



Rovaltain Research  
COMPANY

RRCo *Expands your horizons*

Congrès Annuel de la Société Française de Toxicologie  
**27-28 novembre 2018**

## «Utilisation des micro/mésocosmes dans l'évaluation du risque environnemental. »

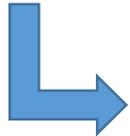
*Clément BARDON, David LEJON, Bruno COMBOURIEU*  
[bcombourieu@rovaltainresearch.com](mailto:bcombourieu@rovaltainresearch.com)

Copyright Rovaltain Research Company 2018



## I – Contexte lié/conduisant à l'utilisation de micro/mésocosmes

Evaluation du risque environnemental (ERA) lié à l'utilisation et la mise sur le marché de substances (chimiques ou biologiques)



~ basée sur la réalisation d'essais d'écotoxicité mono-spécifiques et de comportement de la substance a minima standardisés voire normalisés. Notamment les tests des lignes directrices de l'OCDE :

- Essais concernant les propriétés physico-chimiques :  
OECD tests guidelines 105 ,106, 111, 117, 121 ...
- Essais de biodegradabilité, bioaccumulation et devenir des substances :  
OECD tests guidelines 301 D & F, 302, 305, 306, 307, 308, 310 ...
- Essais d'écotoxicité aigüe et chronique :  
OECD guidelines: 201, 202, 203, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 215, 217, 218, 219, 221, 222, 227, 232, 235, 236 ...
- Les essais en milieu aquatique peuvent être réalisés en eau douce ou eau de mer (voire estuarienne).
- En cas de substances difficiles : OECD Series on testing and assessment, No.23, "Guidance document on aquatic toxicity testing of difficult substances and mixtures", December 15, 2000

# I - Contexte lié/conduisant à l'utilisation de micro/mésocosmes

Ex. de REACH: Données écotoxicologiques à fournir → **une majorité de tests "lower tier"**

Annex VII 1 – 10 t/year	Annex VIII 10 – 100 t/year	Annex IX 100 – 1000 t/year	Annex X > 1000 t/year
<ul style="list-style-type: none"> <li>Short term toxicity on freshwater aquatic invertebrate (Daphnids) (OECD 202*)</li> <li>Alga or Lemna sp growth inhibition (OECD 201*, 221*)</li> <li>Reproductive toxicity (OECD 203*, 204*)</li> <li>Water solubility (OECD 105*) &amp; partition coefficient (n-octanol/water) (OECD 107*, 117*)</li> </ul> <div data-bbox="164 614 376 828" style="border: 1px solid black; width: 110px; height: 150px; display: flex; align-items: center; justify-content: center; margin: 10px auto;">  </div>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fish acute toxicity tests (OECD 203*, 236*)</li> <li>Activated Sludge, Respiration Inhibition Test (OECD 209*)</li> <li>Hydrolysis (OECD 201*)</li> <li>pH (OECD 202*)</li> <li>Adsorption-desorption using equilibrium method (OECD 210*)</li> </ul> <div data-bbox="647 614 859 828" style="border: 1px solid black; width: 110px; height: 150px; display: flex; align-items: center; justify-content: center; margin: 10px auto;">  </div>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Long term toxicity test on invertebrate (OECD 211*), Fish, (OECD 210*)</li> <li>Biodegradation simulation test: surface water (OECD 201*)</li> <li>Bioaccumulation in Fish (OECD 210*)</li> <li>Short term toxicity on soil organisms: invertebrates (OECD 207*, 235*), plants (OECD 208*, 227*), microorganisms (OECD 216*, 217*)</li> </ul> <div data-bbox="1091 614 1304 828" style="border: 1px solid black; width: 110px; height: 150px; display: flex; align-items: center; justify-content: center; margin: 10px auto;">  </div>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Long term toxicity on soil and sediment organisms (OECD 222*)</li> <li>Long term toxicity/avian reproduction test (OECD 206)</li> </ul> <div data-bbox="1555 614 1767 828" style="border: 1px solid black; width: 110px; height: 150px; display: flex; align-items: center; justify-content: center; margin: 10px auto;">  </div>

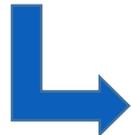
 **Est-ce que ces tests répondent à toutes les problématiques?**  
 **Sont-ils applicables à toutes les substances?**

## I - Contexte lié/conduisant à l'utilisation de micro/mésocosmes

- Pour compléter l'évaluation du risque environnemental lié à une substance, des essais en microcosmes et mésocosmes peuvent être associés pour intégrer un niveau de complexité supérieur.

L'objectif étant, lorsque l'analyse de risque le requiert, d'accroître le réalisme vis-à-vis des conditions environnementales réelles, que ce soit en termes de dimension du dispositif d'exposition ou de niveau d'organisation biologique.

- Les tests en microcosmes correspondent généralement à un compromis entre les tests en mésocosmes et les tests mono-spécifiques. Ils peuvent associer plusieurs compartiments environnementaux et/ou différentes espèces biologiques, mais à une échelle réduite par rapport aux mésocosmes, afin de réduire les facteurs confondants et la variabilité inhérente à ce type d'essais.

- 
- ✓ Utilisation dans un cadre réglementaire ou un cadre de R&D
  - ✓ Les essais en mésocosmes peuvent être conduits « indoor » ou « outdoor » et sont conçus pour mimer des conditions plus proches du milieu naturel ou industriel évalués (par exemple un effluent industriel).
  - ✓ Dans certains cas, le terme de « semi field » est utilisé.

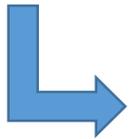


= Approche potentiellement intégrée :



## I - Contexte lié/conduisant à l'utilisation de micro/mésocosmes

- ✓ Du point de vue réglementaire, les études en micro/mésocosmes sont considérées généralement comme des études « higher tier »
- ✓ Rappel sur la notion d'étude « higher tier »



Etudes possédant un niveau de complexité accrue mises en œuvre lorsque les études plus simples ont :

- ✓ Soit révélé une toxicité ou un comportement dans l'environnement donnant lieu à un risque évalué comme « non acceptable »;
- ✓ Soit n'ont pas permis de tirer des conclusions du fait d'une inadéquation entre le protocole utilisé (guide, ligne directrice, norme, « homemade testing proposal ») et la famille de substances testées.

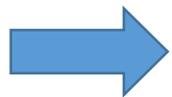
Une étude (ou un test) est donc généralement considérée « higher tier » lorsque :

- ✓ Le mode d'exposition des organismes testés est complexe;
- ✓ La substance d'essai est complexe/difficile;
- ✓ Le protocole de test a été spécifiquement adapté d'une ligne directrice ou d'un guide (ie développement nouveaux dispositifs expérimentaux);
- ✓ Le protocole de test ne répond à aucune norme/ligne directrice et n'a pas été publié ou validé/approuvé.

## I - Contexte lié/conduisant à l'utilisation de micro/mésocosmes

Tous les secteurs (ou presque) peuvent avoir recours à des essais en mésocosmes :

- ✓ Plant Protection Products (1107/2009) : historiquement le principal secteur utilisant des tests higher tier, notamment des études en micro/mésocosmes.
- ✓ Biocontrôle (et SDP) : en forte croissance, notamment du fait de l'absence de données e-fate et de résultats difficiles à interpréter en plein champs
- ✓ Produits chimiques (REACH...) (tox / ecotox / e-fate)
- ✓ Biocides (souvent analogie à PPP dans les problématiques, avec des études en « semi field » fréquemment)
- ✓ Produits vétérinaires (Guideline on the higher tier testing of veterinary medicinal products to dung fauna (Draft), EMA, 2016) et de santé
- ✓ Effluents et mélanges, etc.



**Agences : besoin de critères d'évaluation 'renforcés' pour les études higher tier, a fortiori celles conduites en mésocosmes. Car pas de normes ou de lignes directrices mais des guides par secteur d'activité/famille de produits.**

Remarque : études en mésocosmes ⇔ domaine GLP 7.

# I - Contexte lié/conduisant à l'utilisation de micro/mésocosmes

## Exemple de critères d'évaluation d'études higher-tier

### → Domaine des PPP

Près de 40-50% des publications utilisant des mésocosmes concernent les PPP, puis les produits pharmaceutiques. Et essais semi-field pour les biocides.

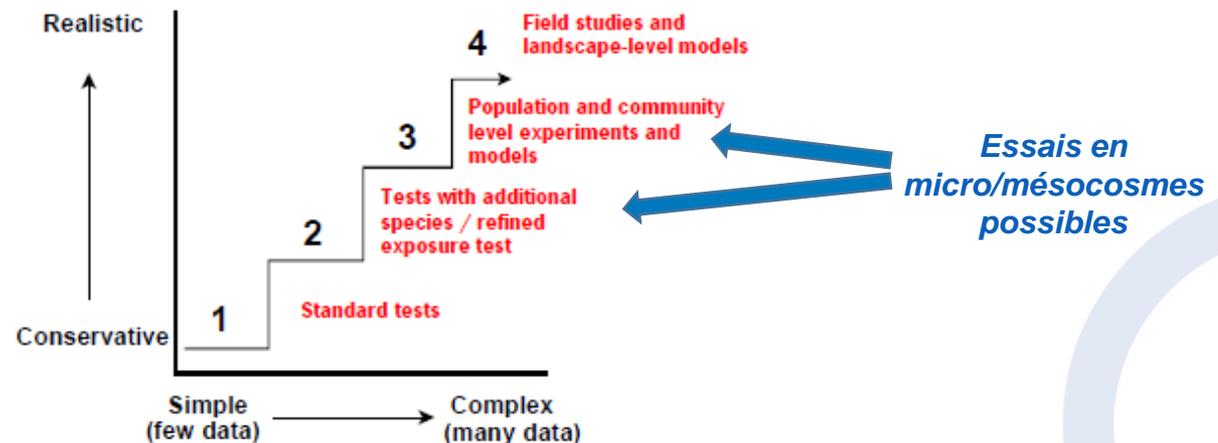


Groupe de travail du SETAC, rapport Jan 2016

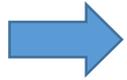
Arts GH, Dollinger M, Kohlschmid E, Maltby L, Ochoa-Acuña H, Poulsen V. *Environ Sci Pollut Res Int.* **2015** 22(3):2350-5. *An ecosystem services approach to pesticide risk assessment and risk management of non-target terrestrial plants: recommendations from a SETAC Europe workshop.*

→ Recommandations pour l'évaluation des PPP, dont : ***“There is a need for defining a (surrogate) reference tier in order to calibrate the tiered approach”.***

### Higher tier options for NTTPS



## II - Les principaux types de mésocosmes



### Micro/mésocosmes indoor

#### Inconvénients :

- Paramètres climatiques forcément simulés en conditions indoor.
- Taille inférieure aux dispositifs expérimentaux outdoor (principalement pour rivières artificielles).

