un « état génotoxique » et un « état immunotoxique » global pour chacune d'entre elles. Ces résultats sont présentés en **Figure 8**, au regard de l'« état chimique » et de l'« état écologique » décrits dans le cadre de l'application de la DCE, lors de l'évaluation de 2022 (cf. **Annexe 3** – Tableau S4 ; <https://geo.eau-seine-normandie.fr/#/home/MESU>). Les observations sont globalement très cohérentes. Dix des 11 stations (i.e. 91 %) présentant à la fois un état chimique et un état écologique dégradés (i.e. moyen, médiocre ou mauvais) ont également montré un niveau d'effet génotoxique et/ou immunotoxique significatif durant les deux cam-

pagines, 2020 et 2021. Seules la station CO1 ne présentait aucun effet, sur les deux années. A l'inverse, sur les 3 stations présentant un bon état global (*i.e.* SE8, CO2 et, CO5), seule CO5 n'a présenté aucun effet significatif durant les deux années. La station CO2, a été classée en « effet marqué » uniquement pour l'immunotoxicité en 2021. En revanche, la station SE8 a été classée en « effet très marqué » et « effet marqué » respectivement pour la génotoxicité et l'immunotoxicité durant les deux campagnes.

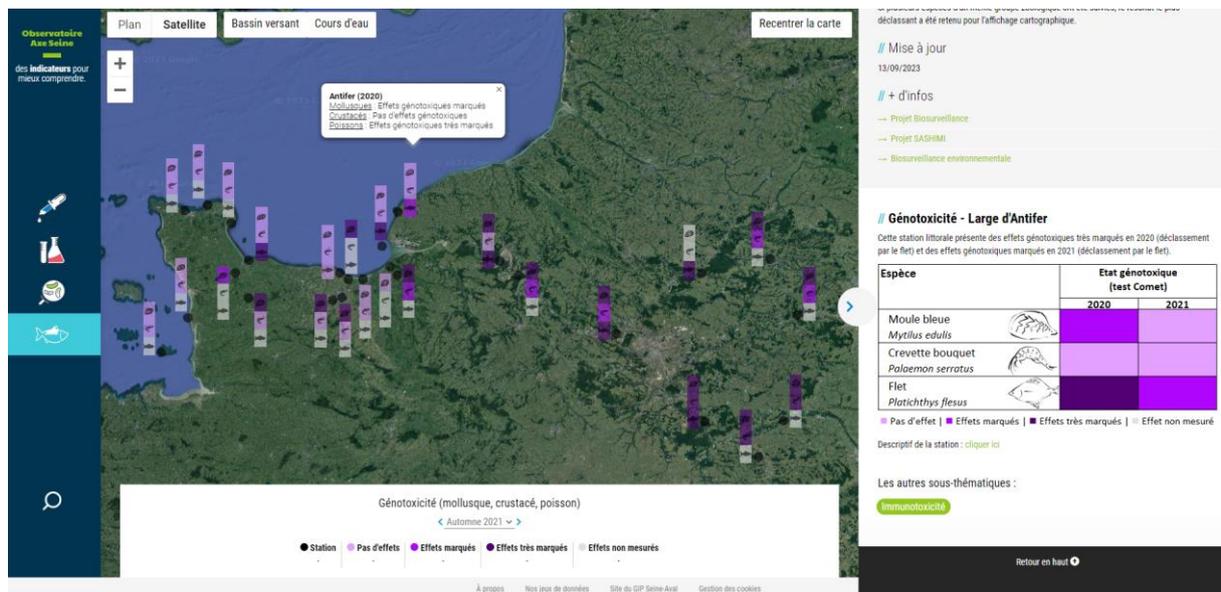
Pour 10 stations, un contraste entre « état chimique » et « état écologique » a été rapporté par le suivi DCE de 2022. Pour ces stations, l'approche « biomarqueurs » permet de préciser le diagnostic. Six des 8 stations (*i.e.* 75 %) présentant un mauvais état chimique et un bon état écologique (*i.e.* SE2, SE4, SE5, SE12, TO1, TO2) ont montré des effets génotoxique et/ou immunotoxique significatifs sur les deux années. Seule la station OR5 présentait des niveaux d'effets significatifs qu'en 2020, et la station CO3 a été classée au niveau « pas d'effet » durant les deux ans de suivi. A l'inverse, les stations SE1 et CO4 ont été classées en bon état chimique mais en état écologique dégradé. Si la station CO4 n'a présenté aucun effet significatif durant les deux campagnes, SE1 en revanche a été classée en « effet marqué » et « effet très marqué », respectivement pour l'immunotoxicité et la génotoxicité, en 2020 et 2021.



**Figure 8. « État génotoxique » et « état immunotoxique » obtenus après intégration des niveaux d'effet mesurés par espèce selon la méthode « one out, all out », pour les différentes stations étudiées en 2020 et 2021, en regard de l'« état chimique » et l'« état écologique » du suivi de la Directive Cadre sur l'Eau.**

Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – *i.e.* « pas d'effet » (■), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■). Le dégradé de bleus de la première colonne rappelle la nature de la masse d'eau (*i.e.* continentale, de transition ou littorale) de chaque station. L'état DCE est retranscrit comme « bon » (■), « moyen/médiocre » (■), « mauvais » (■) et « non déterminé » (■).

L'ensemble de ces résultats a permis la construction des cartes interactives mises à disposition sur le site internet de l'Observatoire de l'axe Seine (cf. <https://www.phresques.fr/>). Une carte a été construite par type de réponse biologique (*i.e.* génotoxicité et immunotoxicité) et par année de suivi. Ces cartes permettent de consulter pour chacune des stations étudiées le niveau global d'effet (*i.e.* intégré selon la méthode « *one out all out* ») et les niveaux d'effet détaillés par groupe zoologique (*e.g.* **Figure 9**).



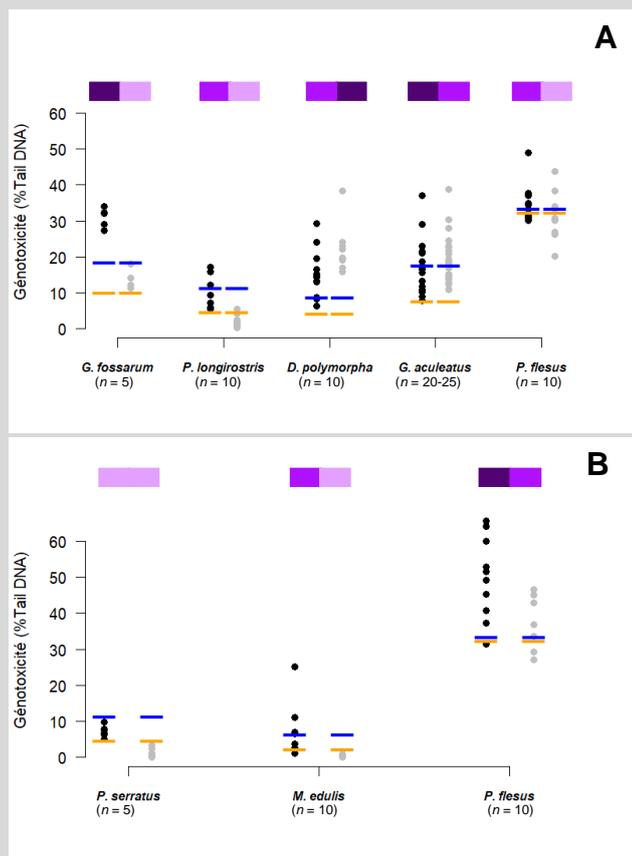
**Figure 9. Exemple de carte consultable sur le site internet de l'Observatoire de l'axe Seine. Ici, la carte des dommages génotoxiques mesurés en 2021, avec un focus sur la station du port d'Antifer (SE12).**

Le pilote de déploiement de BIOSURVEILLANCE rend compte de **niveaux d'effets biologiques globalement très cohérents vis-à-vis de l'état de qualité des masses d'eau**, avec une **diminution de la pression écotoxique observée le long du continuum**.

Les résultats ne rapportent **pas de changement remarquable des niveaux d'effet observé entre les années de suivi**. En revanche, ils soulignent l'intérêt de **travailler avec différents modèles pour renforcer le diagnostic**.

Ce pilote a démontré une fois de plus l'intérêt de l'**approche « biomarqueurs » en tant qu'appui à l'évaluation de la qualité des masses d'eau**, en permettant de **pondérer « l'état chimique » et/ou « l'état écologique »**, notamment dans les **situations de contraste** entre les deux états.

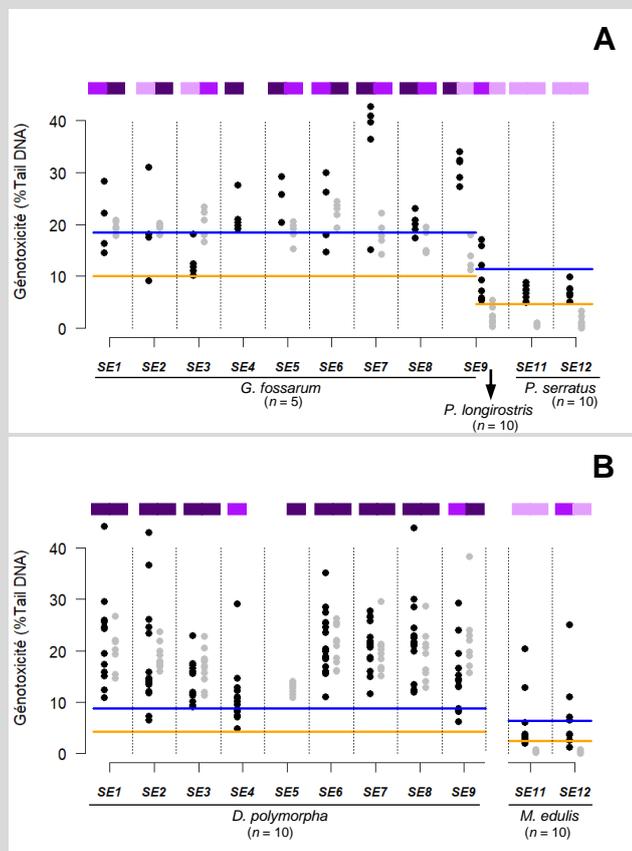
## Encart 1. Illustration de la visualisation des données sur quelques cas d'études.



**Figure 10.** Niveaux de dommages à l'ADN mesurés sur deux stations de co-encagement, (A) la station de Petit Couronne (SE9) chez *Gammarus fossarum*, *Palaemon longirostris*, *Dreissena polymorpha*, *Gasterosteus aculeatus* et *Platichthys flesus*, et (B) la station du port d'Antifer (SE12) chez *Palaemon serratus*, *Mytilus edulis* et *Platichthys flesus*.

Les points noirs et gris représentent respectivement les données obtenues durant les campagnes 2020 et 2021. Les traits orange et bleus représentent respectivement le niveau de base et le seuil de significativité propre à chaque espèce. Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – i.e. « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■).

