

INERIS

*maîtriser le risque |
pour un développement durable |*

Perturbateurs endocriniens et biosurveillance des milieux aquatiques

14 mai 2009

Perturbateurs endocriniens dans l'environnement : l'INERIS développe des outils de caractérisation et de biosurveillance

Surveiller les risques liés aux substances chimiques, en particulier les polluants qui provoquent des perturbations endocriniennes, est un des enjeux importants de la mise en œuvre des réglementations récentes. L'INERIS, qui a initié le pôle national applicatif en toxicologie et écotoxicologie, explore les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens sur l'environnement. Afin de mesurer leur impact sur les écosystèmes, les équipes de recherche mettent au point des outils bio-analytiques de caractérisation des substances et des méthodes de surveillance des milieux fondées sur une approche multi-biomarqueurs.

La question de l'évaluation de l'impact des polluants ayant des effets perturbateurs endocriniens dans l'environnement est soulevée dans le cadre des réglementations récentes. En témoignent la Directive Cadre Eau de 2000, qui a pour objectif de parvenir au bon état chimique et écologique des milieux aquatiques et le règlement REACH¹, qui vise à protéger la santé humaine et l'environnement vis-à-vis des substances chimiques.

L'INERIS a initié le pôle national applicatif en toxicologie et écotoxicologie, lancé en janvier 2009. Le pôle répond aux attentes des acteurs du Grenelle de l'environnement qui préconise un renforcement en toxicologie et écotoxicologie pour garantir un environnement respectueux de la santé et de la biodiversité. Il a vocation à devenir le centre de référence sur les méthodes alternatives en expérimentation animale pour l'évaluation des substances chimiques.

Dans ce cadre, l'Institut étudie les perturbations endocriniennes générées par certaines substances chez les organismes vivant dans les milieux aquatiques, notamment en développant des recherches pour mieux connaître les mécanismes d'action de ces substances sur plusieurs espèces de poisson. Les premiers travaux ont porté sur les effets œstrogènes mimétiques. Ils ont contribué à mieux appréhender la complexité de l'impact des perturbateurs, qui interviennent sur différents mécanismes à divers stades de développement des organismes.

Ces recherches ont aussi permis de développer des outils fondés sur l'identification de marqueurs biologiques, capables de mettre en évidence l'effet « perturbateur endocrinien ». Ils sont utilisables à la fois dans le cadre de la caractérisation des substances et de la surveillance des milieux.

La caractérisation et la quantification des substances se sont notamment appuyées sur des méthodes de culture cellulaires *in vitro*. Ces bio-essais ont permis de détecter le potentiel perturbateur endocrinien de certains pesticides. Cette approche *in vitro* constitue l'un des axes de développement de méthodes alternatives en expérimentation animale, conformément aux exigences de la réglementation REACH.

En matière de surveillance des milieux, l'INERIS travaille sur une approche bio-analytique capable de prendre en compte le contexte de multi-pollution des milieux et les effets précoces des polluants sur les organismes aquatiques. Concernant les perturbateurs endocriniens, des outils de bio-surveillance utilisant des marqueurs d'exposition aux œstrogènes mimétiques (vitellogénine) et aux androgènes (spiggin) ont été mis au point. Cette approche « multi-biomarqueurs » ne se limite d'ailleurs pas aux perturbations endocriniennes : elle constitue une stratégie globale d'évaluation des effets de la contamination sur différentes fonctions physiologiques d'un organisme vivant (stress oxydant, neurotoxicité, immunotoxicité...).

¹ Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical substances : règlement du Parlement Européen et du Conseil n°1907/2006 du 18 décembre 2006, concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances.

Comprendre, caractériser et surveiller les perturbateurs endocriniens

Si la recherche a commencé à s'intéresser aux perturbateurs endocriniens (PE) dans les années 1960 en observant la féminisation d'oiseaux, de poissons et de mammifères au contact de substances chimiques, les perturbateurs endocriniens ne sont devenus une préoccupation environnementale de premier plan que dans les années 1990.

En effet, le terme « perturbateur endocrinien » est apparu en 1991 et la question des risques liés aux PE a été réellement posée par l'ouvrage *Our stolen future* de Theo Colborn, Dianne Dumanoski et John Peterson Myers. La première définition internationale du terme a été proposée par l'OCDE en 1997 : « Substances exogènes qui provoquent des effets néfastes sur la santé d'un organisme ou sa descendance, secondairement des changements de la fonction endocrine ».

Les effets des perturbateurs endocriniens²

Les perturbateurs endocriniens sont des substances exogènes qui altèrent la fonction endocrine et induisent des effets nocifs sur la santé d'un être vivant, voire de ses descendants. Les hormones régulent les fonctions de reproduction, de croissance et développement, de maintien de l'environnement interne de l'organisme et de disponibilité énergétique.