#### Avantages :

- Grande flexibilité concernant la maîtrise de la diversité chimique et biologique.
- De plus, conditions optimales pour utiliser des organismes potentiellement invasifs ou pathogènes en indoor (utilité ++ en biocontrôle et pour toutes les nouvelles familles de substances pour lesquelles il n'y a encore que peu de données e-fate et écotox).
- Minimisation des facteurs confondants.

## II - Les principaux types de mésocosmes

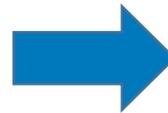
### ➔ **Micro/mésocosmes indoor**

Exemple avec dispositifs de type insectarium : biocontrôle et lutte anti-vectorielle

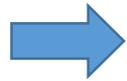
(*Aedes albopictus* (Moustique tigre),  
*Drosophila suzukii*)



- *Changement d'échelle (population)*
- *Analyses multicompartiments*
- *Efficacité de substances en conditions contrôlées (BSL2 suivant les cas)*



## II - Les principaux types de mésocosmes



### Micro/mésocosmes indoor

Exemple de dispositifs de type insectarium : biocontrôle et lutte anti-vectorielle

**Exemple : Projet SuzuCI : « Développement d'une méthode de lutte biologique contre le ravageur de cultures *Drosophila suzukii* basée sur l'utilisation de bactéries symbiotiques manipulatrices de la reproduction » (Ecophyto)**

#### Conditions expérimentales

Les conditions environnementales maintenues durant la phase de test étaient les suivantes :

- Température : 22°C (+/- 2 °C)
- Hygrométrie : 60%
- Rythme nyctéméral : 12h/12h
- Luminosité : ≈ 800 lux à 1,40 m de haut
- Présence de fruits rouges à maturité pour mimer les conditions d'activité de la drosophile

#### • Mésocosme (ou cage) contrôle

A T=0, au sein du mésocosme contrôle, un lâcher de 20 individus NI (10 ♀ + 10 ♂) et 20 Individus lwSuz (10 ♀ + 10 ♂) a été réalisé afin de mimer une population naturelle.

Toutes les semaines, un lâcher de 20 individus NI (10 ♀ + 10 ♂) et de 20 Individus lwSuz (10 ♀ + 10 ♂) a été effectué.

#### • Mésocosme (ou cage) expérimental

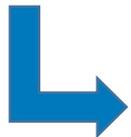
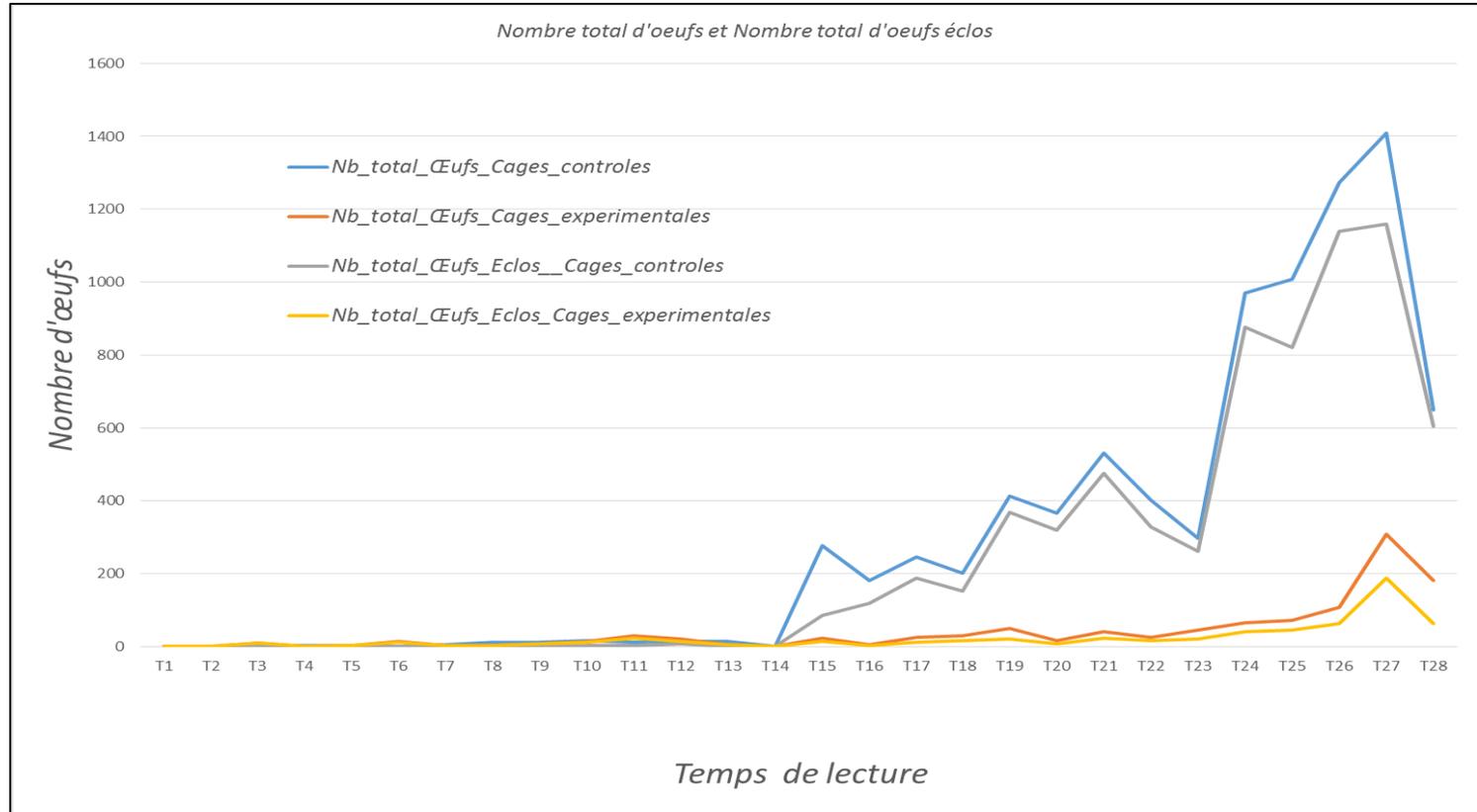
A T=0, au sein du mésocosmes expérimental, un lâcher de 20 individus NI (10 ♀ + 10 ♂), de 20 Individus lwSuz (10 ♀ + 10 ♂) et de 260 individus ♂ lwHa aux caractères « stérilisants » a été réalisé.

Toutes les semaines, un lâcher de 20 individus NI (10 ♀ + 10 ♂), de 20 Individus lwSuz (10 ♀ + 10 ♂) et de 260 individus ♂ lwHa aux caractères « stérilisants » a été réalisé.

## II - Les principaux types de mésocosmes

### Micro/mésocosmes indoor

Exemple de dispositifs de type insectarium : biocontrôle et lutte anti-vectorielle



Suivi relativement simple en conditions contrôlées de populations de ravageurs dans le cadre d'une activité de biocontrôle.

**Back and forth *Wolbachia* transfers reveal efficient strains to control spotted wing drosophila populations**  
Cattel et al., *Journal of Applied Ecology*, 2018, 55(5), 2408.