\*Pour rappel, la **classification du niveau d'effet** a été produite, au regard de la **distribution des répliques biologiques**, vis-à-vis de leur seuil de significativité. Les **grilles de lectures**, propres à chaque espèce, sont données dans le **Tableau 1** (cf. [page 11](#)).



**Figure 11.** Niveaux de dommages à l'ADN mesurés (A) sur spermatozoïdes chez les crustacés (*Gammarus fossarum*, *Palaemon longirostris* et *P. serratus*) et (B) sur hémocytes chez les mollusques bivalves (*Dreissena polymorpha* et *Mytilus edulis*), le long du continuum Seine.

Les points noirs et gris représentent respectivement les données obtenues durant les campagnes 2020 et 2021. Les traits orange et bleus représentent respectivement le niveau de base et le seuil de significativité propre à chaque espèce. Le dégradé de violets retranscrit les différents niveaux d'effets mesurés – i.e. « pas d'effet » (□), « effet marqué » (■), « effet très marqué » (■).

Ces représentations graphiques illustrent bien les différences de référentiels (i.e. niveaux de bas et seuil de significativité) spécifiques aux méthodologies développées chez chaque espèce. Ces différences tiennent compte de l'amplitude de la variabilité naturelle et induite des niveaux de la réponse étudiée. Elles sont dépendantes des spécificités propres à chaque espèce (e.g. physiologie, niveaux trophiques) qui conditionnent notamment les voies d'exposition et d'effet des contaminants. Elles sont également dépendantes de critères méthodologiques telles les durées d'encagement ou la quantité de données disponible pour les construire.

Malgré tout, les observations effectuées chez des espèces très différentes soulignent des tendances identiques, de façon tout à fait remarquable. La figure 10 montre une tendance à la baisse des effets génotoxiques entre 2020 et 2021 quasiment chez toutes les espèces sentinelles, crustacés, mollusques et poissons, des deux stations de co-encagement. Seules les dreissènes de Petit Couronne montrent une tendance à l'augmentation en 2021. La figure 11 illustre clairement le phénomène de gradient d'effets qu'on peut retrouver le long du continuum de la Seine chez les crustacés comme chez les mollusques bivalves.

### 1 Indice d'intégration des différentes réponses de biomarqueurs

La validation de la méthodologie couplant encagement et biomarqueurs pour l'évaluation de la qualité/toxicité des masses d'eau va appeler tout naturellement à une augmentation du nombre de biomarqueurs analysés. Cette augmentation visera à couvrir un maximum de mode d'action (*i.e.* toxicité) et à augmenter le nombre de fonctions physiologiques pouvant être perturbées par la contamination. Pour assurer une interprétation par les gestionnaires des résultats issus de la mesure de plusieurs biomarqueurs, l'intégration de ces derniers dans un indice unique apparaît une stratégie pertinente. Il existe différents indices, dont la Réponse Intégrée des Biomarqueurs (IBRv2), développée en 2013 (Sanchez et al. 2013) pour lesquels une augmentation de l'indice traduit une augmentation de la perturbation. Cependant, différentes limites ont été identifiées dans le calcul de l'IBRv2 limitant son utilisation dans le cadre de programme de biosurveillance. Parmi ces limites, l'élément le plus important est que la variabilité naturelle des biomarqueurs, en lien avec des facteurs environnementaux tels que les paramètres physicochimiques de l'eau (*e.g.* pH, température, conductivité), engendrait un signal pris en compte dans le calcul de l'indice et donc augmentait « artificiellement » la valeur de l'indice de façon indépendante à la réponse à la contamination. Pour lever ces limites, liées à la condition « référence » prise en compte dans le calcul, un nouvel indice a été proposé pour prendre en compte notamment les avancées du projet SASHIMI concernant, pour chaque biomarqueur, la définition d'un référentiel comprenant une « plage » de référence, incluant la variabilité naturelle de la réponse, ainsi qu'une valeur seuil au-delà de laquelle est retenu une réelle modulation de la réponse au regard des conditions d'exposition. La méthodologie du référentiel est développée dans l'article de Leprête et al 2022, alors que le nouvel indice, nommé l'IBR-T (*i.e.* Integrated Biomarker Responses – Threshold) est présenté dans l'article de Catteau et al (2023).

Dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE, une démarche d'optimisation des échantillons a été menée en analysant un maximum de biomarqueurs sur différentes espèces. A titre d'exemple, ici chez la dreissène, une dizaine de biomarqueurs supplémentaires à ceux ciblés dans le projet BIOSURVEILLANCE ont pu être analysés (**Tableau 6**), permettant non seulement de compléter le nombre de marqueurs de la fonction d'immunité, mais également de considérer d'autres fonctions telles que celles liées au métabolisme énergétique.

Dans la **Figure 12**, sont présentés les IBR-T mesurés chez les dreissènes exposées durant 3 semaines aux différents sites en 2020 et 2021. Les IBR-T ont été classés par ordre décroissant, soulignant ainsi pour chaque campagne la/les site(s) présentant un impact le plus important sur les organismes. Il est intéressant de noter un gradient entre les sites plus marqué sur la campagne de 2020 et un niveau des effets plus élevé sur la campagne de 2021. En complément d'une valeur globale de l'indice permettant une comparaison des sites entre eux mais également entre campagne, il est possible de présenter les résultats sous une forme graphique (radar) permettant d'identifier les biomarqueurs les plus modulés et ainsi les plus contributifs à la valeur finale de l'indice. Cette présentation des résultats peut permettre une interprétation plus fine sur le type d'effet observé (*e.g.* immunotoxicité, génotoxicité) et ainsi accompagner les gestionnaires sur les causes possibles de cette perturbation. A titre d'exemple, la **Figure 13** souligne que si la capacité digestive des dreissènes (*i.e.* amylase)



est modulée aussi bien en 2020 qu'en 2021, la campagne 2021 souligne un effet génotoxique et immunotoxique non observé en 2020 (cf **annexe 4** pour consulter les résultats sur toutes les stations).

**Tableau 6. Liste des biomarqueurs complémentaires analysés chez la dreissène durant les deux campagnes BIOSURVEILLANCE**

Physiological function	Biomarkers	Abbreviation	Organs	Unit	References
Energy metabolism	Amylase	Amy	Digestive gland	UI/g prot	IFCC 1998/2
	Lactate deshydrogenase	LDH	Digestive gland	UI/g prot	IFCC 1994
	Acid phosphatase	AP	Digestive gland	UI/g prot	Babson et al. (1959)
	Lipase	Lip	Digestive gland	UI/g prot	Junge et al. (1999)
	Alanine aminotransferase	ALAT	Digestive gland	UI/g prot	IFCC 2002/5
	Aspartame aminotransferase	ASAT	Digestive gland	UI/g prot	IFCC 2002/6
	Electron transport system activity	ETS	Total body	mJ/mg/h	De Coen and Janssen (1997)
	Cellular energy allocation	CEA	Total body	UA	Verslycke et al. (2003)
Immunity	Phagocytic capacity	Ph.cap	Haemolymph	%	Barjhoux et al. (2020)
	Phagocytic avidity	Ph.av	Haemolymph	Number of bead/cell	Barjhoux et al. (2020)
	Phenoloxidase	PO	Digestive gland	nmol/min/mg	Le Bris et al. (2015)
Genotoxicity	DNA damages (comet assay)	Tail DNA	Haemolymph	% Tail DNA	Singh et al., 1988
Detoxication	Carboxylesterase	CE	Gills	nmol/min/mg	Ljungquist and Augustinsson (1971)
	Glutathione-S-transferase	GST	Digestive gland	nmol/min/mg	Habig et al. (1974)

ID	Station Biosurveillance	Dreissènes	
		2020	2021
SE1	La Vieille Seine à Melz-sur-Seine	0,753	1,405
SE2	L'Yonne à Pont-sur-Yonne	0,502	1,409
SE3	L'Aisne à Soissons	0,796	1,345
SE4	L'oïse à Verberie	0,554	/
SE5	La Marne à Jaulgonne	/	1,548
SE6	La Seine à Fontaine-le-Port	0,878	1,193
SE7	La Seine à Triel	0,66	1,552
SE8	L'Eure à Martot - Les Damps	1,138	1,512
SE9	La Seine à Petit-Couronne	0,798	1,287
SE10	La Seine à Tancarville		
SE11	Large du Havre		
SE12	Antifer		
TO1	La Rivière Morte à la Touques	1,559	/
TO2	La Touques à Saint-Martin-aux-Chartrains	/	1,161
OR1	L'Orne à Louvigny	0,585	1,552
OR2	L'Orne à Caen	0,488	1,529
OR3	L'Orne au port de Ouistreham		
OR4	L'Orne au club de voile de Merville-Franceville		
OR5	Large de Luc-sur-Mer		
VI1	La Vire à La Meauffe	0,785	1,311
VI2	La Vire au canal de Carentan		

**Figure 12. Valeur des indices IBR-T obtenus chez la dreissènes au cours des deux campagnes de biosurveillance (l'absence de valeur indique l'absence d'échantillon)**

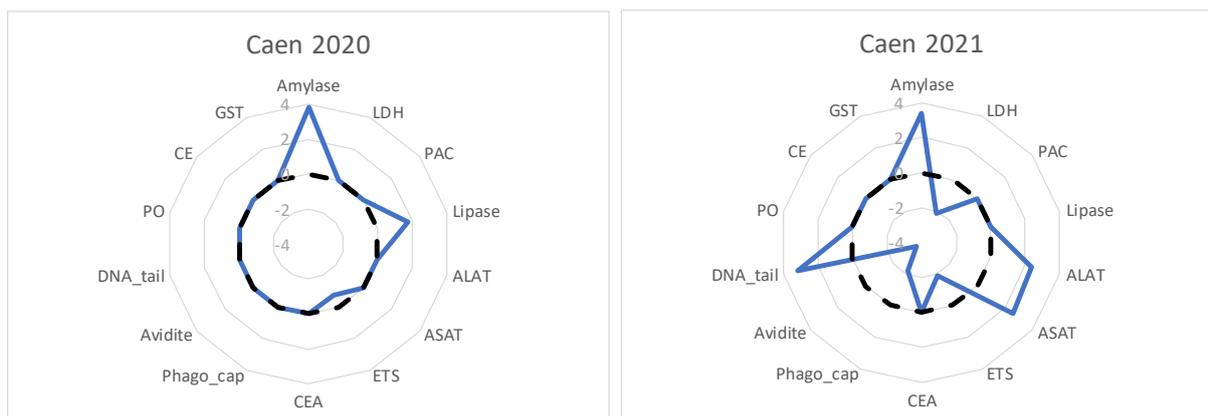


Figure 13. Représentations en radar présentant le positionnement de chaque biomarqueur mesuré par rapport à la référence (0). Plus la ligne bleue est décalée de la référence en pointillé et plus la réponse est élevée.