Les perturbateurs endocriniens agissent :

- En imitant l'action d'hormones naturelles telles que les œstrogènes ou la testostérone ;
- En bloquant les récepteurs des cellules recevant les hormones (récepteurs des hormones), empêchant ainsi l'action des hormones ;
- En agissant sur la synthèse, le transport, le métabolisme et l'excrétion des hormones, modifiant ainsi les concentrations d'hormones naturelles.

Le contexte réglementaire

Concernant les milieux, l'objectif fixé par la directive Cadre sur l'Eau de 2000 (DCE), transposée en droit français en 2004, est de parvenir à un bon état écologique et chimique des milieux aquatiques d'ici à 2015. Dans cette perspective, des programmes de surveillance de l'état chimique et écologique de ces milieux sont mis en place ainsi que des programmes d'action qui visent à réduire les émissions de « substances prioritaires », voire à les supprimer.

La question de la réglementation des polluants dits « émergents » et de leur surveillance en routine dans les milieux pose le problème de la fiabilité de la mesure. Les sources de pollution sont multiples : plastiques, médicaments, cosmétiques et parfums, pesticides et biocides, détergents, retardateurs de flammes, métaux... l'évaluation de ces polluants est donc complexe. Cependant nombre d'entre eux provoquent des effets de même nature sur la fonction endocrine ; ce sont ces effets qui seront recherchés pour étudier la contamination d'un milieu.

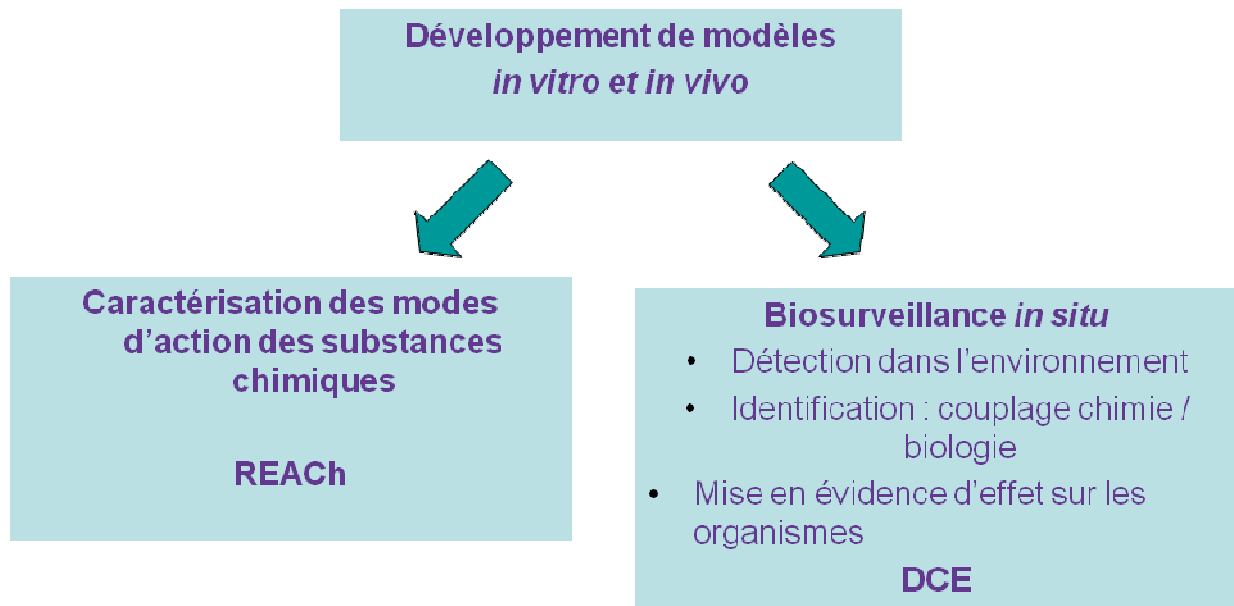
Le règlement européen REACH, entré en vigueur en France le 1^{er} juin 2007, représente une évolution majeure dans le domaine de la protection de la santé humaine et de l'environnement vis-à-vis des substances chimiques. L'évaluation et la gestion des risques liés aux substances sont confiées aux industriels. L'administration se consacrera à l'évaluation des substances prioritaires susceptibles de présenter le plus de risques pour la santé humaine ou pour les écosystèmes et à la définition des mesures de gestion des risques.

² *Les perturbateurs endocriniens : quels risques ?*, Comité de la Prévention et de la Précaution, Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, Paris, 19 décembre 2003.

Les substances extrêmement préoccupantes doivent être maîtrisées ou progressivement remplacées. Il s'agit des substances CMR (Cancérogènes, Mutagènes et toxiques pour la Reproduction), PBT (Persistantes, Bioaccumulables et Toxiques) et des substances ayant des effets graves, irréversibles sur l'être humain et l'environnement générant des préoccupations équivalentes aux précédentes, comme les perturbateurs endocriniens.