## II - Les principaux types de mésocosmes

### Micro/mésocosmes indoor

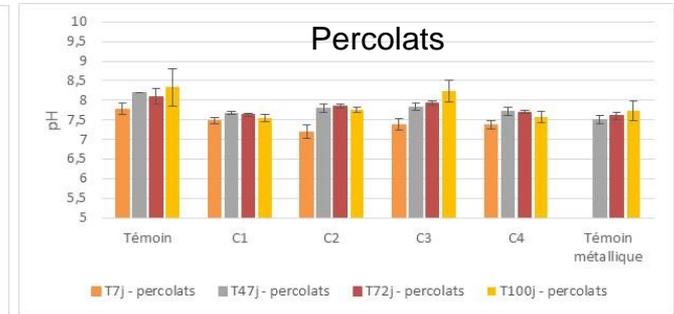
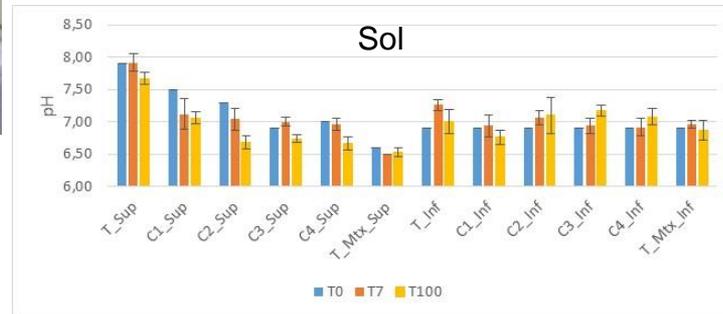
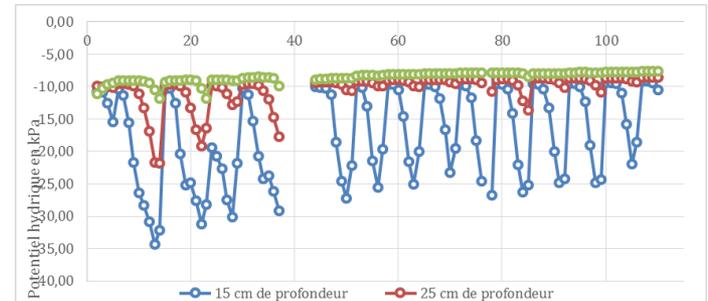
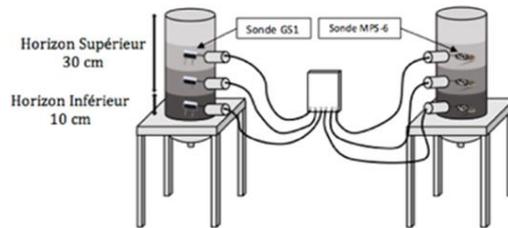
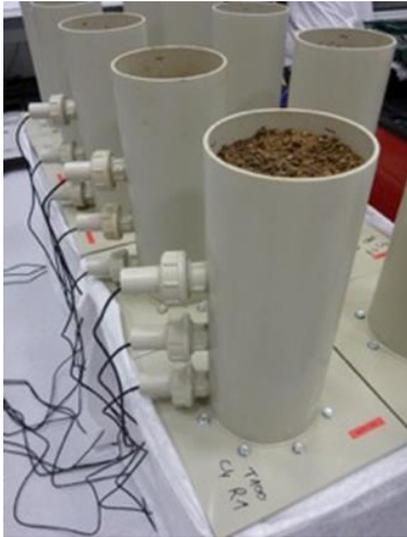
Exemple de dispositifs terrestres : agriculture, biocontrôle, PPP, ERA pharmaceuticals

**Exemple : Projet CEMABS : « Exposition chronique aux antibiotiques et métaux dans les sols : impact sur les processus microbiens incluant la dynamique de l'antibio-résistance ».**

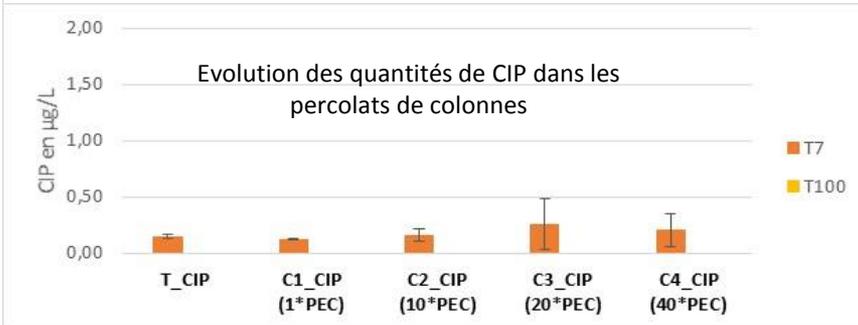
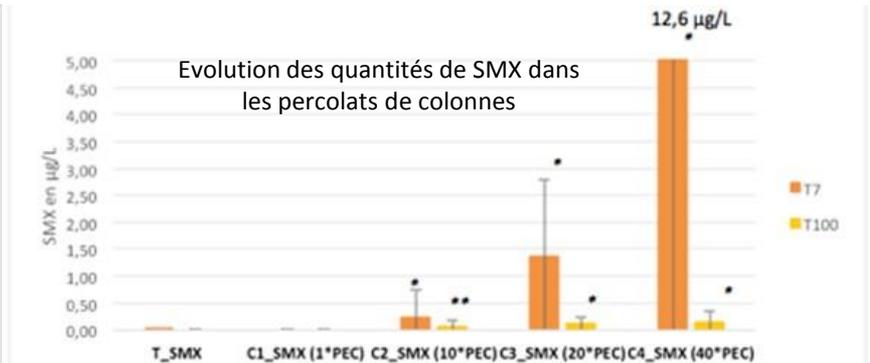
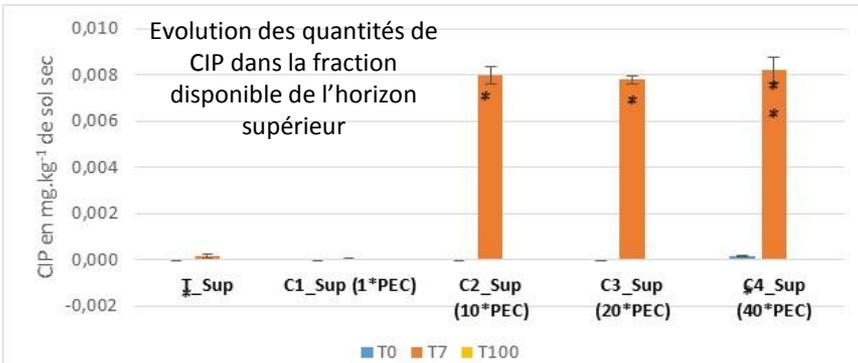
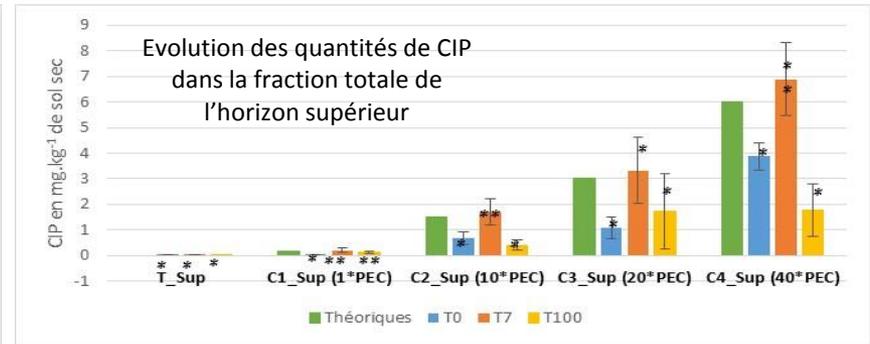
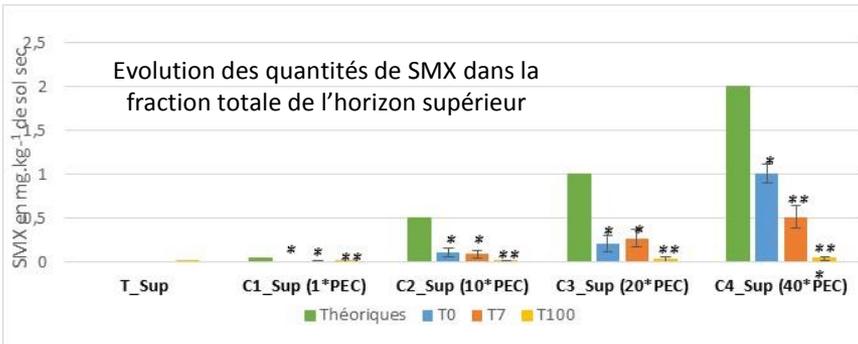
ANR

Objectif des études en microcosmes :

→ Etudier l'écodynamique des antibiotiques (ciprofloxacine et sulfaméthoxazole) et des métaux et leur impact sur le fonctionnement microbien du sol (100 jours, 50 microcosmes non plantés)



Exemple de l'impact d'amendements organiques (lisiers/boues de STEP) contenant des antibiotiques et des métaux (problématique liée à l'émergence de réservoirs de résistances aux antibiotiques)



- Ciprofloxacine retrouvée majoritairement dans fraction totale du sol, mais très peu dans fraction disponible et dans percolats de colonne.
- ↳ traduit forte adsorption de la molécule sur les particules du sol et la matière organique.
- Sulfaméthoxazole présent à la fois dans la fraction totale, dans fraction disponible du sol et dans percolats de colonne démontrant ainsi une faible adsorption de la molécule dans le sol et une biodisponibilité plus importante.



L'apport de doses croissantes de sulfaméthoxazole a tendance à augmenter la quantité des gènes de résistance dans le sol (gènes de résistance aux sulfamides sul1 et sul2 quantifiés par qPCR).

## II - Les principaux types de mésocosmes

### Micro/mésocosmes indoor

Exemple de dispositifs terrestres : agriculture, biocontrôle, PPP, ERA pharmaceuticals

Mésocosme de 1,2 m<sup>3</sup>



100cm

Mésocosme de 0,6 m<sup>3</sup>



50cm

Exposition contrôlée  
(chambre de pulvérisation)



Tableau des profondeurs d'enracinement des plantes de grandes cultures:

CULTURE	PROFONDEUR D'ENRACINEMENT (cm)
Céréales d'hiver	90
Céréales de printemps	70
Blé dur	70
Seigle	90
Avoine	70
Pomme de terre	30
Mais	90
Lin	50
Betterave	90
Endive	90
Colza	90



Possibilité d'étudier l'impact de substances sur la croissance de plantes, de la graine au stade adulte (maïs adulte ~ 2,4 m de haut), en conditions contrôlées. Effet inter et intra rang pris en compte, comme lors d'études plein champs.