## 2 Les perspectives offertes par les nouvelles approches d'écotoxicoprotéomique

Motivant l'effort d'harmonisation méthodologique mené lors du projet SASHIMI en amont du projet BIOSURVEILLANCE, différentes limites techniques contraignent en effet l'utilisation des biomarqueurs moléculaires en routine pour le diagnostic environnemental. On peut notamment pointer que le recours quasi systématique à des méthodes de quantification indirecte contrait la reproductibilité dans le temps et la comparaison des données biomarqueurs entre études, se traduisant en particulier par des unités de mesures arbitraires ou dépendantes de chaque protocole ou laboratoire. Récemment, les progrès technologiques en spectrométrie de masse ont fait émerger dans le domaine de l'analyse biomédicale des méthodes de dosage hautement multiplexé de biomarqueurs protéiques (*i.e.* protéomique ciblée de type MRM, Multiple Reaction Monitoring). En écotoxicologie, des premières études pilotes considérant la mesure simultanée de plusieurs dizaines de biomarqueurs permettant de couvrir une diversité de fonctions biologiques ont été réalisées chez *Gammarus fossarum* (biosurveillance active sur le bassin du Rhône) (Gouveia et al 2017, Faugère et al 2020). Parallèlement au projet BIOSURVEILLANCE, une action OFB portée par INRAE Lyon (Espeyte et al 2023) a réuni un réseau de laboratoires nationaux (majoritairement recouvrant avec celui des partenaires du projet BIOSURVEILLANCE), avec pour objectif de tester et d'adapter cette approche qui couple ressources transcriptomiques (RNAseq), protéogénomique (Shotgun) et protéomique ciblée (MRM) (**Figure 14**), à 6 espèces proposées comme sentinelles en biosurveillance : gammare, crevette bouquet, crevette blanche, dreissène, moule quagga, épinoche. L'étude a permis de définir et de tester une stratégie unifiée de développement de biomarqueurs protéiques permettant de disposer à terme d'outils comparables entre taxons pour intégrer la diversité de la sensibilité des espèces dans le diagnostic des milieux aquatiques le long du continuum eaux-douces, eaux de transition et eaux marines. L'ensemble des résultats détaillés de cette action sont disponibles dans le rapport Espeyte et al (2023).

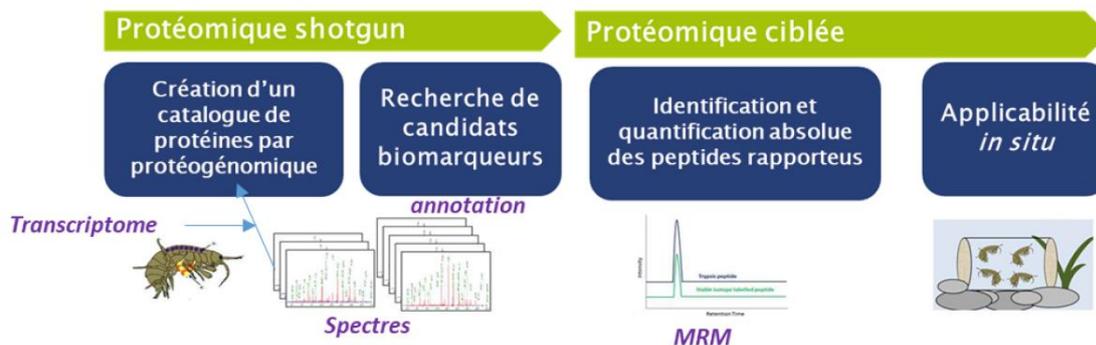


Figure 14. Démarche générale en deux étapes, proposée pour le développement de biomarqueurs protéiques en écotoxicologie ; couplage des approches de protéomique massive de découverte (*i.e.* shotgun) et protéomique ciblée (adapté de Gouveia et al 2019).

En résumé, pour cette démonstration, 3 fonctions biologiques (osmorégulation, immunité et détoxification) ont été ciblées via l'identification de peptides rapporteurs de celles-ci dans différents organes cibles (*i.e.* branchies, sang-hémolymphe, foie-hépatopancréas-glande digestive, respectivement). Pour cela, des catalogues protéiques de ces 3 organes ont été établis expérimentalement par protéogénomique chez 3 des espèces d'invertébrés (une par genre) et à partir de la littérature pour le poisson. Ces catalogues ont été "extrapolés" au sein de chaque genre aux deux autres espèces de crevettes (espèce estuarienne) et de moules (quagga) en nous appuyant sur des données RNAseq acquises spécifiquement pour les populations d'étude afin d'ajuster les séquences peptidiques exactes à rechercher. Pour une dizaine de protéines d'intérêt pour chacun des couples espèces-fonction-organe, entre 5 et 10 peptides rapporteurs par protéine ont été recherchés par spectrométrie de masse ciblée (dMRM). Nous avons constaté un succès de détection de l'ordre de 50 % des peptides, ce qui garantit de pouvoir suivre la grande majorité des protéines candidates (> 80 %) (**Tableau 7**). L'exercice de démonstration mené ici sur des espèces de 3 taxons très différents, sur des matrices biologiques de différentes natures (*i.e.* 3 types d'organes) a montré que la stratégie proposée par Gouveia et al (2019) (**Figure 14**) est clairement applicable à n'importe quelle espèce sentinelle. L'investissement nécessaire dans l'acquisition d'un RNAseq sur la population de référence et l'acquisition de données protéogénomiques est aujourd'hui très faible (*i.e.* de l'ordre de quelques k€) et accessible à n'importe quel laboratoire (en prestation notamment sur des plateformes nationales). L'exercice de transfert entre espèces d'un même genre réalisé ici chez les *Palaemon* et *Dreissena*, a par ailleurs montré la possibilité de développer des méthodes communes aux espèces (*i.e.* existence de peptides rapporteurs communs) qui peuvent avoir un intérêt dans le cadre d'études qui s'appuient sur la complémentarité des espèces entre zones géographiques ou type de milieux à investiguer (*e.g.* suivi de *continuum* eaux douces, marines) comme pour le projet BIOSURVEILLANCE. La démonstration est venue souligner tout l'intérêt de ce nouveau type de biomarqueurs protéiques dans notre capacité à développer des indicateurs multi-espèces plus intégrateurs de la pression chimique toxique au sein des écosystèmes (Catteau et al 2022) car pouvant se baser alors sur des données comparables entre les espèces choisies comme sentinelles de la biodiversité qu'ils abritent.

**Tableau 7. Bilan des résultats pour les 18 couples organes-espèces, de l'identification des peptides potentiels biomarqueurs de l'osmorégulation sur branchies, de l'immunité sur hémolymphe-sang, et de la détoxification sur hépatopancréas-caecum-foie-glande digestive**

		Identifiés avec forte confiance	Identification à confirmer	Non détectés	Total de peptides cherchés	
<i>Palaemon serratus</i>	Branchie	15	15	24	54	229
	Hémolymphe	20	27	46	93	
	Hépatopancréas	23	11	48	82	
<i>Palaemon longirostris</i>	Branchie	6	8	35	49	176
	Hémolymphe	1	12	40	53	
	Hépatopancréas	19	9	46	74	
<i>Dreissena polymorpha</i>	Branchie	27	18	17	63	216
	Hémolymphe	13	40	30	83	
	Glande Digestive	33	21	16	70	
<i>Dreissena r. bugensis</i>	Branchie	19	12	27	58	162
	Hémolymphe	8	7	22	37	
	Glande Digestive	34	13	20	67	
<i>Gammarus fossarum</i>	Branchie	8	8	9	25	176
	Hémolymphe	31	7	14	52	
	Caecum	48	31	20	99	
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Branchie	16	11	5	32	70
	Sang	3	5	4	12	
	Foie	8	12	6	26	

Cette action OFB a également permis d'avancer vers l'opérationnalité de ces outils, en développer une capacité d'acquisition haut-débit et automatisée de données biomarqueurs protéiques au sein de l'équipe écotoxicologie d'INRAE Lyon (*i.e.* automatisation de la préparation des échantillons, analyse par HPLC-MS/MS). Celle-ci nous a permis de démontrer chez le gammare que l'acquisition de ce type de données biomarqueurs peut répondre à des exigences de reproductibilité, d'inter-comparabilité des données produites (quantification directe) et permettre notamment la définition de valeurs de référence. Sur un jeu d'échantillons correspondant à des mâles engagés une semaine lors de deux campagnes d'encagement *in situ* sur une soixantaine de stations distribuées à l'échelle nationale, nous avons quantifié les valeurs de 38 biomarqueurs sur 325 échantillons individuels de gammares mâles en moins de 2 mois d'analyse. Comme en analyse médicale, ces mesures multiplexées correspondent à des concentrations en peptides, ici rapporteurs de différentes grandes fonctions biologiques, et quantifiées chez le gammare de manière directe et en une seule analyse (par ajout dosé de standards marqués). Nous avons conclu à l'absence d'effet campagne et d'effet série. Ceci a abouti à la possibilité de définir des niveaux de référence et des seuils d'induction ou d'inhibition pour 25 biomarqueurs protéiques au regard de la diversité des stations du réseau de surveillance nationale des Agences de l'eau (**Figure 15** ; Leprêtre et al 2022). Les seuils ainsi définis offrent la possibilité de comparer ces données biologiques collectées sur une multitude de sites environnementaux et de dates d'échantillonnage. Les résultats des campagnes de déploiement national menées dans cette étude lors d'encagements de gammares sur les réseaux de suivi a montré la possibilité de discriminer une part significative des stations du réseau au regard d'induction et/ou d'inhibition de ces biomarqueurs protéiques. Le travail d'intégration d'indicateurs multi-marqueurs discuté dans la section précédente prend alors tout son sens, dans l'idée de proposer des indicateurs rendant compte de la gravité de l'impact écotoxicologique de la contamination et/ou de profils diversifiés de la toxicité s'exerçant au sein des milieux aquatiques.

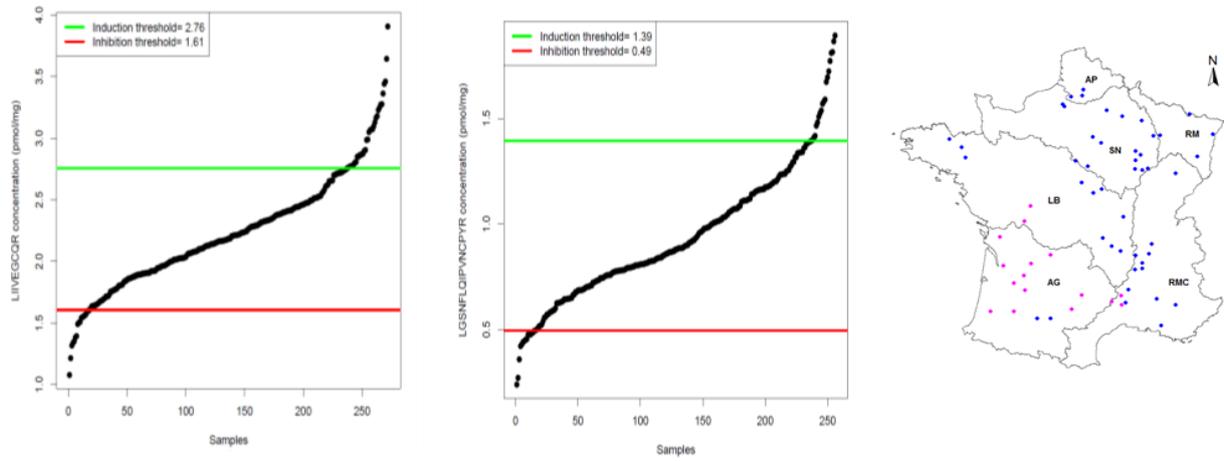


Figure 15. Biomarqueurs protéiques chez le gammare (*i.e.* mâles engagés 7j : 5 individus sur 60 sites): exemples de 2 profils de concentrations peptidiques individuelles obtenus pour des peptides rapporteurs de la catalase et d'une pompe ionique

## CHAPITRE 4 – LES BIOMARQUEURS POUR ETABLIR L'ETAT ECOTOXICOLOGIQUE DES MASSES D'EAU – REGARDS CROISES ENTRE RECHERCHE ET GESTION

Les résultats du projet BIOSURVEILLANCE ont été présentés lors d'une journée dédiée (29 novembre 2022, Rouen ; cf. <https://www.seine-aval.fr/restitution-biosurveillance/>), réunissant scientifiques et gestionnaires. Cette journée a également permis de présenter des retours d'expériences complémentaires pour alimenter des échanges sur les perspectives d'utilisation de ces biomarqueurs dans le cadre d'un suivi pérenne des masses d'eaux côtières, de transition et continentales.