L'évaluation des risques écotoxicologiques liés aux perturbateurs endocriniens

Les recherches menées par l'INERIS depuis la fin des années 1990 visent à développer des outils biologiques *in vitro* et *in vivo* qui permettent de détecter et de caractériser le potentiel PE des substances chimiques, afin d'en évaluer les dangers et les risques. Ces outils répondent à une double préoccupation : la caractérisation des modes d'action des substances chimiques et la biosurveillance des milieux par la mise en évidence des effets sur les organismes.



La recherche sur les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens

Pour comprendre les mécanismes d'action des perturbateurs endocriniens, les équipes de l'INERIS ont travaillé à la fois avec des modèles *in vitro* (lignées cellulaires humaines et ichthyennes) et des organismes entiers de deux espèces : le poisson zèbre (*Danio rerio*) et l'épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*).

- Les modèles *in vitro* ont servi à évaluer les effets des PE sur plusieurs cibles moléculaires de la fonction endocrine : récepteurs nucléaires des hormones, stéroïdogénèse, métabolisme des xénobiotiques.
- Dans le cas de l'organisme entier, les études ont porté sur l'expression, au niveau du foie, du cerveau, du rein et de l'appareil sexuel (gonades), de gènes cibles hormono-régulés, impliqués dans la différenciation sexuelle et dans la capacité de reproduction.

Les premiers travaux se sont focalisés sur les propriétés « œstrogènes mimétiques » des polluants et leurs effets sur la reproduction chez le poisson. Ces polluants sont capables de « mimer » l'action des œstrogènes en se liant aux récepteurs des œstrogènes (agonistes). Les chercheurs de l'Institut ont ainsi caractérisé l'affinité des xénobiotiques pour les récepteurs. Chez les poissons, l'exposition à des molécules agonistes des récepteurs se traduit par une altération de la synthèse de protéines sous contrôle hormonal.

Ces recherches initiales ont mis en évidence la multiplicité des mécanismes d'action des PE, qui ne se limitent pas à la reprotoxicité due aux propriétés œstrogènes mimétiques. Les perturbateurs agissent sur d'autres fonctions physiologiques, et leurs effets sont différents selon les stades de développement des organismes. Afin de mieux considérer ces divers modes d'action, les travaux se sont orientés plus récemment vers l'étude des effets des PE sur les enzymes impliqués dans la stéroïdogénèse, processus par lequel les hormones stéroïdiennes sont synthétisées.

Dans la biosynthèse hormonale, l'enzyme cytochrome P450 aromatase, responsable de la conversion irréversible des androgènes en œstrogènes, joue un rôle majeur dans la différenciation sexuelle et la reproduction, mais aussi, au niveau du système nerveux central, dans la neurogenèse. Les études réalisées sur cet enzyme ont montré qu'il est une cible moléculaire et biochimique des perturbateurs endocriniens. Diverses classes de molécules chimiques sont donc susceptibles de perturber l'expression et l'activité d'aromatase cérébrale et gonadique.

Les outils de caractérisation des substances

En s'appuyant sur les connaissances acquises sur les mécanismes de la perturbation endocrinienne, l'INERIS satisfait sa vocation d'organisme de recherche appliqué en mettant au point des outils capables d'évaluer le potentiel perturbateur endocrinien de substances chimiques.

Les tests de bio-analyse *in vitro*

La caractérisation du potentiel « perturbateur endocrinien » de diverses substances chimiques a notamment été réalisée grâce à des bio-essais *in vitro*, qui font appel à des cultures cellulaires. Le criblage des substances chimiques s'est concentré sur deux familles de contaminants : les pesticides et les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), présents dans les dérivés de pétrole ou d'origine automobile.

Une approche multi-cibles est nécessaire pour évaluer le potentiel perturbateur endocrinien de substances chimiques. En effet, dans l'organisme, les différents mécanismes de régulation sont interconnectés et inter-régulés, l'ensemble contribuant au maintien du statut hormonal. Le panel de bio-essais prend donc en compte les effets potentiels des polluants sur différents mécanismes moléculaires qui interviennent dans les régulations endocrines.

Les essais évaluent l'interaction des polluants avec les récepteurs nucléaires (androgène ou œstrogène), avec le récepteur de la dioxine et avec des enzymes comme l'aromatase.

Ce type de tests présente un intérêt éthique dans la mesure où il constitue une alternative à l'expérimentation animale. L'approche *in vitro* répond ainsi aux exigences du règlement REACH et constitue un des axes de travail du pôle national applicatif en toxicologie et écotoxicologie lancé en 2009, qui a vocation à constituer le centre de référence sur les méthodes alternatives en expérimentation animale. Par ailleurs, son rapport coût/performance (faible coût, automatisation, rapidité) fait de ce type de bio-essai *in vitro* un outil particulièrement adapté au criblage des molécules chimiques.

La caractérisation des substances *in vivo*

L'INERIS travaille également sur le développement de stratégies et de tests de « criblage » *in vivo* pour identifier les substances endocrines actives et quantifier leurs effets chez les poissons.