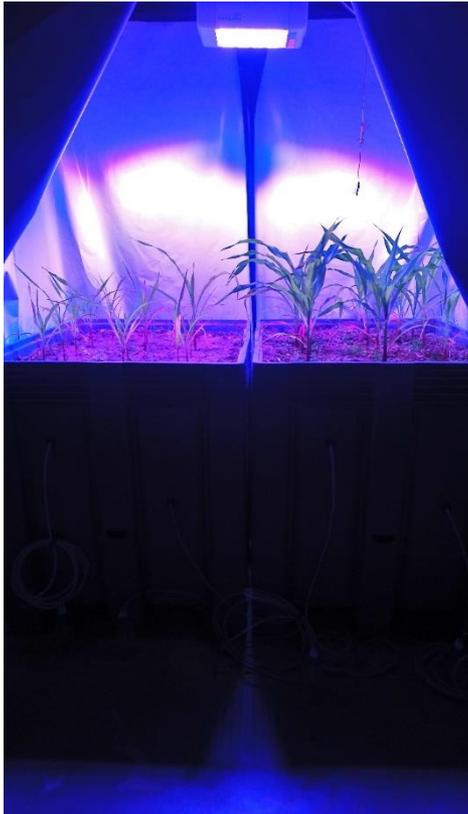
## II - Les principaux types de mésocosmes

### Micro/mésocosmes indoor

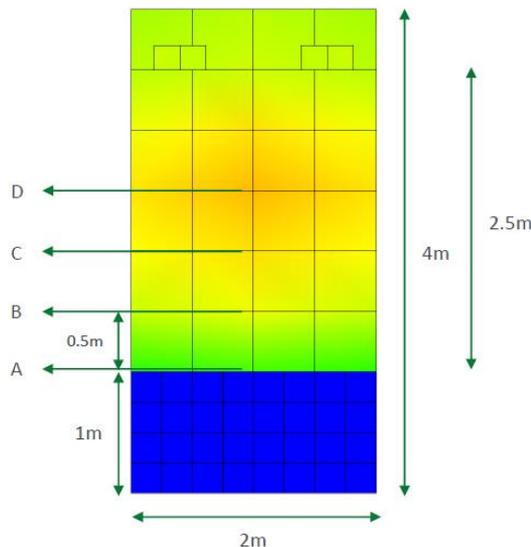
Exemple de dispositifs terrestres : agriculture, biocontrôle, PPP, ERA pharmaceuticals

Des cycles jour/nuit stables toute l'année sans aléas climatiques et sans perturbations exogènes. Utilisation et confinement de ravageurs le cas échéant.

Eclairage LED à intensité et spectre variable jusqu'à  $1000 \mu\text{E. m}^2. \text{s}^{-1}$  :



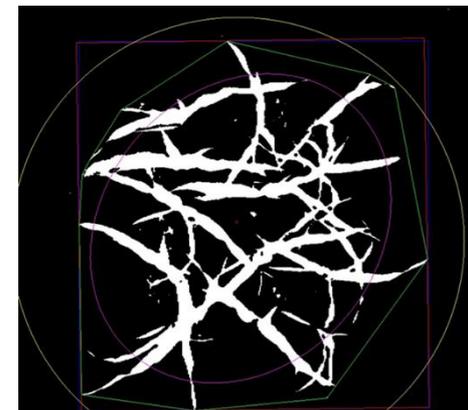
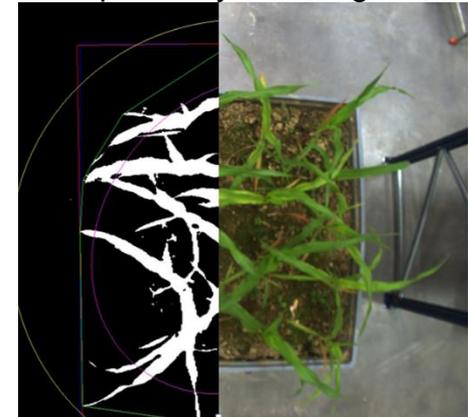
Exemple avec 2 luminaires LED à 4 m



Intensité lumineuse prédite:

$\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$	Average	Max	Min
A	306	329	264
B	350	373	308
C	409	434	366
D	483	542	373

Suivi précis de la croissance végétale par analyse d'image



Exemple de dispositifs "sédimentaires" : PPP, ERA substances pharma et chimiques

### Exemple de l'évaluation de l'écotoxicité d'un sédiment lacustre

- Approche en mésocosmes: différents niveaux trophiques (**producteurs**, **consommateurs**, **décomposeurs**)
- Aquariums en verre 50 L environ
- 2 modalités : Sédiment traité , sédiment non-traité
- 3 réplicats pour chaque modalité
- Durée du test : 28 jours , T°C ambiante (à titre indicatif, 20°C +/-2) , cycle jour:nuit (16h-8h)



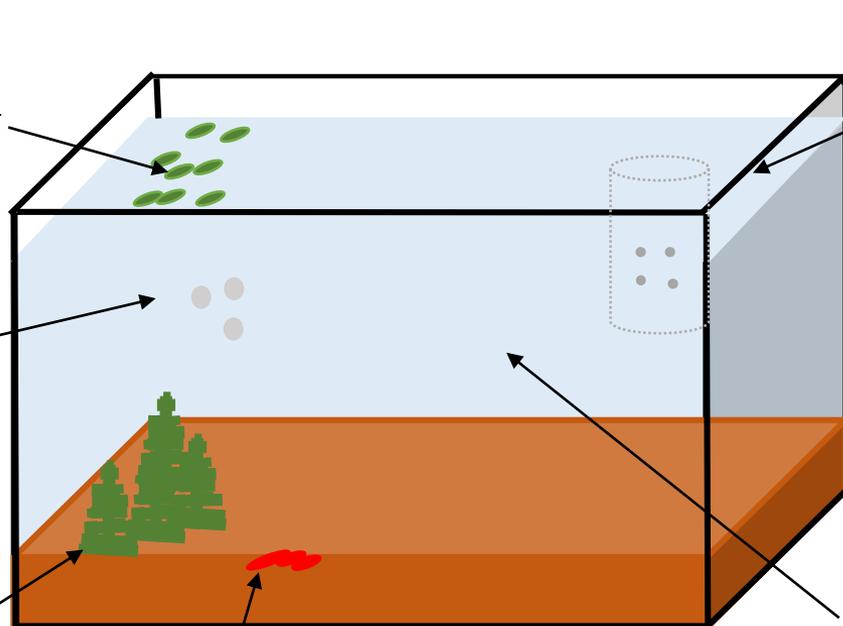
- *Lemna minor*
- Évolution du Nombre de frondes
- Mesure du Poids sec à T final
- cf. LD OCDE 221



- *Daphnia magna*
- Suivi mortalité
- Suivi reproduction
- cf. LD OCDE 211



- *Myriophyllum spicatum*
- Longueur de la tige, des branches latérales et des racines,
- Évolution du poids frais et sec
- Nombre de verticilles
- cf. LD OCDE 238/239



- Oeufs de *Danio rerio* (encagés)
- Mortalité
- cf. LD OCDE 236/210

Suivi des paramètres physico-chimiques de la colonne d'eau  
pH, Taux d'oxygène, Conductivité



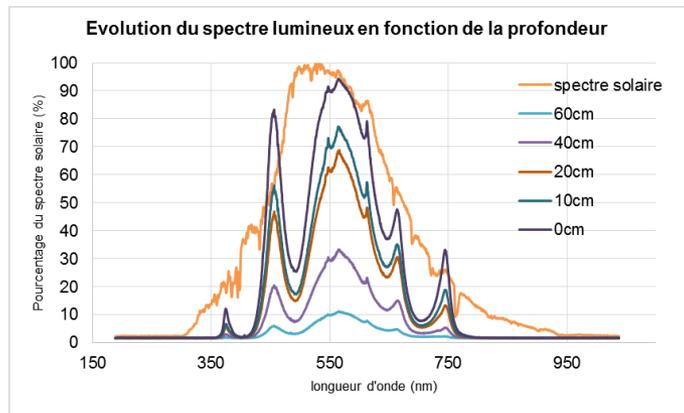
- *Chironomus riparius*
- Mesure nombre d'émergence/stade de développement
- cf. LD OCDE 218

**Important de contrôler les paramètres d'exposition**

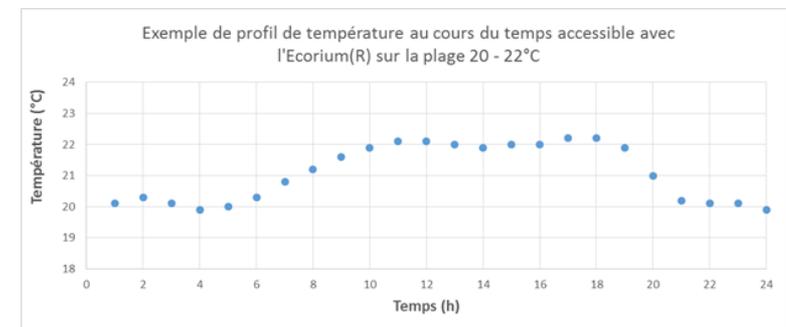
Exemple de dispositifs "sédimentaires" : PPP, ERA substances pharma et chimiques

### Intérêt du contrôle des paramètres d'exposition

Exemple de l'influence de l'irradiance perçue par des plantes en fonction de la profondeur « d'enracinement » = biais potentiel dans l'analyse de l'effet d'une substance si non pris en compte