Le principal acquis du pilote de déploiement réalisé dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE est la démonstration de la faisabilité d'un tel suivi et l'intérêt de l'apport des biomarqueurs dans une stratégie de surveillance du *continuum*. Le dispositif développé autour *i)* de la complémentarité entre espèces et groupes zoologiques, *ii)* d'une approche terre-mer tant sur l'axe Seine que sur les petits fleuves côtiers, et *iii)* d'une interprétation sur la base de référentiels et de grilles d'évaluation, a répondu aux attentes des gestionnaires. Le succès de ces travaux est dû en partie au dialogue entre les acteurs opérationnels et les scientifiques, ayant permis de co-construire un projet au plus proche des problématiques de gestion, en s'appuyant sur les derniers développements scientifiques sur l'interprétation des réponses mesurées. Le GIP Seine Aval, de par son positionnement à l'interface sciences-gestion, a tenu un rôle central, dans le maintien et l'efficacité de cette connexion.

Ces résultats soulèvent de nouvelles questions et ouvrent vers des perspectives pour de futurs travaux. Le périmètre de cette preuve de concept reste « limité », avec seulement 26 stations, ne retranscrivant pas toute la diversité des hydro-écorégions et des pressions susceptibles de s'y exercer. Malgré l'effort de développement et d'harmonisation méthodologique produit en amont dans le cadre du projet SASHIMI soutenu par l'OFB, les référentiels et grilles d'interprétations restent à consolider pour plusieurs couples biomarqueurs/espèces. Il est nécessaire de développer des méthodes pour mieux comparer et considérer les différences de réponses entre les espèces sentinelles. Par ailleurs, la démonstration a été faite, ici, autour de l'application de la quantification des dommages à l'ADN et de la mesure de l'activité de phagocytose et pourrait être étendue à d'autres réponses biologiques judicieusement choisies (cf. projet B&B<sup>14</sup> ; recommandations CIEM<sup>15</sup>, Davies et Vethaak, 2012). Par conséquent, la mobilisation d'une batterie de réponses biologiques nécessitera de fait de se questionner et de faire évoluer les méthodes d'intégration existantes. Il conviendra notamment de pondérer chaque fonction au regard de l'impact retranscrit au niveau individuel voir populationnel. Ainsi, l'interprétation des réponses biologiques devra, *de facto*, prendre en compte les conséquences à court, moyen ou long terme selon les niveaux de sensibilités des espèces. Enfin, il apparaît essentiel de définir comment mobiliser les réponses des biomarqueurs pour mieux comprendre la relation entre une exposition à des contaminants multiples et la structure des communautés vivantes, dans une approche intégrée de surveillance.

<sup>14</sup> Projet « Biomarqueurs & Biodiversité » - Office Français de la Biodiversité - AMI 2017. [Base de données finale.](#)

<sup>15</sup> Conseil International pour l'Exploration de la Mer.

L'acquisition de grandes séries de données (*i.e.* réponses de biomarqueurs dans divers contextes pour consolider les référentiels d'interprétation) ressort comme une étape indispensable pour sortir les tendances et confronter la robustesse des développements, dans le cadre d'une recherche prénormative. Dès lors, se pose la question du format à donner aux futurs dispositifs de déploiement. Quelles conditions d'acquisition doivent être arrêtées pour assurer une continuité dans les données ? (*e.g.* quelles stratégies de déploiement, passif et/ou actif ? quelles espèces sentinelles ? quelles mesures ? quelle bancarisation ?) Quelles priorités doivent être données pour la sélection des stations suivies ? à quelle fréquence ? sur quelle période de temps ? avec quel budget ? Il peut être rappelé, ici, que la surveillance sans *a priori* n'est pas le seul cadre d'application de l'approche « Biomarqueurs ». Les outils basés sur la mesure d'effet biologique suscitent tout autant d'intérêt pour les études d'impact (*e.g.* accidents industriels, aménagements en tout genre, effluents, crues et orages), les contrôles d'enquête suite à la remontée d'un constat (*e.g.* état écologique dégradé, non expliqué par l'état chimique) ou encore l'appréciation de l'efficacité de mesures de gestion mises en place. Une des pistes de travail pourrait être de soutenir la recherche prénormative autour de quelques outils d'intérêts pour en ressortir des méthodologies robustes et standardisées (*e.g.* Projet ICON<sup>16</sup>, Hylland *et al.*, 2017). Ces outils pourraient être mobilisés, dans un premier temps, dans le cadre de démarches assez modulables, en complémentarité avec les approches réglementaires actuelles, autour de problématiques identifiées par les gestionnaires.

Les instituts de recherche et les laboratoires universitaires pourront assurer difficilement des suivis à très larges échelles, et n'ont pas vocation à appliquer en routine des protocoles standardisés. Le transfert méthodologique vers la sphère opérationnelle doit donc être envisagé très sérieusement. Pour autant, le maintien d'une porosité entre acteurs opérationnels et scientifiques apparaît indispensable pour formuler des retours critiques sur les données, et relever les enjeux et les verrous déjà identifiés ou à venir. En retour, l'acquisition de grands jeux de données permettra *i)* d'optimiser les méthodologies de déploiement et d'analyse, *ii)* de consolider les valeurs de base et les seuils pour les couples espèces biomarqueurs, et *iii)* de suivre les évolutions de l'état du milieu. L'interaction entre la société BIOMAE et l'INRAE autour de l'engagement des gammars, est une très belle illustration de ce concept (*cf.* présentation de la journée de séminaire, [ici](#)). BIOMAE a réalisé plus de 3 000 engagements sur plus de 700 stations depuis 2018, pour un total de plus 7 000 postes d'analyses (*i.e.* imprégnation chimique et réponses biologiques). La masse de données ainsi accumulée permet aux chercheurs d'aborder des problématiques scientifiques auxquelles ils n'auraient initialement pas pu accéder, en repoussant les limites logistiques et en accédant à des jeux de données complémentaires acquis dans les réseaux de suivis pérennes pour tenter de lier différents indicateurs (*e.g.* lien entre les réponses biologiques et des données chimiques ou des indices écologiques ; Alric *et al.*, 2019).

La viabilité du transfert vers la sphère opérationnelle dépendant toutefois de la levée de freins réglementaires et politiques qui conditionnent la reconnaissance des outils basés sur les effets biologiques et la création d'une filière économique. Selon l'Office Français de la Biodiversité, la reconnaissance de ces outils par les instances européennes et nationales passera obligatoirement par la production de méthodes standardisées et robustes retrans-

---

<sup>16</sup> Integrated assessment of COntaminant impact on the North sea – Groupe de travail international pour la surveillance intégrée des contaminants marins, englobant différentes matrices (sédiments, et biote), différentes zones géographiques (Islande, mer du Nord, Baltique, mer des Wadden, estuaire de la Seine et Méditerranée occidentale) et différents paramètres (analyses chimiques et effets biologiques).

crites au sein de guides méthodologiques, voire de normes d'application. Parallèlement, la prise en compte de ces outils dans la réglementation est un levier quasi essentiel à la création d'un marché dont les bureaux d'études pourront se saisir. A titre d'exemple, ici encore, la réussite de la société BIOMAE découle en partie *i)* de l'effort de ces dirigeants pour mener les outils proposés jusqu'à la normalisation (*i.e.* NF T90 721<sup>17</sup> et XP T90-722 Part 1, 2, 3<sup>18</sup>), et *ii)* de la mise en place de directive fille 2013/39/UE qui a permis de stabiliser la demande, en règlementant les dosages chimiques dans le biote. Pour autant, la perspective d'une obligation réglementaire peut générer un frein politique vis-à-vis de nouveaux indicateurs susceptibles d'être trop sévères et implique la réalisation de nouvelles études pour évaluer les conséquences de l'ajout de ces derniers dans l'évaluation de l'état du milieu. Cette dernière considération ne doit pas être sous-estimée par les scientifiques lors de l'élaboration des grilles de lecture qui se doivent obligatoirement d'être discriminantes pour aider à diagnostiquer les problèmes et à les résoudre.

En définitive, les outils basés sur la mesure d'effets biologiques peuvent avoir leur place dans l'évaluation de l'état des masses d'eau pour la DCE (état des lieux et programme de surveillance), à l'instar des paramètres écotoxicologiques suivis pour la DCSMM (Dispositif SELI en baies de Seine et de Loire-Vilaine) et les conventions des mers régionales (*cf.* Oskar QSR). Ces mesures se placeraient alors à la croisée des évaluations de l'état chimique et écologique. Une des finalités à viser serait sans doute la mise en place de dispositifs gradués au sein desquels les mesures d'effets biologiques pourraient être mises en regard de l'état écologique, dans une démarche de priorisation des masses d'eau, avant de déployer des approches plus exhaustives (*e.g.* dosages chimiques) visant à caractériser plus précisément les causes de dégradations de la qualité de l'eau. En s'appuyant sur des effets individuels ou sub-individuels, de tels dispositifs pourraient permettre d'anticiper des effets au niveau populationnel et enclencher la mise en place de mesures de prévention plutôt que des actions curatives.

---

<sup>17</sup> Norme Afnor XP T90 721 - Qualité de l'eau - Encagement in situ de gammare pour la mesure de la bioaccumulation de substances chimiques.

<sup>18</sup> Norme Afnor XP T90 722 - Qualité de l'eau - Mesures moléculaires, physiologiques et comportementales chez le gammare (crustacé amphipode). Partie 1 : dosage de l'activité enzymatique acétylcholinestérase (AChE). Partie 2 : mesure de marqueurs de reproduction. Partie 3 : mesure du taux d'alimentation.