Les poissons constituent en effet des organismes cibles particulièrement sensibles aux perturbateurs endocriniens : les expositions aux perturbateurs peuvent avoir lieu durant tout le cycle du développement (y compris durant les phases critiques) et les voies d'exposition sont multiples.

Le poisson zèbre (*Danio rerio*) est apparu comme une espèce particulièrement pertinente pour la caractérisation de substances. C'est une espèce recommandée par l'OCDE, membre d'une famille écologiquement importante de poissons (Cyprinidés). Elle offre de nombreux avantages pratiques qui trouvent leurs intérêts dans le contexte de la perturbation endocrinienne (transparence des embryons, élevage aisé et peu encombrant, reproduction et production importante d'embryons tout au long de l'année, génome séquencé, etc.).

L'impact de pesticides imidazolés comme le clotrimazole a ainsi été approfondi par des études *in vivo* : il s'avère que ces pesticides ont pour cible l'enzyme aromatasase, qui intervient dans la stéroïdogénèse, et agissent à la fois au niveau de la reproduction et de la neurogénèse. *In vivo*, les études ont montré l'importance de deux variables : les effets observés sont dépendants du tissu cible étudié et de la concentration d'exposition.

D'autres expérimentations *in vivo*, en milieu naturel et semi-naturel (mésocosme), ont conclu que les œstrogènes (oestradiol) et certains œstrogènes mimétiques (nonylphénol) altèrent eux aussi l'expression des aromatasases. Ces tests sont complémentaires des premiers tests *in vivo* mis au point pour ces substances, qui étaient fondés sur l'induction de la vitellogénine chez les poissons juvéniles ou mâles.

Le mésocosme, plate-forme en écotoxicologie

Le mésocosme est un dispositif expérimental clos utilisé dans les études écologiques sur les milieux aquatiques. Il permet d'étudier les effets des polluants sur les écosystèmes en simulant à moyenne échelle les conditions d'un milieu aquatique. C'est un outil indispensable à l'INERIS pour conduire ses études écotoxicologiques.

Intermédiaire entre les microcosmes de laboratoire et l'expérimentation en milieu naturel isolé par une enceinte ou un sac pélagique, le mésocosme sert à évaluer les effets à long terme et le devenir des substances chimiques sur les populations, les communautés et l'écosystème en son entier, en étudiant l'interaction des communautés et groupes fonctionnels entre eux. Le mésocosme de l'INERIS est constitué de douze canaux en béton de 20 m de long, 1 m de large et 30 à 70 cm de profondeur. Ces canaux contiennent les différents composants d'un écosystème : sédiments, bactéries, champignons, planctons, invertébrés, poissons, etc.

Avec ces moyens d'essais semi-naturels, l'objectif est de constituer des systèmes ayant leurs propres caractéristiques, dans lesquels vont pouvoir être mis en place des scénarios variés (organismes présents, nature de la contamination, etc.) et réalistes du point de vue écologique. Ces moyens d'essais permettront ainsi l'obtention de données pertinentes dans des conditions de faisabilité et de fiabilité satisfaisantes. Le mésocosme de l'INERIS permet de tester trois conditions expérimentales distinctes et un témoin, chaque situation étant étudiée en triplicat.

Les outils de biosurveillance des milieux aquatiques

L'évaluation des risques écotoxicologiques dans les milieux doit aujourd'hui être conduite dans un contexte de multi-pollution : pour être pertinent, les outils de surveillance doivent tenir compte de la complexité de la contamination et de ses effets précoces sur les organismes.

Une approche fondée sur « la chimie dirigée par la biologie »

Dans cette optique, l'INERIS travaille à la mise en place d'une stratégie globale d'utilisation de marqueurs biologiques. L'objectif est de développer un ensemble cohérent de biomarqueurs permettant d'évaluer les effets de la contamination sur différentes fonctions physiologiques d'un organisme vivant en milieu aquatique. La perturbation endocrinienne est l'une des perturbations étudiée par l'approche multi-biomarqueurs.

Les biomarqueurs : définition

Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant³. Les marqueurs biologiques sont apparus en écotoxicologie dans les années 80.

Ces outils ne sont pas destinés à se substituer à l'approche analytique classique, mais lui sont complémentaires : ils sont au service d'une approche de l'évaluation fondée sur « la chimie dirigée par la biologie ». Cette stratégie combine l'étude des propriétés physico-chimiques des polluants à l'analyse de l'impact biologique d'un polluant ou d'un groupe de polluants. Dans le cadre de l'évaluation d'un écosystème donné, l'analyse biologique aide à orienter l'analyse chimique sur les familles de substances à identifier et dont il faut mesurer la concentration.