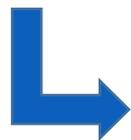
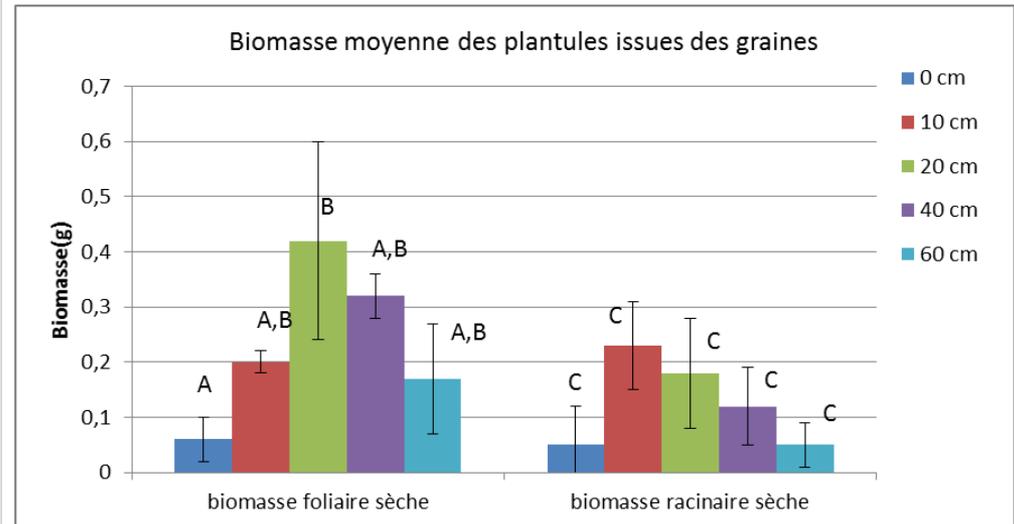
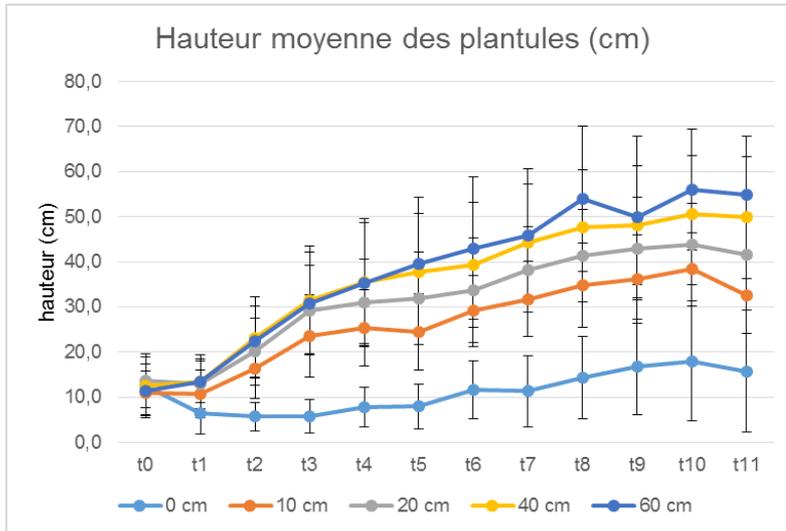


	0 cm	10 cm	20 cm	40 cm	60 cm
Irradiance en $W.m^{-2}$	$52 \pm 1$	$23 \pm 3$	$21 \pm 1$	$13 \pm 1$	$8 \pm 1$
Irradiance en $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$	$250.1 \pm 5$	$110.6 \pm 13$	$101.0 \pm 3$	$62.5 \pm 3$	$38.5 \pm 3$
	<b>100%</b>	<b>47%</b>	<b>41%</b>	<b>26%</b>	<b>16%</b>



Exemple de dispositifs “sédimentaires” : PPP, ERA substances pharma et chimiques

### Intérêt du contrôle des paramètres d'exposition

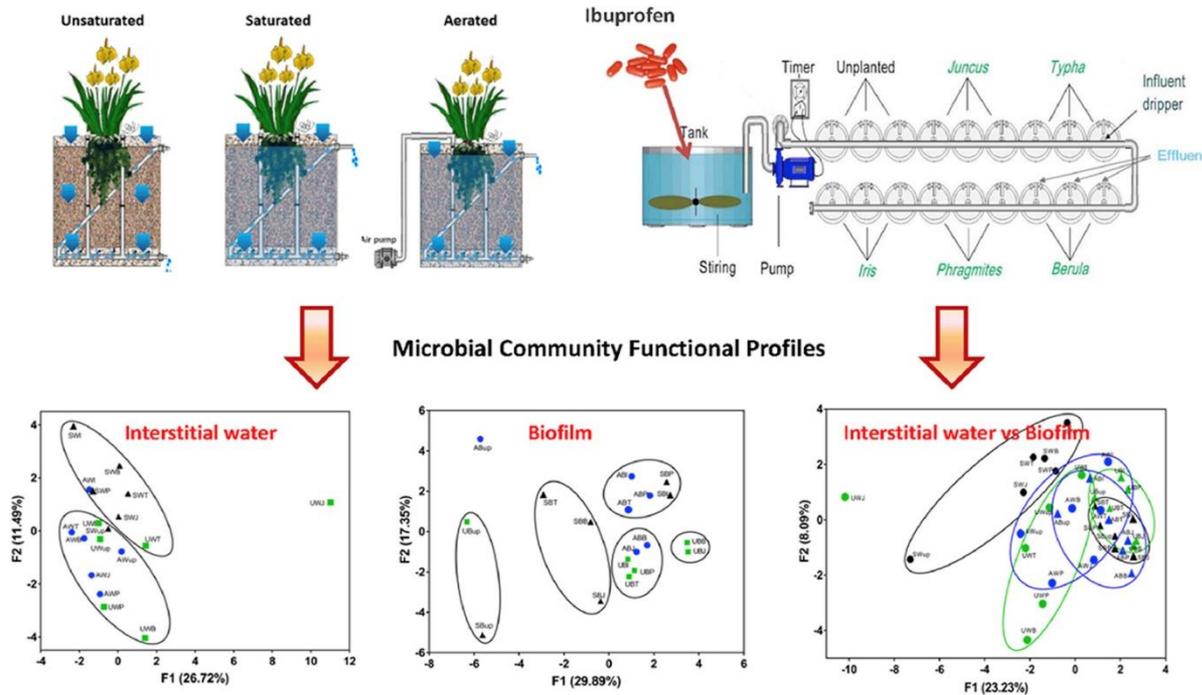


Importance de suivre/maîtriser les différents paramètres d'ambiance/climatiques dans des études en mésocosmes.

Remarque : Pas d'obstacle à une colonisation naturelle et développement normal de l'écosystème, en conditions contrôlées (exemple présenté ici : macrophytes, daphnies, microalgues)

### Exemple de dispositifs "systèmes humides" : PPP, ERA substances pharma et chimiques

*Impacts of design configuration and plants on the functionality of the microbial community of mesocosm-scale constructed wetlands treating [ibuprofen](#)*  
 Zhang et al., *Water Research* 131 (2018) 228-238



Exemple de dispositifs “systèmes humides” : PPP, ERA substances pharma et chimiques

*Impacts of design configuration and plants on the functionality of the microbial community of mesocosm-scale constructed wetlands treating [ibuprofen](#)*  
 Zhang et al., *Water Research* 131 (2018) 228-238

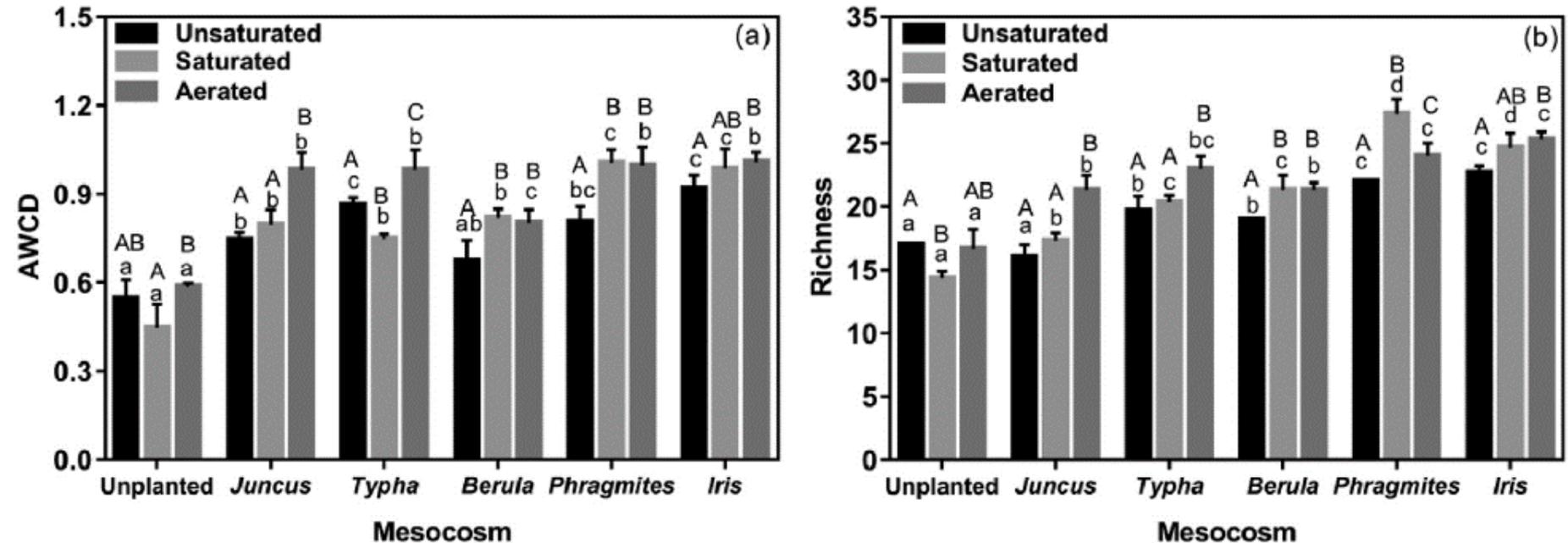


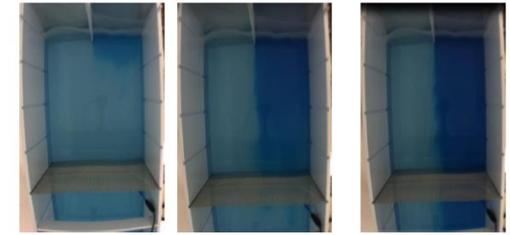
Fig. 3. Microbial activity based on AWCD (a) and metabolic richness (b) for the biofilm samples from unplanted, *Juncus*, *Typha*, *Berula*, *Phragmites* and *Iris* planted mesocosms in unsaturated, saturated and aerated CW designs. Within each CW design, significant differences ( $p < .05$ ) among mesocosm types are marked using lower case letters. Significant differences among the three designs for each mesocosm are denoted by uppercase letters.