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

<i>Figure 1. Positionnement des 27 stations suivies dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE, sur le district Seine-Normandie.</i>	13
<i>Figure 2. Espèces mobilisées dans le cadre du projet SASHIMI et leur capacité de couverture des différentes masses d'eau.</i>	15
<i>Figure 3. Portail d'accès de l'observatoire de l'axe Seine (<a href="https://www.phresques.fr/">https://www.phresques.fr/</a>).</i>	17
<i>Figure 4. Répartition des niveaux des effets génotoxiques et immunotoxiques, cumulés sur l'ensemble des espèces durant les campagnes 2020 et 2021, sur la globalité des encagements ou par type de masses d'eau.</i>	20
<i>Figure 5. Répartition des niveaux d'effets observés en 2020 et 2021, globalement et par type de réponse (i.e. génotoxique et immunotoxique), cumulée sur l'ensemble des espèces.</i>	21
<i>Figure 6. Répartition des niveaux d'effets observés en 2020 et 2021, par type de réponse (i.e. génotoxique et immunotoxique), observés chez les mollusques bivalves et les crustacés, cumulés sur les 26 stations où les 2 groupes ont été co-encagés.</i>	23
<i>Figure 7. Répartition des niveaux d'effets observés en 2020 et 2021, par type de réponse (i.e. génotoxique et immunotoxique), observés chez les mollusques bivalves, les crustacés et les poissons, cumulés sur les 8 stations où les 3 groupes ont été co-encagés.</i>	23
<i>Figure 8. « État génotoxique » et « état immunotoxique » obtenus après intégration des niveaux d'effet mesurés par espèce selon la méthode « one out, all out », pour les différentes stations étudiées en 2020 et 2021, en regard de l'« état chimique » et l'« état écologie » du suivi de la Directive Cadre sur l'Eau.</i>	24
<i>Figure 9. Exemple de carte consultable sur le site internet de l'Observatoire de l'axe Seine. Ici, la carte des dommages génotoxiques mesurés en 2021, avec un focus sur la station du port d'Antifer (SE12).</i>	25
<i>Figure 10. Niveaux de dommages à l'ADN mesurés sur deux stations de co-encagement, (A) la station de Petit Couronne (SE9) chez <i>Gammarus fossarum</i>, <i>Palaemon longirostris</i>, <i>Dreissena polymorpha</i>, <i>Gasterosteus aculeatus</i> et <i>Platichthys flesus</i>, et (B) la station du port d'Antifer (SE12) chez <i>Palaemon serratus</i>, <i>Mytilus edulis</i> et <i>Platichthys flesus</i>.</i>	26
<i>Figure 11. Niveaux de dommages à l'ADN mesurés (A) sur spermatozoïdes chez les crustacés (<i>Gammarus fossarum</i>, <i>Palaemon longirostris</i> et <i>P. serratus</i>) et (B) sur hémocytes chez les mollusques bivalves (<i>Dreissena polymorpha</i> et <i>Mytilus edulis</i>), le long du continuum Seine.</i>	26
<i>Figure 12. Valeur des indices IBR-T obtenus chez la dreissène au cours des deux campagnes de biosurveillance (l'absence de valeur indique l'absence d'échantillon)</i>	28
<i>Figure 13. Représentations en radar présentant le positionnement de chaque biomarqueur mesuré par rapport à la référence (0). Plus la ligne bleue est décalée de la référence en pointillé et plus la réponse est élevée.</i>	29
<i>Figure 14. Démarche générale en deux étapes, proposée pour le développement de biomarqueurs protéiques en écotoxicologie ; couplage des approches de protéomique massive de découverte (i.e. shotgun) et protéomique ciblée (adapté de Gouveia et al 2019).</i>	30
<i>Figure 15. Biomarqueurs protéiques chez le gammare (i.e. mâles encagés 7j : 5 individus sur 60 sites): exemples de 2 profils de concentrations peptidiques individuelles obtenus pour des peptides rapporteurs de la catalase et d'une pompe ionique</i>	32
<i>Tableau 1. Synthèse des prérequis méthodologiques essentiels au déploiement opérationnel de la stratégie développée dans le cadre du projet SASHIMI (d'après Xuereb et al., 2022 a,b).</i>	11
<i>Tableau 2. Détails des stations suivies dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE, leur localisation respective et les réseaux de mesures existants à proximité.</i>	14
<i>Tableau 3. Distribution des espèces sentinelles sur les différentes stations d'études.</i>	16
<i>Tableau 4. Taux de survie par station d'encagement, observés pour de chacune des espèces durant les campagnes 2020 et 2021.</i>	18



*Tableau 5. Récapitulatif des niveaux d'effets génotoxiques et immunotoxiques, rapportés sur les différentes stations étudiées, pour les trois groupes taxonomiques, à l'issue des campagnes d'encagement 2020 et 2021. 20*

*Tableau 6. Liste des biomarqueurs complémentaires analysés chez la dreissène durant les deux campagnes BIOSURVEILLANCE \_\_\_\_\_ 28*

*Tableau 7. Bilan des résultats pour les 18 couples organes-espèces, de l'identification des peptides potentiels biomarqueurs de l'osmorégulation sur branchies, de l'immunité sur hémolymphe-sang, et de la détoxification sur hépatopancréas-caecum-foie-glande digestive \_\_\_\_\_ 31*

## BIBLIOGRAPHIE

- Alric B, Geffard O, Chandesris A, Ferréol M, François A, Perceval O, Piffady J, Villeneuve B, Chaumot A, 2019. Multisubstance indicators based on caged *Gammarus* bioaccumulation reveal the influence of chemical contamination on stream macroinvertebrate abundances across France. *Environmental Science and Technology* 53: 5906–5915. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01271>
- Besse J-P, Coquery M, Lopes C, Chaumot A, Budzinski H, Labadie P, Geffard O, 2013. Caged *Gammarus fossarum* (Crustacea) as a robust tool for the characterization of bioavailable contamination levels in continental waters: towards the determination of threshold values. *Water research*, 47: 650-660. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.10.024>
- Beyer J, Petersen K, Song Y, Ruus A, Grung M, Bakke T, Tollefsen KE, 2014. Environmental risk assessment of combined effects in aquatic ecotoxicology: a discussion paper. *Marine Environmental Research* 96: 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2013.10.008>
- Bourgeault A, Gourlay-Francé C, Vincent-Hubert F, Palais F, Geffard A, Biagianti-Risbourg S, Pain-Devin S, Tusseau-Villemin M H, 2010. Lessons from a transplantation of zebra mussels in a small urban river: An integrated ecotoxicological assessment. *Environmental Toxicology*, 25: 468-478. <https://doi.org/10.1002/tox.20591>
- Catteau A, Le Guernic A, Palos-Ladeiro M, Dedourge-Geffard O, Bonnard M, Bonnard I, Delahaut L, Bado-Nilles A, Porcher J-M, Lopes C, Geffard O, Geffard A, 2023. Integrative biomarker response-Threshold (IBR-T): Refinement of IBRv2 to consider the reference and threshold values of biomarkers. *Journal of Environmental Management*, 341: 118049 <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118049>
- Catteau A, Porcher J-M, Bado-Nilles A, Bonnard I, Bonnard M, Chaumot A, David E, Dedourge-Geffard O, Delahaut L, Delorme N, François A, Garnero L, Lopes C, Nott K, Noury P, Palluel O, Palos-Ladeiro M, Quéau H, Ronkart S, Sossey-Alaoui K, Turiès C, Tychon B, Geffard O, Geffard A., 2022. Interest of a multispecies approach in active biomonitoring: application in the Meuse watershed. *Science of The Total Environment*, 808: 152148. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152148>
- Charron L, Geffard O, Chaumot A, Coulaud R, Jaffal A, Gaillet V, Dedourge-Geffard O, Geffard A, 2014. Influence of molting and starvation on digestive enzyme activities and energy storage in *Gammarus fossarum*. *PLoS one*, 9: e96393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096393>
- Chaumot A, Perceval O, Recoura-Massaquant R, Degli Esposti D, Olivier G, 2021. Des bioessais écotoxicologiques *in situ* pour évaluer les impacts biologiques de la contamination chimique des cours d'eau nationaux : l'expérience du gammare. *Sciences Eaux & Territoires*, 37 : 88-91. <https://doi.org/10.14758/SET-REVUE.2021.4.16>
- Ciliberti A, Chaumot A, Recoura-Massaquant R, Chandesris A, François A, Coquery M, Ferréol M, Geffard O, 2017. Caged *Gammarus* as biomonitors identifying thresholds of toxic metal bioavailability that affect gammarid densities at the French national scale. *Water Research*, 118: 131-140. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.031>
- Claxton L D, Houk V S, Hughes T J, 1998. Genotoxicity of Industrial Wastes and Effluents. *Mutation Research*, 410: 237–243. [https://doi.org/10.1016/S1383-5742\(98\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S1383-5742(98)00008-8)
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.035>

- Davies I M. & Vethaak A D (Eds.), 2012. Integrated marine environmental monitoring and their effects. (ICES Cooperative Research report; No. 315). ICES: Copenhagen. ISBN 978-87-7482-120-5. 277 pp..
- Erraud A, Bonnard M, Chaumot A, Geffard O, Dufлот A, Forget-Leray J, Le Foll F, Geffard A, Xuereb B, 2018a. Use of the sperm DNA integrity as a marker for exposure to contamination in *Palaemon serratus* (Pennant 1777): intrinsic variability, baseline level and in situ deployment. *Water Research*, 132: 124-134. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.057>
- Espeyte A, Degli Esposti D, Leprêtre M, Detante H, Sugier K, et al., 2023. Protéomique ciblée pour la quantification multiplexée de biomarqueurs, perspectives pour la surveillance environnementale : Application d'une stratégie généralisable entre espèces pour l'identification de protéines d'intérêt en biosurveillance. INRAE RiverLy. Rapport scientifique, 19 p. [https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/Biosurveillance\\_OP/OFB\\_2019-2022\\_Action4\\_biomarqueurs\\_prot%C3%A9omiques\\_rapport\\_%C3%A9tape\\_2020.pdf](https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/Biosurveillance_OP/OFB_2019-2022_Action4_biomarqueurs_prot%C3%A9omiques_rapport_%C3%A9tape_2020.pdf)
- Faugere J, Gouveia D, Aycirix S, Chaumot A, Almunia C, François A, Armengaud J, Lemoine J, Geffard O, Degli-Esposti D, Salvador A, 2020. High-multiplexed monitoring of protein biomarkers in the sentinel *Gammarus fossarum* by targeted scout-MRM assay, a new vision for ecotoxicoproteomics. *Journal of Proteomics*, 226: 103901. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103901>
- Geffard O, Alric B, François A, Delorme N, Noury P, Chaumot A, 2019. Lien entre la toxicité, la contamination des milieux aquatiques mesurés chez *Gammarus fossarum* et la perturbation des communautés biologiques - Proposition de valeurs seuils au niveau national pour la mesure de marqueurs de toxicité chez *Gammarus fossarum*. Rapport scientifique, 33 p. [https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/Biosurveillance\\_OP/IRSTEA\\_2018\\_048\\_05.pdf](https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/Biosurveillance_OP/IRSTEA_2018_048_05.pdf)
- Geffard O, Xuereb B, Chaumot A, Geffard A, Biagianti S, Noel C, Abbaci K, Garric J, Charmantier G, Charmantier-Daures M, 2010. Ovarian cycle and embryonic development in *Gammarus fossarum*: application for reproductive toxicity assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29: 2249-2259. <https://doi.org/10.1002/etc.268>
- Gouveia D, Almunia C, Cogne Y, Pible O, Degli-Esposti D, Salvador A, Cristobal S, Sheehan D, Chaumot A, Geffard O & Armengaud J, 2019. Ecotoxicoproteomics: A decade of progress in our understanding of anthropogenic impact on the environment. *Journal of Proteomics*, 198: 66-77. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2018.12.001>
- Gouveia D, Chaumot A, Charnot A, Almunia C, François A, Navarro L, Armengaud J, Salvador A, Geffard O, 2017. Ecotoxicoproteomics for aquatic environmental monitoring: First in situ application of a new proteomics-based multibiomarker assay using caged amphipods. *Environmental Science & Technology*, 51: 13417-13426. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03736>
- Hylland K, Burgeot T, Martinez-Gomez C, Lang T, Robinson GD, Svavarsson J, Thain JE, Dick Vethaak A, Gubbins MJ, 2017. How can we quantify impacts of contaminants in marine ecosystems ? The ICON project. *Marine Environmental Research*, 124: 2-10. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.11.006>
- Jemec A, Drobne D, Tišler T, Sepčić K, 2010. Biochemical biomarkers in environmental studies— lessons learnt from enzymes catalase, glutathione S-transferase and cholinesterase in two crustacean species. *Environmental Science and Pollution Research*, 17, 571-581. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0112-x>
- Kerambrun E, Palos Ladeiro M, Bigot-Clivot A, Dedourge-Geffard O, Dupuis E, Villena I, Aubert D, Geffard A, 2016. Zebra mussel as a new tool to show evidence of freshwater contamination by waterborne *Toxoplasma gondii*. *Journal of Applied Microbiology*, 120: 498-508. <https://doi.org/10.1111/jam.12999>
- Lacaze E, Devaux A, Jubeaux G, Mons R, Gardette M, Bony S, Garric J, Geffard O, 2011. DNA damage in *Gammarus fossarum* sperm as a biomarker of genotoxic pressure: intrinsic variability and