L'approche biologique de la surveillance des milieux aquatiques présente plusieurs avantages :

- Les outils de biosurveillance sont des moyens de détection précoces, susceptibles de révéler un impact biologique sur les populations et les communautés animales avant que l'on observe une dégradation de la qualité chimique ou écologique du milieu.
- Ces outils ont la capacité de proposer une évaluation de l'effet des polluants « intégrée » dans le temps : ils permettent d'analyser la variation qualitative et quantitative de la contamination et ainsi de préciser le lien entre exposition des organismes et effets des polluants (par exemple, lorsque le polluant se dégrade dans le milieu ou lorsqu'il est rapidement métabolisable ou peu accumulable).
- Cette approche contribue à une meilleure compréhension des liens éventuels entre contamination chimique et effets écologiques : les espèces sélectionnées pour l'étude de biomarqueurs fournissent, en fonction de leur habitat et de leur position sur le réseau trophique, des informations sur le comportement des polluants dans l'écosystème.

L'approche multi-biomarqueurs

L'approche multi-biomarqueurs de l'INERIS est basée sur la mesure de marqueurs complémentaires spécifiques de la perturbation endocrinienne. Les travaux de recherche ont été poussés jusqu'à des applications pratiques, dans le cadre d'une surveillance opérationnelle : les biomarqueurs ont été utilisés sur des sites pollués pour caractériser la nature et l'origine d'impacts sur l'environnement.

³ Lagadec et alii, 1997.

La méthodologie de recherche

Pour valider les conditions et les limites d'utilisation de cette approche, l'INERIS travaille en trois étapes :

- Mise en évidence des biomarqueurs spécifiques des perturbateurs endocriniens, puis développement de méthodes de dosage de ces biomarqueurs.
- Caractérisation de la réponse des biomarqueurs, en conditions contrôlées, grâce à l'utilisation de molécules modèles, pour évaluer leur spécificité, sensibilité, inductibilité et réversibilité.
- Evaluation de la réponse des biomarqueurs sur le terrain, effectuée en partenariat avec l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA), afin de distinguer la réponse induite par un contaminant de la variabilité naturelle.

L'INERIS a conçu des méthodes *in vivo* pour la détection de marqueurs de la perturbation endocrinienne, dans des espèces utilisables comme espèces « sentinelles » par les écotoxicologues, car elles sont largement répandues dans les hydrosystèmes français et européens et très bien documentées : chevaine (*Leuciscus cephalus*), gardon (*Rutilus rutilus*), chabot (*Cottus gobio*), épinoche à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*). L'épinoche s'est révélé un modèle biologique particulièrement intéressant du fait de ses caractéristiques physiologiques et comportementales.

- Plusieurs méthodes immuno-enzymatiques de mesure de la vitellogénine, exprimée au niveau du foie, ont été mises au point par l'INERIS pour différentes espèces de poisson. L'expression de la vitellogénine normalement absente chez les mâles et les juvéniles témoigne de l'exposition présente ou passée de ces poissons à un ou plusieurs polluants œstrogènes mimétiques.
- Les chercheurs ont travaillé ensuite sur le dosage d'une protéine rénale de l'épinoche à trois épines, la spiggin, dont la synthèse est placée sous contrôle androgénique. La spiggin est utilisable pour évaluer l'exposition des poissons à des perturbateurs androgéniques.

L'approche multi-biomarqueurs n'est pas exclusive aux effets « perturbateurs endocriniens ». Dans une optique de stratégie globale d'évaluation, les biomarqueurs sont utilisés par les chercheurs de l'INERIS pour d'autres types d'effets : stress oxydant, biotransformation, neurotoxicité, immunotoxicité.

Biomarqueur	Type d'effet	Molécules de référence
Activité 7-éthoxyrésorufine-O-dééthylase (EROD)	Biotransformation	β -naphthoflavone
Glutathion-S-transférase (GST)	Biotransformation / Stress oxydant	Prochloraz
Superoxyde Dismutase (SOD)	Stress oxydant	Cuivre
Catalase (CAT)	Stress oxydant	Cuivre
Glutathion Peroxydase (GPx)	Stress oxydant	Cuivre
Glutathion total (GSH)	Stress oxydant	Cuivre
Lipoperoxydation (TBARS)	Stress oxydant	Cadmium, Diuron
Acétylcholinestérase (AChE)	Neurotoxicité	Fénitrothion
Vitellogénine (VTG)	Perturbation endocrinienne	17 β -oestradiol
Spiggin (SPG)	Perturbation endocrinienne	17 α -méthyltestostérone

L'INERIS et les risques liés à la pollution des milieux aquatiques

L'écotoxicologie à l'INERIS

Les écotoxicologues de l'INERIS développent les connaissances sur le devenir des substances chimiques et leurs effets sur les écosystèmes terrestres et aquatiques (eaux de surface).

- Ils effectuent des recherches et étudient les mécanismes de contamination des écosystèmes ainsi que les indicateurs de ces contaminations ;
- ils conçoivent des outils d'évaluation des dangers et risques des produits et substances ;
- ils réalisent des évaluations en appui à la réglementation des produits et aux études de site ;
- ils développent des essais et bio-essais sur l'eau, les sédiments, les sols et les déchets.