## II - Les principaux types de mésocosmes

## Micro/mésocosmes indoor

Exemple de dispositifs "aquatiques" : Effluents, PPP, ERA substances pharma et chimiques, Perturbateurs Endocriniens

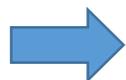
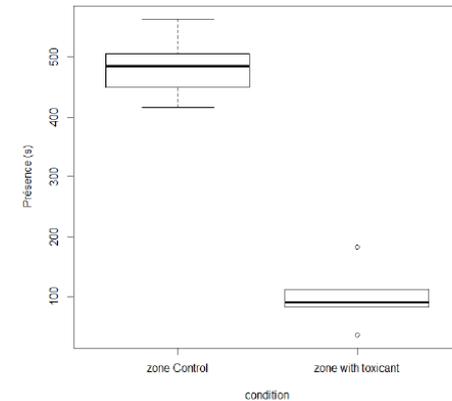
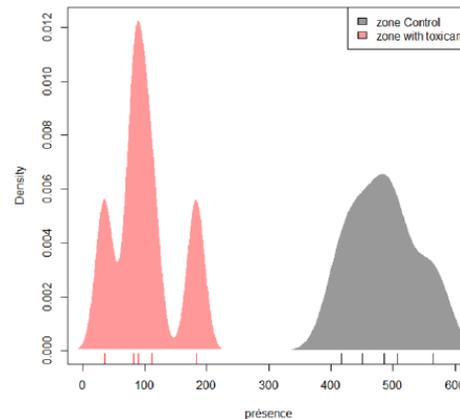
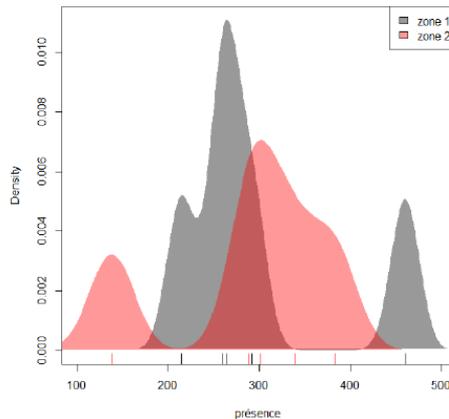
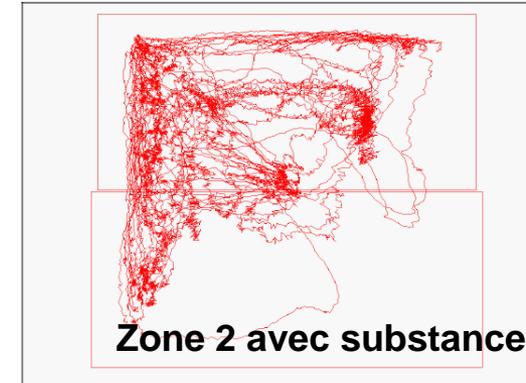
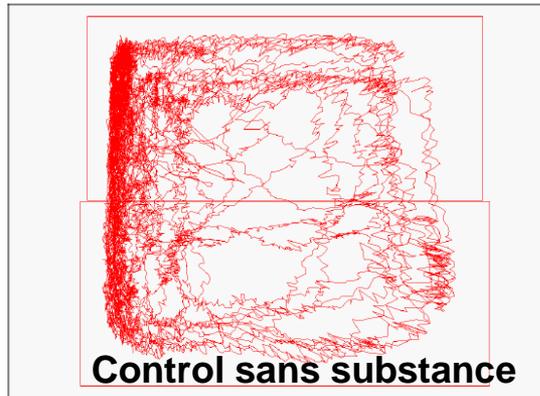
Mesure de l'effet d'un **effluent industriel** sur des juveniles de bar par videotracking (test d'évitement en canal droit développé par RRCo).



T=30 seconds

T=15 minutes

T=4 minutes

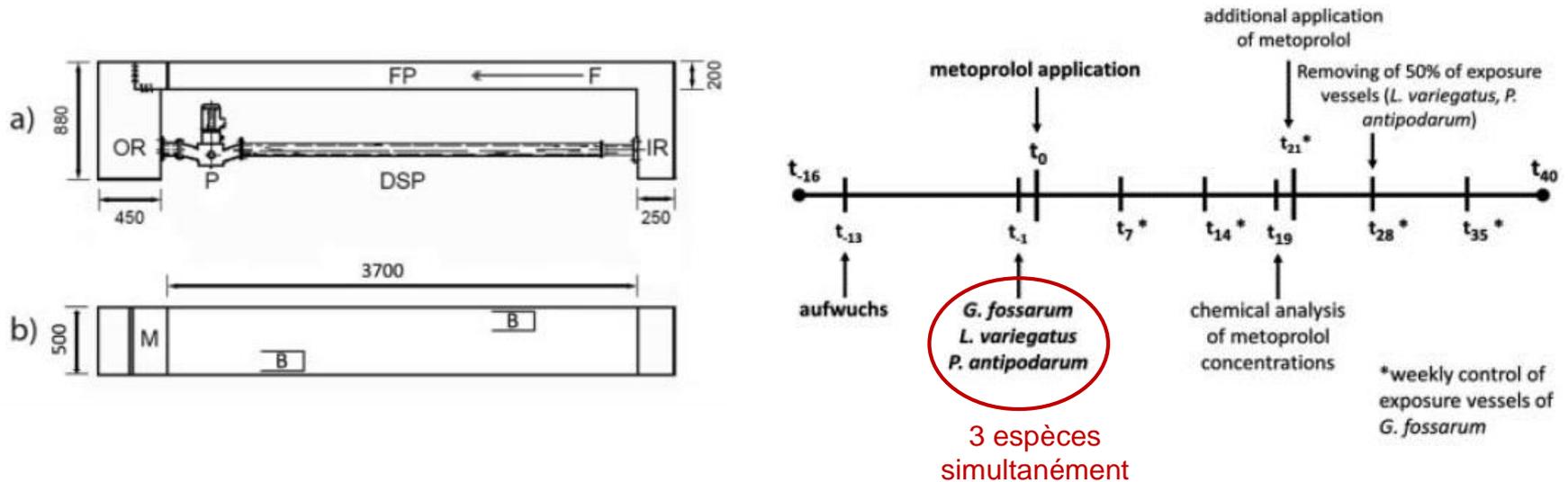


Mesure simple et rapide de l'effet d'un effluent (ou d'un mélange) sur différentes espèces de poissons (**dose-réponse**). Conforme aux recommandations de l'EU / expérimentation sur vertébrés. Et pertinent par rapport à une évaluation basée sur l'effet et non la concentration de la substance dans les rejets.

Exemple de dispositifs "aquatiques" : Effluents, PPP, ERA substances pharma et chimiques, Perturbateurs Endocriniens

*Effects of metoprolol on aquatic invertebrates in artificial indoor streams*

*Buchberger et al., JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH, PART A, 2018, VOL. 53, NO. 8, 728–739*



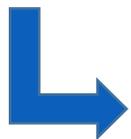
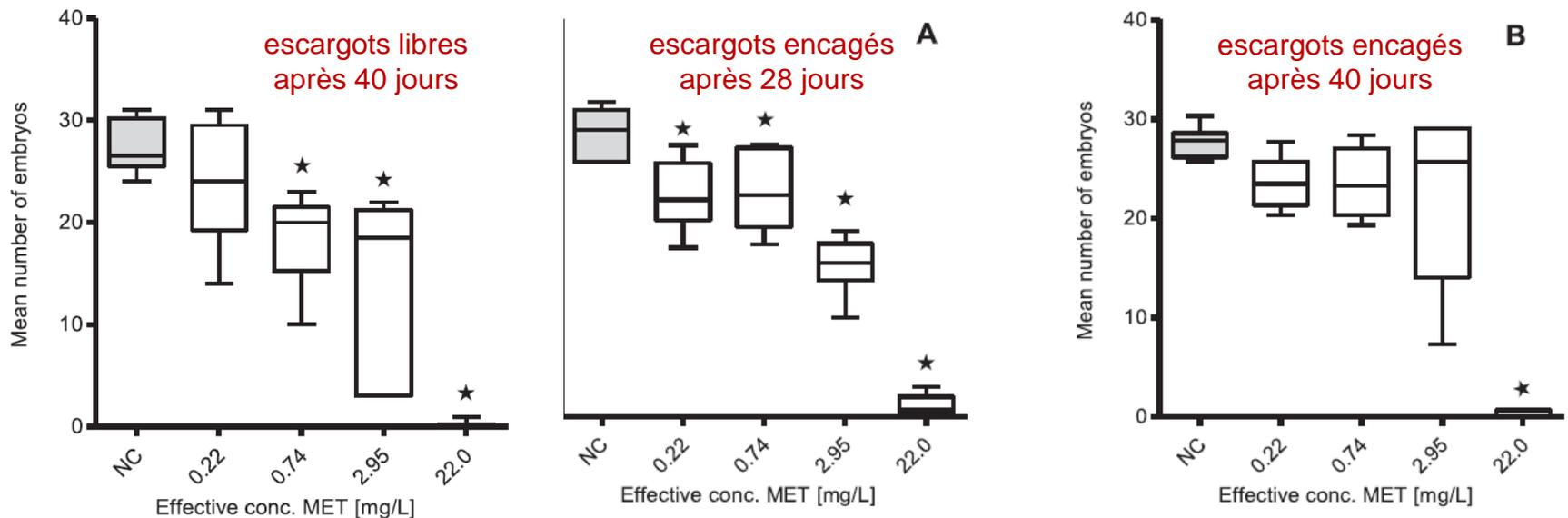
**Figure 1.** Assembly drawing from side (a) and top (b) view of an artificial indoor stream (modified according to Jungmann et al.).<sup>[16]</sup> (a) P: pump; IR: inflow reservoir; OR: outflow reservoir; FP: flow path; F: flow direction; DSP: double sheathed pipe and (b) M: mesh to separate the flow path and channels from the outflow reservoir; B: stainless steel boxes to establish areas with reduced flow; all sizes are in mm.