- reference level. *Science of Total Environment*, 409: 3230-3236.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.05.012>
- Le Guernic A, Sanchez W, Palluel O, Bado-Nilles A, Turies C, Chadili E, Cavalié I, Adam-Guillermin C, Porcher J-M, Geffard A, Betoulle S, Gagnaire B, 2016. *In situ* experiments to assess effects of constraints linked to caging on ecotoxicity biomarkers of the three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus* L.). *Fish Physiology and Biochemistry*, 42: 643-657.  
<https://doi.org/10.1007/s10695-015-0166-2>
- Leprêtre M, Geffard A, Palos Ladeiro M, Dedourge-Geffard O, David E, Delahaut L, Isabelle Bonnard, Barjhoux I, Nicolai M, Noury P, Espeyte A, Chaumot A, Degli-Esposti D, Geffard O, Lopes C, 2022. Determination of biomarkers threshold values and illustration of their use for the diagnostic in large-scale freshwater biomonitoring surveys. *Environmental Sciences Europe*, 34: 1-15.  
<https://doi.org/10.1186/s12302-022-00692-2>
- Lopes C, Chaumot A, Xuereb B, Coulaud R, Jubeaux G, Quéau H, François A, Geffard O, 2020. *In situ* reproductive bioassay with caged *Gammarus fossarum* (Crustacea): Part 2 – evaluating the relevance of using a molt cycle temperature-dependent model as reference to assess toxicity in freshwater monitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39: 678-691.  
<https://doi.org/10.1002/etc.4656>
- Marchand A, Tebby C, Beaudouin R, Catteau A, Porcher J-M, Turies C, Bado-Nilles A, 2020. Reliability Evaluation of Biomarker Reference Ranges for Mesocosm and Field Conditions: Cellular Innate Immunomarkers in *Gasterosteus Aculeatus*. *Science of The Total Environment* 698: 134333.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134333>
- Marchand A, Tebby C, Beaudouin R, Hani Y M, Porcher J-M, Turies C, Bado-Nilles A, 2019. Modelling the effect of season, sex, and body size on the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, cellular innate immunomarkers: A proposition of laboratory reference ranges. *Science of the total environment*, 648: 337-349. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.381>
- Milinkovitch T, Geffard O, Geffard A, Mouneyrac C, Chaumot A, Xuereb B, Fisson C, Minier C, Auffret M, Perceval M, Egea E, Sanchez W, 2019. Biomarkers as tools for monitoring within the Water Framework Directive context: concept, opinions and advancement of expertise. *Environmental Science and Pollution Research*, 26: 32759-32763. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-06434-x>
- Moe SJ, DeSchamphelaere K, Clements WH, Sorensen MT, Van Den Brink PJ, Liess M (2013) Combined an interactive effects of global climate change and toxicants on populations and communities. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32: 49–61. <https://doi.org/10.1002/etc.2045>
- Prygiel E, Billon G, François A, Dumoulin D, Chaumot A, Geffard O, Criquet J, Prygiel, 2016. Active biomonitoring for assessing effects of metal polluted sediment resuspension on gammarid amphipods during fluvial traffic. *Environmental Pollution*, 218: 129-139.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.010>
- Sanchez W, Burgeot T, Porcher J-M, 2013. A novel “Integrated Biomarker Response” calculation based on reference deviation concept. *Environmental Science and Pollution Research*, 20: 2721-2725. <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-012-1359-1>
- Schiedek D, Sundelin B, Readman JW, Macdonald RW, 2007. Interactions between climate change and contaminants. *Marine Pollution Bulletin* 54: 1845–1856.  
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.09.020>
- Wernersson AS, Carere M, Maggi C, Tusil P, Soldan P, James A, Sanchez W, Dulio V, Broeg K, Reifferscheid G, Buchinger S, Maas H, van der Grinten E, O’Toole S, Ausili A, Manfra L, Marziali L, Polesello S, Lacchetti I, Mancini L, Lilja K, Linderoth M, Lundeberg T, Fjällborg B, Porsbring T, Larsson DGJ, Bengtsson-Palme J, Förlin L, Kienle C, Kunz P, Vermeirssen E, Werner I, Robinson CD, Lyons B, Katsiadaki I, Whalley C, den Haan K, Messiaen M, Clayton H, Lettieri T, Carvalho RN, Gawlik BM, Hollert H, di Paolo C, Brack W, Kammann U, Kase R, 2015. The European tech-



nical report on aquatic effect-based monitoring tools under the water framework directive. *Environmental Sciences Europe* 27: 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0039-4>

Xuereb B, Chaumot A, Mons R, Garric J, Geffard O, 2009. Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda). Intrinsic variability, reference levels, and a reliable tool for field surveys. *Aquatic Toxicology*, 93: 225-233. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.05.006>

Xuereb B, Abbaci K, Amara R, Auffret M, Bado-Nilles A, Ben Cheikh Y, Bonnard I, Bonnard M, Burlion M, Chalgmi H, Charle M, Chaumot A, Costil K, Coulaud R, Couteau J, Delahaut L, Dedourge-Geffard O, Diop M, Duflot 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, 2022a. Projet SASHIMI : Surveillance active de l'impact de la pression chimique par des biomarqueurs. Synthèse opérationnelle, 31 p. <https://professionnels.ofb.fr/fr/node/1474>

Xuereb B, Abbaci K, Amara R, Auffret M, Bado-Nilles A, Ben Cheikh Y, Bonnard I, Bonnard M, Burlion M, Chalgmi H, Charle M, Chaumot A, Costil K, Coulaud R, Couteau J, Delahaut L, Dedourge-Geffard O, Diop M, Duflot 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, 2022b. Projet SASHIMI : Surveillance active de l'impact de la pression chimique par des biomarqueurs. Recueil méthodologique, 74 p. <https://professionnels.ofb.fr/fr/node/1474>



## ANNEXES

**Annexe 1. Récapitulatif des dates d'engagements réalisés dans le cadre des 2 campagnes BIOSURVEILLANCE, en 2020 et 2021.**

**Annexe 2. Récapitulatif des niveaux d'effets génotoxiques et immnutoxiques observés sur les différentes stations étudiées, à l'issue des campagnes d'encagement 2020 et 2021, détaillés par espèce.**

**Annexe 3. États DCE 2019 et 2022, des masses d'eau de rattachement des différentes stations étudiées dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE.**

**Annexe 4. Représentations en radar du positionnement de chaque biomarqueur mesuré par rapport à la référence pour les différentes stations.**



## Annexe 1. Récapitulatif des dates d'engagements réalisés dans le cadre des 2 campagnes BIOSURVEILLANCE, en 2020 et 2021.

Tableau S1. Dates des engagements de dreissènes, fausses moules brunes et moules bleues sur les différentes stations étudiées en 2020 et 2021.

ID	Station Biosurveillance	Dreissène				Mytilopsis				Moule bleue			
		2020		2021		2020		2021		2020		2021	
		Dépôt	Relève	Dépôt	Relève	Dépôt	Relève	Dépôt	Relève	Dépôt	Relève	Dépôt	Relève
SE1	La Vieille Seine à Melz-sur-Seine	05/10/2020	26/10/2020	04/10/2021	25/10/2021								
SE2	L'Yonne à Pont-sur-Yonne	05/10/2020	26/10/2020	04/10/2021	25/10/2021								
SE3	L'Aisne à Soissons	08/10/2020	29/10/2020	07/10/2021	28/10/2021								
SE4	L'oise à Verberie	08/10/2020	29/10/2020	07/10/2021	28/10/2021								
SE5	La Marne à Jaulgonne	05/10/2020	26/10/2020	04/10/2021	25/10/2021								
SE6	La Seine à Fontaine-le-Port	05/10/2020	26/10/2020	04/10/2021	25/10/2021								
SE7	La Seine à Triel	08/10/2020	29/10/2020	07/10/2021	28/10/2021								
SE8	L'Eure à Martot - Les Damps	06/10/2020	27/10/2020	05/10/2021	26/10/2021								
SE9	La Seine à Petit-Couronne	06/10/2020	27/10/2020	05/10/2021	26/10/2021								
SE10	La Seine à Tancarville												
SE11	Large du Havre									29/09/2020	12/10/2020	28/09/2021	13/10/2021
SE12	Antifer									28/09/2020	14/10/2020	28/09/2021	11/10/2021
TO1	La Rivière Morte à la Touques	07/10/2020	28/10/2020			07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021				
TO2	La Touques à Saint-Martin-aux-Chartrains			06/10/2021	27/10/2021								
OR1	L'Orne à Louvigny	07/10/2020	28/10/2020	06/10/2021	27/10/2021	07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021				
OR2	L'Orne à Caen	07/10/2020	28/10/2020	06/10/2021	27/10/2021	07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021				
OR3	L'Orne au port de Ouistreham					07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021				
OR4	L'Orne au club de voile de Merville-Franceville					07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021	24/09/2020	08/10/2020	30/09/2021	15/10/2021
OR5	Large de Luc-sur-Mer									29/09/2020	12/10/2020	28/09/2021	12/10/2021
VI1	La Vire à La Meauffe	07/10/2020	28/10/2020	06/10/2021	27/10/2021	07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021				
VI2	La Vire au canal de Carentan					07/10/2020	04/11/2020	28/09/2021	26/10/2021				
VI3	Baie des Veys									30/09/2020	12/10/2020	29/09/2021	12/10/2021
CO1	Saint-Vaast									16/11/2020	30/11/2020	08/11/2021	22/11/2021
CO2	Port Pignot									03/11/2020	15/11/2020	08/11/2021	22/11/2021
CO3	Cherbourg									03/11/2020	16/11/2020	08/11/2021	22/11/2021
CO4	Blainville-sur-Mer									04/11/2020	18/11/2020	04/11/2021	18/11/2021
CO5	Chausey									04/11/2020	18/11/2020	08/11/2021	19/11/2021

Tableau S2. Dates des encagements des gammares, crevettes, épinoches et flets sur les différentes stations étudiées en 2020 et 2021.