Depuis 1996, l'INERIS participe au programme national d'écotoxicologie (PNETOX) lancé par le Ministère chargé de l'Écologie ; il en assure aujourd'hui l'animation scientifique. PNETOX a pour vocation de soutenir des actions de recherche finalisée afin d'améliorer l'évaluation des dangers et des risques liés à la présence de substances toxiques dans l'environnement. Il répond ainsi à la demande des pouvoirs publics en matière d'expertise, de conseil et de recherche finalisée et associe les chercheurs et les parties prenantes de l'industrie, l'agriculture, les aménageurs, des collectivités locales, dans une coproduction des savoirs en matière de pollution de l'environnement.

L'INERIS et l'IFREMER collaborent depuis 2001 au sein d'une cellule mixte d'Analyse des Risques Chimiques (ARC) en milieu marin basée à Nantes. Elle couvre trois domaines de compétence : le comportement des substances chimiques en milieu marin, l'écologie et l'écotoxicologie marine, les méthodologies d'analyse du risque chimique en milieu marin. La Cellule ARC est à la fois une structure opérationnelle apportant son expertise aux pouvoirs publics et une structure de réflexion méthodologique sur l'analyse de ce type de risque.

La collaboration avec l'ONEMA

L'INERIS et l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) ont engagé en 2008 des actions communes de recherche et d'expertise dans des domaines-clés de l'écotoxicologie :

- La détermination des concentrations de polluants admissibles dans les milieux aquatiques (concentrations sans effets attendus sur les espèces vivant dans les écosystèmes aquatiques – PNEC). L'INERIS doit proposer 80 normes de qualité et entretenir une base de données sur les constantes écotoxicologiques de 600 substances.
- La mise au point de systèmes de mesure fiables et harmonisés des polluants réglementés et émergents, notamment grâce au réseau AQUAREF. Les méthodes analytiques doivent en effet progresser pour améliorer les limites de détection qui restent parfois insuffisantes.
- La modélisation des transferts de polluants pour connaître les sources de pollution et prévoir les concentrations attendues dans le milieu. La caractérisation des filières industrielles et la détermination de l'origine des polluants permettent de hiérarchiser les substances pour répondre aux enjeux du programme national de réduction des substances dans l'eau.
- La prédiction de l'impact d'une substance chimique sur le milieu (valeurs de référence, seuils opérationnels indispensables à l'application de la DCE, mécanismes d'action des substances chimiques et risques écotoxicologiques) : par exemple, l'identification de biomarqueurs pour surveiller l'effet des mélanges de polluants dans les cours d'eau.
- Les travaux sur les filières pour optimiser les stratégies de réduction des rejets.

La coordination du réseau AQUAREF

L'INERIS coordonne depuis 2007 le réseau AQUAREF, laboratoire national de référence de l'eau et des milieux aquatiques initié par le Ministère chargé de l'Écologie. Il associe les compétences scientifiques et techniques de quatre autres établissements publics : l'institut de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement (CEMAGREF), l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER), le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM) et le Laboratoire National de métrologie et d'Essais (LNE).

AQUAREF assiste les autorités publiques et les intervenants techniques (Agences de l'eau, DREAL, collectivités locales,...) dans la définition et la mise en œuvre des programmes de surveillance des milieux aquatiques. L'INERIS anime les activités du laboratoire dans le domaine des substances chimiques et le CEMAGREF dans le domaine de l'hydrobiologie.

Depuis mars 2009, les actualités du laboratoire sont consultables sur www.aquaref.fr

L'INERIS, membre fondateur du réseau européen NORMAN

L'INERIS participe au réseau européen NORMAN depuis sa création en septembre 2005. Ce réseau, soutenu par la Commission Européenne (6^{ème} Programme Cadre pour la Recherche et le Développement Technologique), met en relation des laboratoires nationaux de référence, des équipes de recherche et des organismes chargés de la surveillance des polluants émergents dans l'environnement.

L'objectif de NORMAN est triple :

- Stimuler l'échange d'informations et la collecte de données sur les substances chimiques émergentes ;
- Encourager la validation et l'harmonisation de méthodes d'évaluation et d'outils de surveillance communs pour mieux répondre aux besoins des acteurs de l'environnement ;
- Améliorer la connaissance sur les polluants émergents, notamment au travers de projets interdisciplinaires communs aux membres du réseau.

NORMAN est devenu un réseau permanent de huit partenaires en octobre 2008, qui a lancé un programme d'activités pour la période 2009-2011. Les activités de NORMAN incluent la constitution de groupes thématiques d'experts, la tenue d'ateliers d'échanges et de partage d'expérience, le développement de bases de données et la validation de méthodes de mesure et de surveillance.

Le pôle national applicatif en toxicologie et écotoxicologie

UNE REPONSE AUX ATTENTES DES ACTEURS ECONOMIQUES ET DE L'ETAT

Le Grenelle de l'environnement

En 2007, le Grenelle de l'environnement a préconisé un renforcement de la toxicologie et de l'écotoxicologie pour garantir un environnement respectueux de la santé.