Exemple de dispositifs "aquatiques" : Effluents, PPP, ERA substances pharma et chimiques, Perturbateurs Endocriniens

*Effects of metoprolol on aquatic invertebrates in artificial indoor streams*

*Buchberger et al., JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH, PART A, 2018, VOL. 53, NO. 8, 728–739*

*Résultat sur la reproduction de Potamopyrgus antipodarum*



- Permet de confirmer ou d'infirmer des résultats obtenus sur tests monospécifiques ou in vitro.
- A noter une différence liée à l'encagement.

## II - Les principaux types de mésocosmes

### ➔ **Micro/mésocosmes outdoor**

#### Avantages :

- Conditions environnementales plus réalistes que pour les tests en labo.

#### Inconvénients :

- Interprétation des résultats parfois complexe due à de nombreux facteurs confondants et dépendants des aléas climatiques.
- Délicat de tester des substances dangereuses (ou d'utiliser des espèces invasives) en conditions outdoor.



*Mésocosmes de l'Ineris*



*Rivières artificielles du site Total (Lacq)*

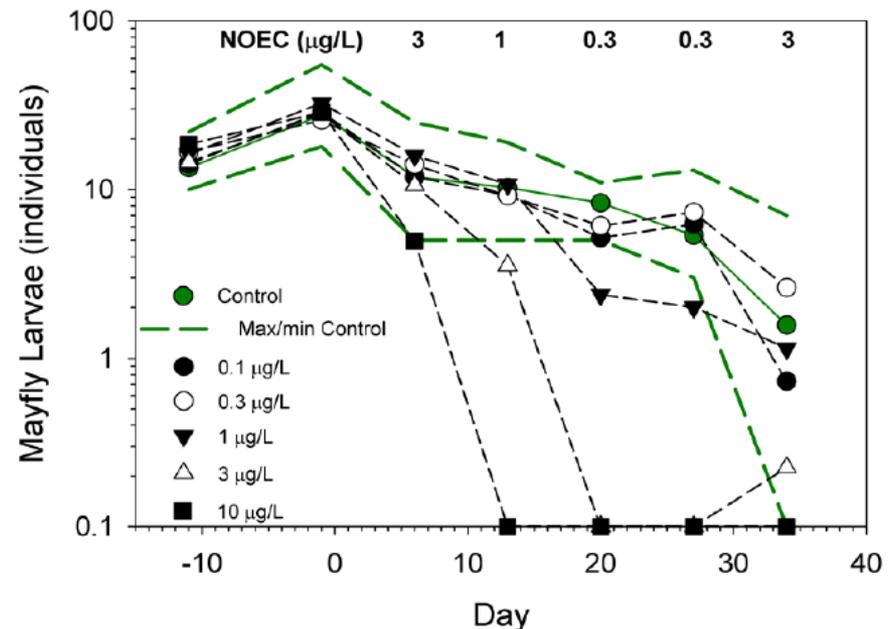
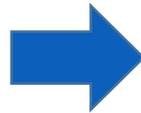


*Plateforme de l'INRA de Rennes*

Exemple de dispositifs "aquatiques" : Effluents, PPP, ERA substances pharma et chimiques, Perturbateurs Endocriniens

Exemple d'étude conduite par un industriel de l'agrochimie, sous BPL (excepté caractérisation eau et sediments).

Pickford DB et al. RESPONSE OF THE MAYFLY (CLOEON DIPTERUM – « éphémères ») TO CHRONIC EXPOSURE TO THIAMETHOXAM IN OUTDOOR MESOCOSMS. *Environ Toxicol Chem.* 2017 Nov 4. doi: 10.1002/etc.4028.



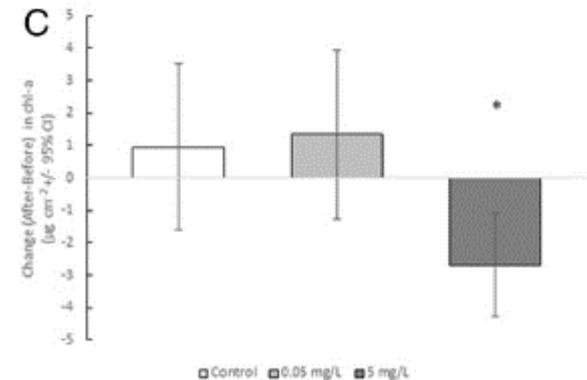
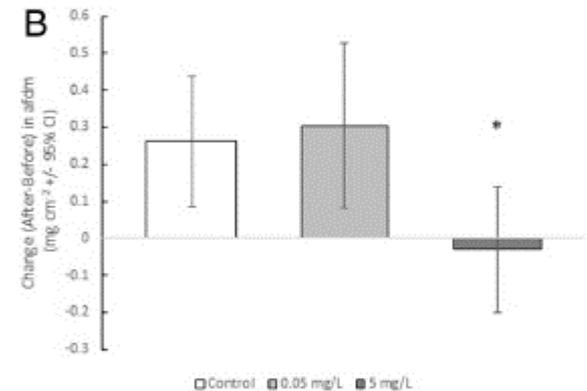
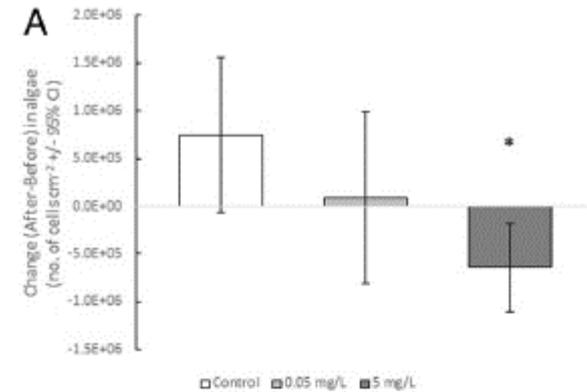
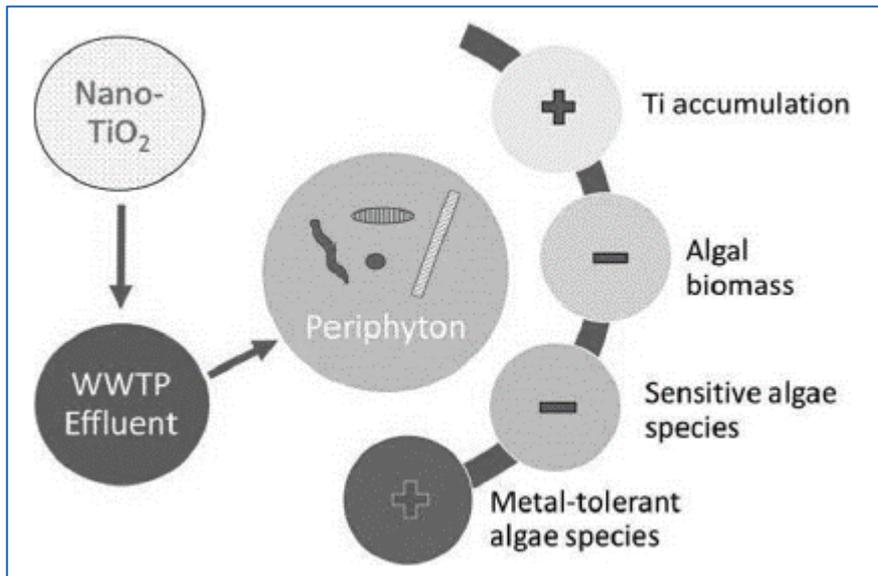
Exemple de dispositifs "aquatiques" : Effluents, PPP, ERA substances pharma et chimiques, Perturbateurs Endocriniens

*Titanium dioxide nanoparticle exposure reduces algal biomass and alters algal assemblage composition in wastewater effluent-dominated stream mesocosms*  
Wright et al., *Science of the Total Environment* 626 (2018) 357–365



Exemple de dispositifs "aquatiques" : Effluents, PPP, ERA substances pharma et chimiques, Perturbateurs Endocriniens

*Titanium dioxide nanoparticle exposure reduces algal biomass and alters algal assemblage composition in wastewater effluent-dominated stream mesocosms*  
 Wright et al., *Science of the Total Environment* 626 (2018) 357–365



### Conclusions

- Les études en mésocosmes permettent d'obtenir un niveau de réalisme bien supérieur aux tests mono-spécifiques/labos, adaptées aux substances et aux mélanges/effluents. Conditions d'exposition généralement plus réalistes → intègrent partiellement la PEC requise pour toute évaluation du risque (= pas uniquement mesure du danger).
- Limites des essais mono-spécifiques et des essais substances-spécifiques, notamment pour les problématiques "effets des mélanges" voire effet des PE.
- De plus en plus, l'intérêt est d'obtenir une mesure de l'effet combiné de tous les constituants d'un effluent/mélange complexe, intégrant de facto les effets synergiques, additifs ou antagonistes (**voir approche de type AOP**).
- Vers des techniques davantage holistiques comme le "whole effluent assessment (WEA)" pour compléter les approches actuelles : mésocosmes adaptés.



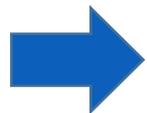
**Les études en mésocosme prennent tout leur sens dans ce contexte.**

### III - Les études en mésocosmes peuvent-elles être utilisées dans des approches AOP ?

Approches intégrées et PE → AOPs, du mécanisme d'action aux effets adverses.