ID	Gammare				Crevette				Epinuche				Flet			
	2020		2021		2020		2021		2020		2021		2020		2021	
	Dépôt	Relève														
SE1	05/10/2020	12/10/2020	04/10/2021	11/10/2021												
SE2	05/10/2020	12/10/2020	04/10/2021	11/10/2021												
SE3	08/10/2020	15/10/2020	07/10/2021	14/10/2021												
SE4	08/10/2020	15/10/2020	07/10/2021	14/10/2021					08/10/2020	29/10/2020	07/10/2021	24/11/2021				
SE5	05/10/2020	12/10/2020	04/10/2021	11/10/2021					05/10/2020	26/10/2020	04/10/2021	26/10/2021				
SE6	05/10/2020	12/10/2020	04/10/2021	11/10/2021					05/10/2020	26/10/2020	04/10/2021	26/10/2021				
SE7	08/10/2020	15/10/2020	07/10/2021	14/10/2021					08/10/2020	29/10/2020	07/10/2021	29/10/2021				
SE8	06/10/2020	13/10/2020	05/10/2021	12/10/2021												
SE9	06/10/2020	13/10/2020	05/10/2021	12/10/2021	06/09/2020	20/09/2020	05/10/2021	19/10/2021	06/10/2020	27/10/2020	05/10/2020	27/10/2021	06/10/2020	20/10/2020	05/10/2021	19/10/2021
SE10					06/09/2020	Perdu	04/10/2021	19/10/2021								
SE11					29/09/2020	12/10/2020	28/09/2021	13/10/2021					29/09/2020	12/10/2020	28/09/2021	13/10/2021
SE12					28/09/2020	14/10/2020	28/09/2021	11/10/2021					28/09/2020	13/10/2020	28/09/2021	13/10/2021
TO1	07/10/2020	14/10/2020														
TO2			06/10/2021	13/10/2021												
OR1	07/10/2020	14/10/2020	06/10/2021	13/10/2021												
OR2	07/10/2020	14/10/2020	06/10/2021	13/10/2021												
OR3					07/10/2020	21/10/2020	04/10/2021	18/10/2021								
OR4					24/09/2020	08/10/2020	30/09/2021	15/10/2021								
OR5					29/09/2020	12/10/2020	28/09/2021	12/10/2021					29/09/2020	12/10/2020	28/09/2021	12/10/2021
VI1	07/10/2020	14/10/2020	06/10/2021	13/10/2021												
VI2																
VI3					30/09/2020	12/10/2020	29/09/2021	12/10/2021					30/09/2020	12/10/2020	29/09/2021	12/10/2021
CO1					16/11/2020	30/11/2020	08/11/2021	22/11/2021								
CO2					03/11/2020	15/11/2020	08/11/2021	22/11/2021								
CO3					03/11/2020	16/11/2020	08/11/2021	22/11/2021								
CO4					04/11/2020	18/11/2020	04/11/2021	18/11/2021								
CO5					04/11/2020	18/11/2020	08/11/2021	19/11/2021								

Crevette bouquet  
 Crevette blanche



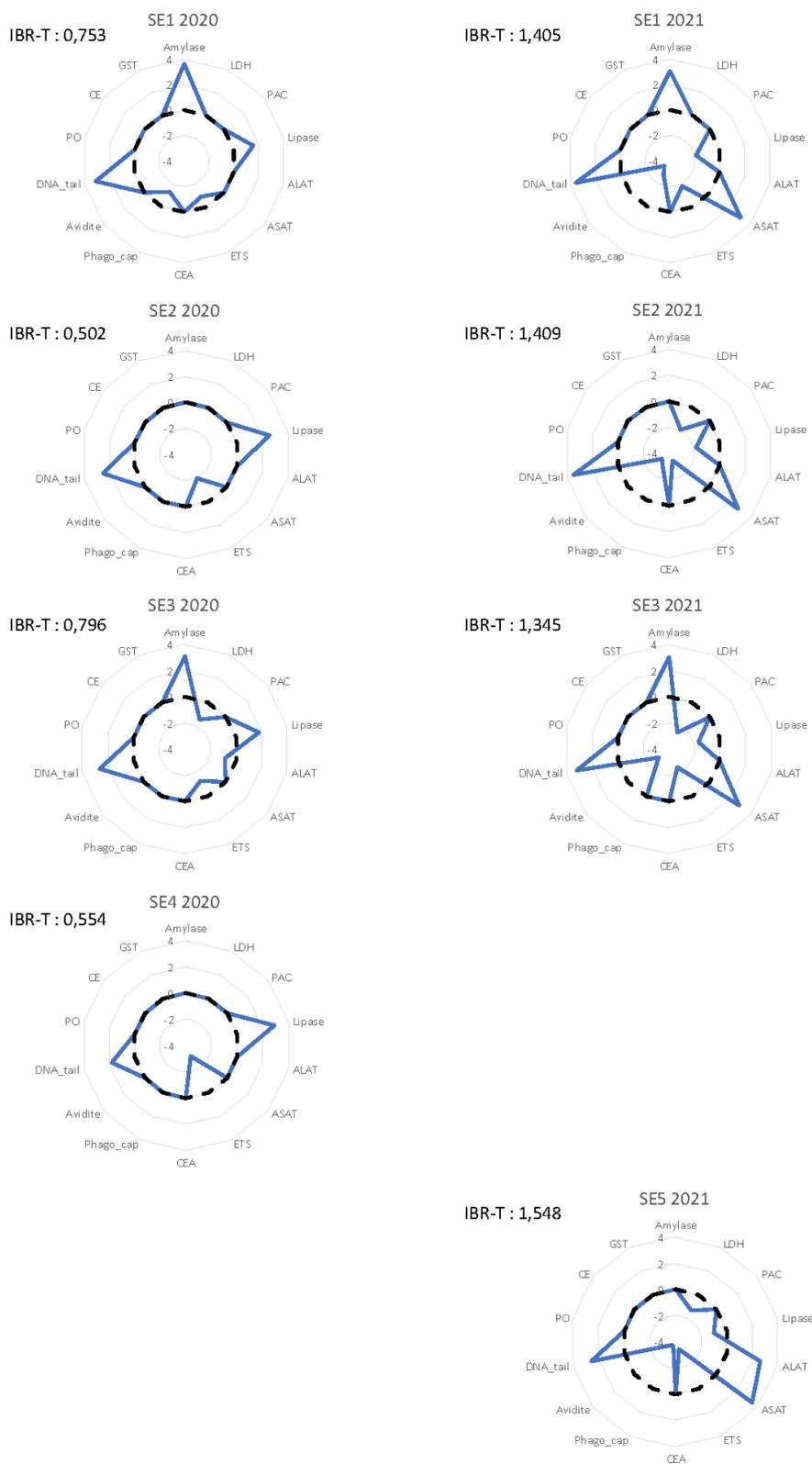


**Annexe 3.- Tableau S4. États DCE 2019 et 2022 (cf. <https://geo.eau-seine-normandie.fr/#/home/MESU>), des masses d'eau de rattachement des différentes stations étudiées dans le cadre du projet BIOSURVEILLANCE.**