Le Comité Opérationnel sur la Recherche, dans son rapport final (septembre 2008), propose « *d'encourager la mise en réseau de l'ensemble des acteurs de la recherche sur les mécanismes de toxicité et d'assurer l'émergence d'un centre d'une taille critique de niveau international. Il est donc recommandé de créer un pôle national couplant la toxicologie et l'écotoxicologie et de lui donner les moyens d'atteindre une dimension internationale* ».

Il a également précisé dans son rapport final que « *le renforcement proposé du pôle existant en sud Picardie autour de l'INERIS et de l'Université de Technologie de Compiègne contribuerait efficacement au développement de la toxicologie et de l'écotoxicologie comme recommandé dans le cadre du Grenelle* ».

Le règlement REACH

La mise en œuvre du règlement REACH sur les produits chimiques et les exigences d'un environnement respectueux de la santé imposent un effort de recherche et d'innovation.

Dans la perspective ouverte par le règlement REACH, le pôle national applicatif en toxicologie et écotoxicologie a vocation à constituer le **centre de référence sur les méthodes d'évaluation des produits chimiques alternatives aux essais sur animaux**.

DES PARTENARIATS FORTS AU NIVEAU REGIONAL...

L'INERIS a développé de longue date des liens forts avec ses partenaires académiques en Picardie. Ainsi, le pôle s'appuie sur les ressources de quatre partenaires régionaux : **l'INERIS, l'Université de Technologie de Compiègne (UTC) ; l'Université de Picardie Jules Verne (UPJV) et l'Institut Polytechnique LaSalle Beauvais**.

Dès le 25 septembre 2008, la « **Fondation UTC pour l'innovation** » a été lancée et l'INERIS est l'un des tout premiers membres fondateurs. Cette fondation a notamment pour objectif de soutenir le développement en Picardie du pôle national « applicatif » en toxicologie et écotoxicologie. En 2008 l'INERIS a doté de 3 millions d'euros le programme en toxicologie et écotoxicologie mis en place avec cette Fondation.

Ce programme d'activités, pour la période 2009-2011, est centré sur des objectifs appliqués découlant du règlement REACH et du Grenelle de l'environnement :

- développer une toxicologie et une écotoxicologie prédictives, réduisant ainsi le recours à l'expérimentation animale et étant plus efficace dans la détection des risques émergents ;
- améliorer les outils de bio surveillance pour l'homme et les espèces de l'environnement.

...ET AU NIVEAU NATIONAL

- Le réseau scientifique **ANTIOPEs** réunit les équipes de toxicologues et écotoxicologues de 11 organismes de recherche français. ANTIOPEs a vocation à développer des méthodes et des outils en toxicologie prédictive à finalité environnement santé. Le réseau réunit aujourd'hui, en plus de l'INERIS, de l'UTC, de l'UPJV et de l'Institut LaSalle Beauvais, le CEA, le CRITT Chimie PACA, l'INRA, l'INSERM, l'Université de Marseille, l'Université de Paris VII, l'Université de Metz.

- L'INERIS a conclu avec le **CEA** un accord sur l'analyse et la maîtrise des risques toxicologiques et environnementaux. La collaboration porte notamment sur les risques associés aux **nanoparticules et aux nanopoudres**.
- Pour répondre aux exigences de la **directive cadre eau** qui vise à l'horizon 2015 le bon état écologique et chimique des eaux, l'INERIS développe en partenariat des travaux en chimie analytique et en écotoxicologie. Il coordonne le consortium **AQUAREF** qui rassemble l'Ifremer, l'INERIS, le LNE, le BRGM et le Cemagref et appuie les autorités publiques pour définir et mettre en œuvre les programmes de surveillance des milieux aquatiques. Par ailleurs, un **accord cadre** a été signé avec l'**Onema** pour lutter contre les pollutions chimiques dans les milieux aquatiques.

DES EQUIPEMENTS STRATEGIQUES

Animex, plate-forme de validation de méthodes alternatives

L'INERIS et l'Institut Polytechnique LaSalle Beauvais sont à l'origine de ce projet, qui a pour but de répondre aux besoins en bio-essais engendrés par le développement des études de toxicologie environnementale ainsi qu'aux travaux de qualification des méthodes alternatives en expérimentation animale requises par l'application du règlement REACH.

Cette plate-forme, financée par l'Etat et la région Picardie dans le cadre du CPER (Contrat de Projet Etat-Région) 2007-2013, recouvre deux plateaux techniques : ANIMEX-Chimie à l'INERIS (voie d'exposition : inhalation) et ANIMEX-Biologie à l'Institut Polytechnique LaSalle Beauvais (voie d'exposition : ingestion).