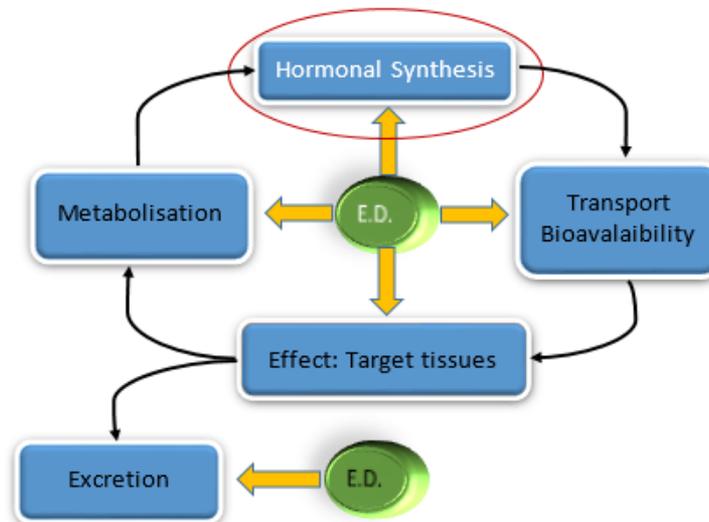
#### Définition de Adverse Outcome Pathway (AOP)

"An AOP is an analytical construct that describes a sequential chain of causally linked events at different levels of biological organization that lead to an adverse health or ecotoxicological effect" (OECD, 2012).



Particulièrement adapté à l'étude de l'effet des PE

- "An endocrine disruptor is an exogenous substance or mixture that alters function(s) of the endocrine system and consequently causes adverse health effects in an intact organism, or its progeny, or (sub)populations" (WHO, 2002).



### III - Les études en mésocosmes peuvent-elles être utilisées dans des approches AOP ?

#### Mécanismes d'action des PE : approche "standard"

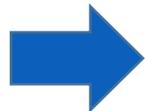
##### (1) Interaction with nuclear receptors:

- **Estrogen receptors** : **Vitellogenin** induction by Endocrine Disruptors agonists
- **Androgens receptors** : Stickleback **Spiggin** induction

##### (2) Independant mechanisms of receptors:

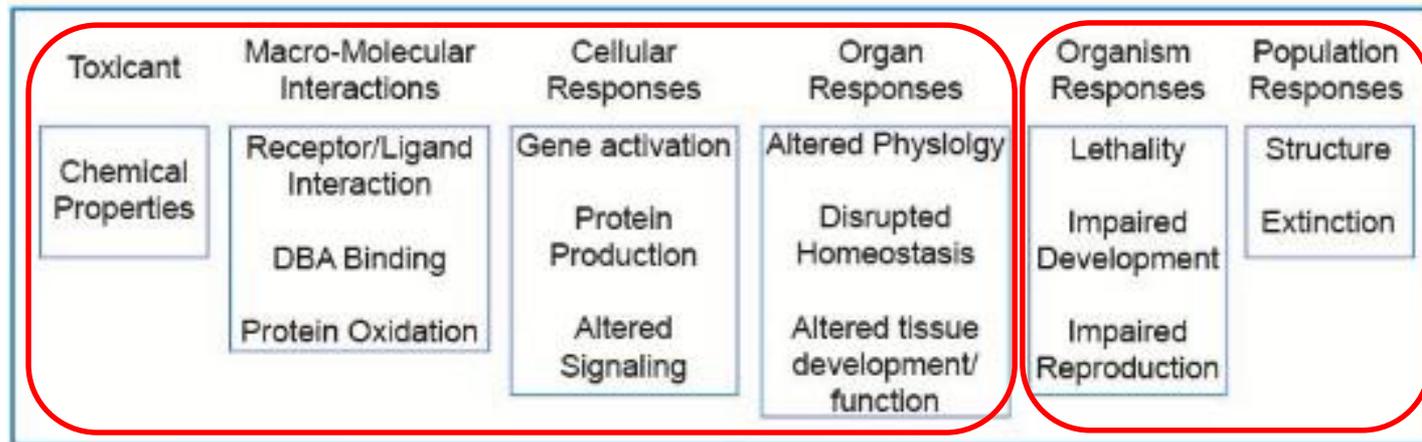
- Alteration in the **activity of P450 cytochromes** P450 implied in hormonal metabolism: catabolism and steroidogenesis (biosynthesis)

→ Facteur limitant : les MOA sont évalués et non les PE eux-mêmes.



**AOP concept** : regroupement de concepts/approches existantes

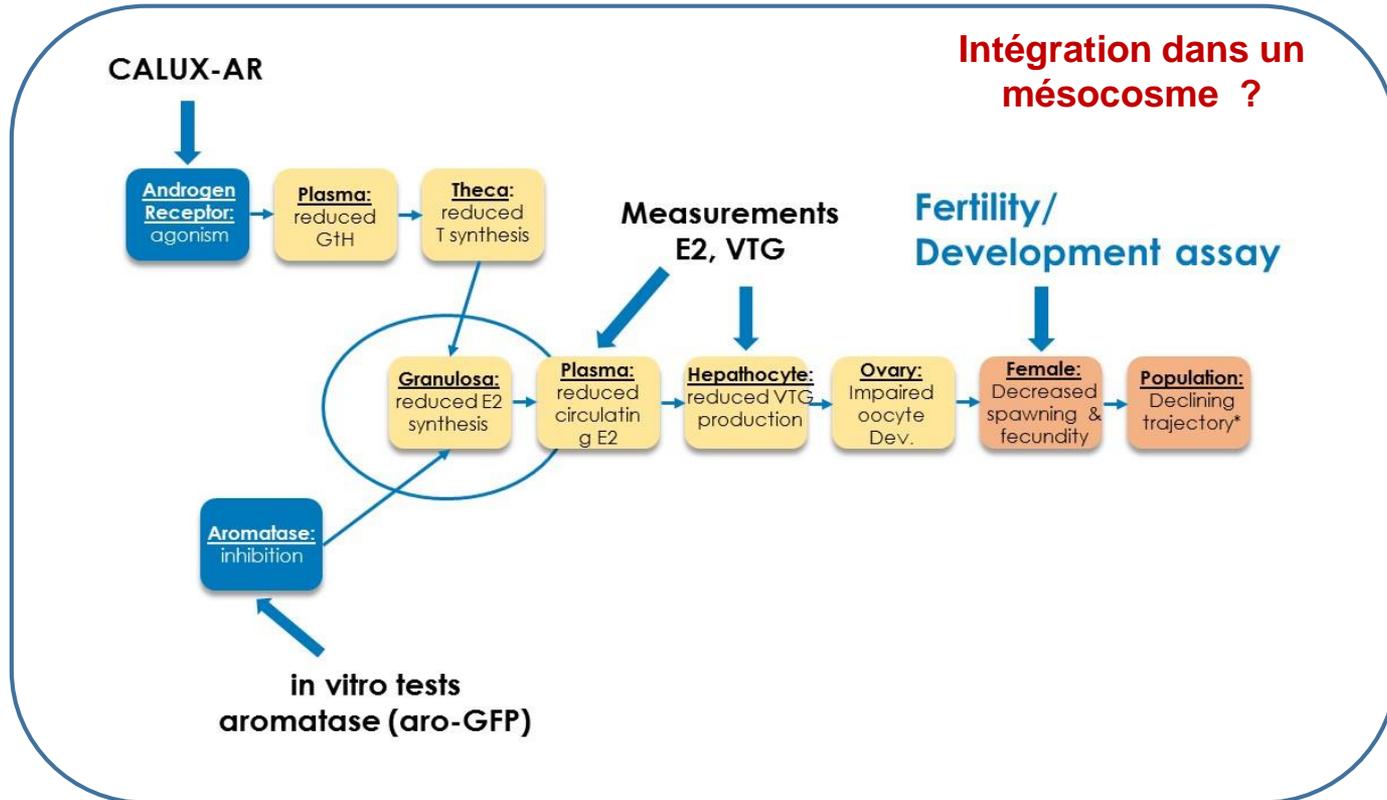
(*"Characterize, organize and define cause-and-effect relationships"*, from Ankley et al., 2010)



■ Relier un effet moléculaire mécanistique à un effet observable à l'échelle individuelle ou populationnelle, voire écosystémique.

### III - Les études en mésocosmes peuvent-elles être utilisées dans des approches AOP ?

#### Exemple d'AOP pour les PE



\* Unexpected metabolic disorders induced by endocrine disruptors in *Xenopus tropicalis* provide new lead for understanding amphibian decline. Regnault et al., PNAS May 8, 2018 115 (19) E4416-E4425.



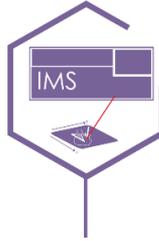
Development de biomarqueurs pertinents et réalisation des essais :  
intégration des essais comme sous-ensembles d'un étude en mésocosme.



Analytical and  
Bioanalytical  
Chemistry



Efficacy Trials



MALDI - TOF  
Imaging



Mesocosms  
Studies



Ecotoxicology  
and  
Environmental  
Toxicology



Substances  
Properties and  
Environmental  
Fate



Rovaltain Research  
COMPANY

**GLP (Good Laboratory Practice)**

*... Expands your horizons ...*

# Merci pour votre attention

***Pour toute demande de renseignements ou un chiffrage...***

*Bruno COMBOURIEU, [bcombourieu@rovaltainresearch.com](mailto:bcombourieu@rovaltainresearch.com)*

*Djamel BOUSSEFSAF, [dboussefsaf@rovaltainresearch.com](mailto:dboussefsaf@rovaltainresearch.com) (Présent sur notre stand)*

[rovaltainresearch.com](http://rovaltainresearch.com)