ID	Masse d'eau		Etats 2019				Etats 2022			
	Code Européen	Nom	Qualité chimique (avec ubiquestes)	Paramètres déclassants	Qualité écologique	Paramètres déclassants	Qualité chimique (avec ubiquestes)	Paramètres déclassants	Qualité écologique	Paramètres déclassants
SE1	FRHR34-F2150600	Vielle Seine	Bon	NA	Médiocre	I2M2	Bon		Moyen	I2M2
SE2	FRHR70A	L'Yonne du confluent de l'Armançon (exclu) au confluent de la Seine (exclu)	Mauvais	Fluoranthène, benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(g,h,i)peryène	Moyen	IBMR	Mauvais	Sulfonate de perfluorooctane; Benzo(a)pyrène	Bon	NA
SE3	FRHR211	L'Aisne du confluent de la Vesle (exclu) au confluent de l'Oise (exclu)	Mauvais	Fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(g,h,i)peryène	Moyen	IBD, chlortoluron, métaachlore, diflufenicanil	Mauvais	Mercur; Sulfonate de perfluorooctane; Benzo(a)pyrène	Moyen	IBD
SE4	FRHR216C	L'Oise du confluent de l'Aisne (exclu) au confluent du Thérain (exclu)	Mauvais	Benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(g,h,i)peryène	Moyen	Chlortoluron, diflufenicanil	Mauvais	Sulfonate de perfluorooctane; Benzo(a)pyrène	Bon	NA
SE5	FRHR137	La Marne du confluent de la Semoigne (exclu) au confluent de l'Ourq (exclu)	Mauvais	Fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(g,h,i)peryène	Moyen	Metazachlore	Mauvais	Mercur; Sulfonate de perfluorooctane; Benzo(a)pyrène	Bon	NA
SE6	FRHR73A	La Seine du confluent de l'Yonne (exclu) au confluent de l'Essonne (exclu)	Mauvais	Benzo(a)pyrène	Moyen	IPR	Mauvais	Sulfonate de perfluorooctane; Benzo(a)pyrène	Moyen	IBRM
SE7	FRHR230A	La Seine du confluent de l'Oise (exclu) au confluent de la Mauldre (exclu)	Mauvais	Fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(b)fluoranthène, benzo(g,h,i)peryène	Moyen	Phosphore, phosphate, ammonium, dioxyde d'azote, IBD, IBMR, aminotriazole	Mauvais	Sulfonate de perfluorooctane; C10-C13-chloroalcanes; Fluoranthène; Benzo(a)pyrène; Benzo(g,h,i)peryène	Moyen	IBD
SE8	FRHR261	L'Eure du confluent de l'iton (exclu) au confluent de la Seine (exclu)	Mauvais	Fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(g,h,i)peryène	Bon	NA	Bon	NA	Bon	NA
SE9	FRHTD1	Estuaire de Seine amont : Poses	Mauvais	Contaminants chimiques, pesticides, polluants industriels, substances OSPAR	Mauvais	Ichtyofaune	Mauvais	4-Nonylphenol, Aclonifen, Bis(2-Ethylhexyl) Phthalate, Dichlorvos, Heptachlor, Lindane, PAH, Perfluorooctanesulfonate, Tributyltin, Trichlorobenzene	Mauvais	Ichtyofaune
SE10	FRHTD3	Estuaire de Seine Aval	Mauvais	Contaminants chimiques, pesticides, polluants industriels, substances OSPAR	Moyen	Ichtyofaune, nutriments	Mauvais	Heptachlore; HAP; Tributyltin; PCB (52/101/118/138/153)	Moyen	Ichtyofaune / Invertébrés
SE11	FRHTD3	Estuaire de Seine Aval	Mauvais	Contaminants chimiques, pesticides, polluants industriels, substances OSPAR	Moyen	Ichtyofaune, nutriments	Mauvais	Heptachlore; HAP; Tributyltin; PCB (52/101/118/138/153)	Moyen	Ichtyofaune / Invertébrés
SE12	FRHC16	Le Havre - Antifer	Mauvais	Contaminants chimiques, substances OSPAR	Moyen	Nutriments	Mauvais	Tributyltin; PCB (52/101/118/138)	Bon	
TO1/TO2	FRHR277	La Touques du confluent de l'Orbiquet (exclu) à l'embouchure	Mauvais	Benzo(a)pyrène	Bon	NA	Mauvais	Sulfonate de perfluorooctane; Fluoranthène; Benzo(a)pyrène; Benzo(b)fluoranthène; Benzo(k)fluoranthène; Benzo(g,h,i)peryène	Bon	NA
OR1	FRHR361	L'Orne de la confluence de l'Odon au barrage de Montalivet	Mauvais	Fluoranthène, benzo(a)pyrène	Moyen	IBD	Mauvais	Benzo(a)pyrène	Moyen	IBD
OR2	FRHR361	L'Orne de la confluence de l'Odon au barrage de Montalivet	Mauvais	Fluoranthène, benzo(a)pyrène	Moyen	IBD	Mauvais	Benzo(a)pyrène	Moyen	IBD
OR3	FRHTD4	Estuaire de l'Orne	Inconnue	Non mesurée	Moyen	Ichtyofaune	Inconnue	Non mesurée	Moyen	Macroalgues intertidales
OR4	FRHTD4	Estuaire de l'Orne	Inconnue	Non mesurée	Moyen	Ichtyofaune	Inconnue	Non mesurée	Moyen	Macroalgues intertidales
OR5	FRHC14	Baie de Caen	Mauvais	Contaminants chimiques, substances OSPAR	Bon	Phytoplancton, macroalgues opportunistes, nutriments	Mauvais	PCB (101/118/138)	Bon	NA
VI1	FRHR317	La Vire du confluent de la Drome (exclu) au confluent du ruisseau de St Martin (inclus)	Mauvais	Benzo(a)pyrène	Moyen	Inconnu	Mauvais	Fluoranthène; Benzo(a)pyrène	Moyen	IBD
VI2	FRHTD6	Baie des Veys : fond de baie estuarien et chenaux d'Isigny et de Carentan	Mauvais	Contaminants chimiques, substances OSPAR	Médiocre	Ichtyofaune	Mauvais	PCB (118)	Moyen	Ichtyofaune
VI3	FRHTD6	Baie des Veys : fond de baie estuarien et chenaux d'Isigny et de Carentan	Mauvais	Contaminants chimiques, substances OSPAR	Médiocre	Ichtyofaune	Mauvais	PCB (118)	Moyen	Ichtyofaune
CO1	FRHC09	Anse de Saint-Vaast la Hougue	Mauvais	Contaminants chimiques, substances OSPAR	Médiocre	Flore autre que phytoplancton, macroalgues subtidales	Mauvais	PCB (118)	Moyen	Macroalgues subtidales / Angiospermes
CO2	FRHC07	Cap Lévi Gatteville	Bon	NA	Bon	NA	Inconnue	NA	Bon	NA
CO3	FRHC61	Cherbourg : intérieur Grande rade	Mauvais	Contaminants chimiques, substances OSPAR	Bon	NA	Mauvais	PCB (118); Tributyltin	Bon	NA
CO4	FRHC03	Ouest Cotentin	Bon	NA	Bon	NA	Bon	NA	Moyen	Angiospermes
CO5	FRHC01	Archipel Chausey	Bon	NA	Bon	NA	Bon	NA	Bon	NA

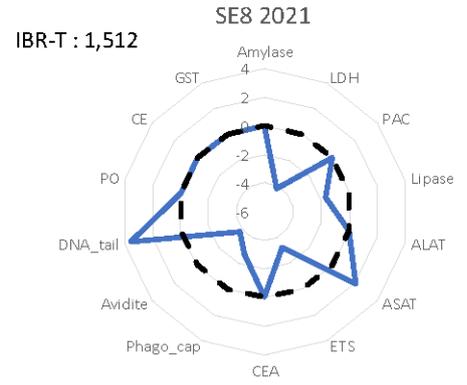
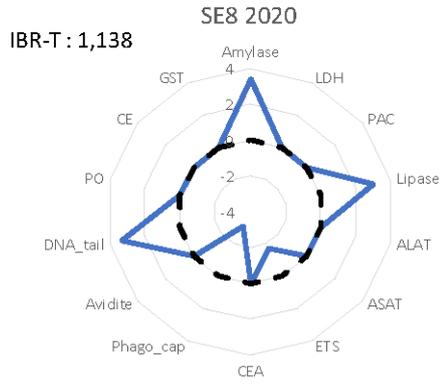
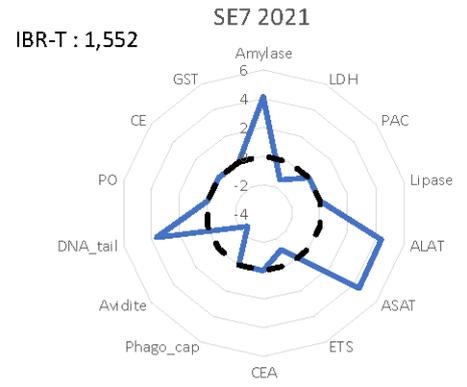
Les cases grisées soulignent un changement d'état entre l'évaluation 2019 et 2022.

## Annexe 4. Représentations en radar du positionnement de chaque biomarqueur mesuré par rapport à la référence pour les différentes stations.



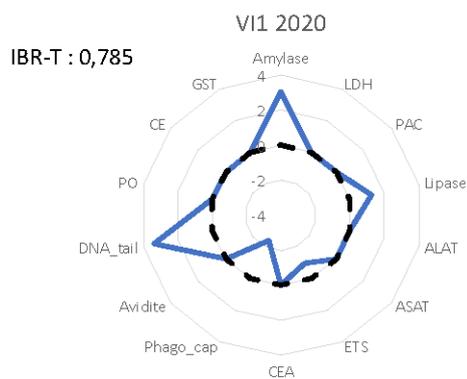
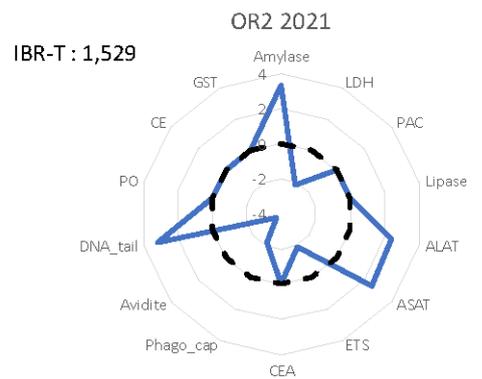
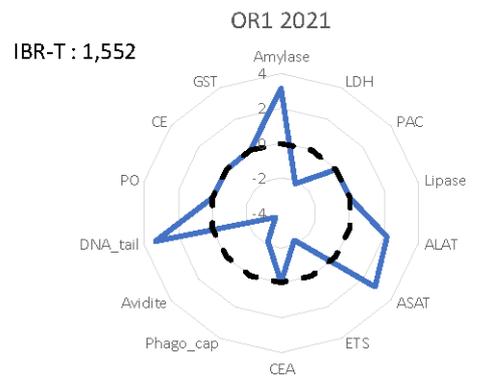
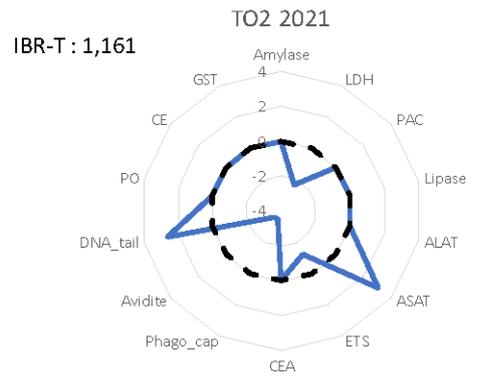
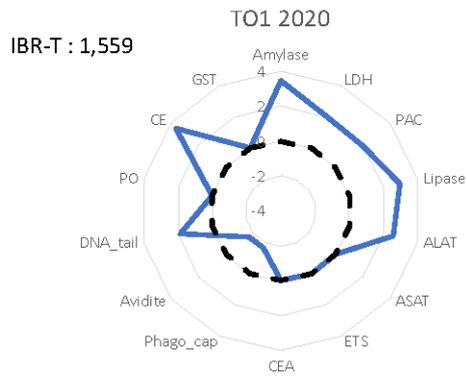
Plus la ligne bleue est décalée de la référence en pointillé, plus la réponse est élevée.





Plus la ligne bleue est décalée de la référence en pointillé, plus la réponse est élevée.





Plus la ligne bleue est décalée de la référence en pointillé, plus la réponse est élevée.



**POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LE GIP SEINE-AVAL**

[www.seine-aval.fr](http://www.seine-aval.fr)

**CONTACT**

GIP Seine-Aval  
Hangar C - Espace des Marégraphes  
CS 41174  
76176 ROUEN Cedex 1  
**Tél : 02 35 08 37 64**  
[gipsa@seine-aval.fr](mailto:gipsa@seine-aval.fr)

En cas d'utilisation de données ou d'éléments de ce rapport, il devra être cité sous la forme suivante :

Xuereb B., Fisson C., Geffard A. (coord.), Amara R., Auffret M., Bado-Nilles A., Bonnard M., Bonneville-Normand M., Chaumot A., Costil K., Geffard O., Le Foll F., Palos-Ladeiro M., 2023. Projet BIOSURVEILLANCE : Proposition d'un pilote basé sur l'utilisation de biomarqueurs pour un appui à la surveillance de la qualité des masses d'eau du district Seine-Normandie. Rapport de recherche du programme Seine-Aval 6 et de la Zone Atelier Seine, 49p.

Le GIP Seine-Aval ne saurait être tenu responsable d'évènements pouvant résulter de l'utilisation et de l'interprétation des informations mises à disposition.

Pour tout renseignement, veuillez contacter le GIP Seine-Aval.

Les membres financeurs du GIP Seine-Aval sont :