Le mésocosme, plate-forme en écotoxicologie

Le mésocosme est un dispositif expérimental clos utilisé dans les études écologiques sur les milieux aquatiques. Il permet d'étudier les effets des polluants sur les écosystèmes en simulant à moyenne échelle les conditions d'un milieu aquatique. C'est un outil indispensable à l'INERIS pour conduire ses études écotoxicologiques.

Le mésocosme de l'INERIS est constitué de douze canaux en béton de 20 m de long, 1 m de large et 30 à 70 cm de profondeur. Ces canaux contiennent les différents composants d'un écosystème : sédiments, bactéries, champignons, planctons, invertébrés, poissons, etc.

UNE RECHERCHE APPLIQUEE EN SANTE-ENVIRONNEMENT

Les actions de recherche combinent des approches *in vitro*, *in vivo* et *in silico* aux différentes échelles du vivant pour proposer de nouveaux outils d'analyse toxicologique et écotoxicologique applicables à la **surveillance des milieux et à la prédiction des dangers** de substances ou agents physiques. Elles s'articulent autour de grands domaines comme les nanotechnologies, les champs électromagnétiques...

Le pôle bénéficie des travaux de l'équipe mixte INERIS-UPJV intitulée « **PériTox : Périnatalité et Risques Toxiques** » qui est une première au niveau national. Ils portent plus particulièrement sur : les effets des perturbateurs endocriniens sur la reproduction, les effets des champs électromagnétiques de la téléphonie mobile sur les rythmes biologiques et le sommeil.

L'INERIS en bref

18 ans d'existence et 60 ans d'expérience : un expert héritier d'un savoir-faire issu des secteurs des mines, de l'énergie et de la chimie.

L'INERIS, établissement public à caractère industriel et commercial placé sous la tutelle du ministère chargé de l'environnement, a été créé en 1990. Il est né d'une restructuration du Centre de Recherche des Charbonnages de France (CERCHAR) et de l'Institut de Recherche Chimique Appliquée (IRCHA), et bénéficie d'un héritage de plus de 60 ans de recherche et d'expertise reconnues.

- Un effectif total de 600 personnes dont 450 ingénieurs et chercheurs.
- 40 spécialistes des géosciences basés à Nancy dans le cadre d'activités de recherche et d'expertise sur les risques liés à l'Après-Mine.
- Un siège dans l'Oise, à Verneuil-en-Halatte : 50 hectares, dont 25 utilisés pour des plates-formes d'essais, 25 000 m² de laboratoires.

Domaines de compétence :	Activité (quelques chiffres) :
<ul style="list-style-type: none">▪ Risques accidentels : sites Seveso, TMD, malveillance, dispositifs technologiques de sécurité, GHS▪ Risques chroniques : pollution de l'eau et de l'air, sols pollués, substances et produits chimiques, CEM, REACH, environnement-santé▪ Sols et sous-sols : cavités, après-mine, émanations de gaz, filière CCS▪ Certification, formation, outils d'aide à la gestion des risques	<ul style="list-style-type: none">▪ Recettes : 63 M€ en 2008<ul style="list-style-type: none">▪ LOLF : 55 %▪ Contrats : 45 %▪ Recherche amont et partenariale : 25 %▪ Appui aux pouvoirs publics : 50 %▪ Expertise réglementaire : 25 %▪ Expertise conseil▪ 3 M€ de CA à l'export en particulier en Europe et en Afrique méditerranéenne.

Une déontologie et une gouvernance reconnues de longue date

- Des règles de déontologie encadrent l'indépendance des avis de l'INERIS. Un comité indépendant suit l'application de ces règles et rend compte chaque année depuis 2001 directement au Conseil d'Administration.
- Un conseil scientifique et des commissions scientifiques évaluent les projets de recherche ainsi que les équipes depuis 1997. Un comité d'éthique suit les pratiques de recours et d'essais en animalerie.
- L'INERIS est certifié ISO 9001 : 2000 depuis 2001 ; plusieurs laboratoires disposent d'agrèments COFRAC ou BPL.

Acteur de l'Europe de la recherche, l'INERIS s'intègre à l'Europe de l'expertise

- L'INERIS assure le secrétariat de la plate-forme European Technology Platform on Industrial Safety qui rassemble plus de 150 partenaires publics ou privés. Son succès a conduit la DG Recherche à confier à ETPIS des thématiques telles que les nanotechnologies.
- L'Institut est engagé dans plusieurs partenariats pérennes issus de projets européens : le GEIE EU-Vri avec la fondation allemande Steinbeis (plus de 100 M€ en 2006 en recherche partenariale), L-Surf Services (partenaires suédois, allemands et suisses)...

Une démarche de développement durable

Conformément au Contrat d'objectifs le liant avec son autorité de tutelle, l'INERIS a engagé une démarche de développement durable qui repose sur une recherche d'économies et de pratiques éthiques : un accord d'entreprise en faveur du travail des handicapés a par exemple été signé en septembre 2007 et un audit énergétique a été réalisé afin de veiller à une utilisation optimale des énergies.