



**Biodisponibilité des éléments traces métalliques et des radionucléides en milieu aquatique continental.
Implications pour l'évaluation du risque écologique dans un contexte de multi-contamination.**

Rodolphe Gilbin

► **To cite this version:**

Rodolphe Gilbin. Biodisponibilité des éléments traces métalliques et des radionucléides en milieu aquatique continental. Implications pour l'évaluation du risque écologique dans un contexte de multi-contamination.. Biodiversité et Ecologie. Université Montpellier 1, 2013. tel-02929478

HAL Id: tel-02929478

<https://irsn.hal.science/tel-02929478>

Submitted on 3 Sep 2020

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

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

Mémoire
présenté devant l'Université Montpellier 1

pour l'obtention de l'

Habilitation à Diriger des Recherches

par

Rodolphe GILBIN

Docteur de l'Université Montpellier 1

Chercheur à l'Institut de Radioprotection et de Sécurité Nucléaire

**Biodisponibilité des éléments traces métalliques et des radionucléides
en milieu aquatique continental**
*Implications pour l'évaluation du risque écologique
dans un contexte de multi-contamination*

Soutenance le 24 juin 2013 à Cadarache (13) devant un jury composé de :

SLAVEYKOVA Vera (rapporteur)	professeure, Université de Genève (CH)
QUEMENEUR Eric (rapporteur)	directeur de recherche, CEA
VANDENHOVE Hildegard (rapporteur)	directrice de recherche, SCK.CEN (Belgique)
CASELLAS Claude	professeure, Université Montpellier 1
GOMEZ Elena	professeure, Université Montpellier 1
GARNIER-LAPLACE Jacqueline	chercheuse HDR, IRSN

TABLE DES MATIERES

Introduction générale	17
1 Danger écotoxique des éléments traces métalliques et des radionucléides pour les organismes aquatiques : recherche de réponses biologiques sensibles et prédictives des conséquences écologiques ..	21
1.1 CONTEXTE ET DEMARCHE SCIENTIFIQUE.....	21
1.2 COMPLEXITE DES REPONSES DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE : SPECIFICITE DES REPONSES FACE A DIVERS STRESSEURS	22
1.3 GENOTOXICITE ET STRESS OXYDATIF : DES MARQUEURS DE REPONSE SENSIBLE ET POTENTIELLEMENT INFORMATIF DES EFFETS ECOTOXIQUES A UNE ECHELLE D'ORGANISATION SUPERIEURE	24
1.4 EFFETS SUR LA DYNAMIQUE DE POPULATION: L'APPROCHE DEB POUR INTEGRER LES EFFETS SUR LES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE	26
1.5 INTEGRATION DES CONNAISSANCES ACQUISES POUR L'EVALUATION DU RISQUE ECOLOGIQUE : DETERMINATION DE VALEURS GUIDES POUR LA PROTECTION DES ECOSYSTEMES	29
2 Biodisponibilité des éléments traces métalliques et des radionucléides en milieu aquatique : influence de la spéciation chimique	32
2.1 CONTEXTE ET DEMARCHE SCIENTIFIQUE.....	32
2.2 APPORTS DE LA MODELISATION DE LA SPECIATION CHIMIQUE POUR ESTIMER LA BIODISPONIBILITE ...	33
2.3 APPORTS DE LA MESURE DE LABILITE POUR ESTIMER LA BIODISPONIBILITE	36
2.4 INTEGRATION DES CONNAISSANCES ACQUISES SUR LA BIODISPONIBILITE POUR L'EVALUATION DU RISQUE ECOLOGIQUE : APPORTS ET LIMITES DES DIFFERENTES APPROCHES.....	37
3 Exposition des organismes aquatiques à des substances multiples : effets conjoints, risque cumulé et mise en évidence des interactions	42
3.1 CONTEXTE ET DEMARCHE SCIENTIFIQUE.....	42
3.2 IDENTIFICATION D'ANTAGONISME ET SYNERGIE DES RADIONUCLEIDES AVEC DES ELEMENTS TRACES .	43
3.3 INTEGRATION DES CONNAISSANCES ACQUISES POUR L'EVALUATION DU RISQUE ECOLOGIQUE CUMULE DES SUBSTANCES EN MELANGE.....	45
Références bibliographiques.....	55

Il est difficile de faire un bilan honnête de sa contribution, de plus quand il s'est déroulé en grande partie en collaboration avec de nombreuses personnes. Je ne voudrais donc surtout pas paraître présomptueux en m'attribuant seul le mérite du travail présenté dans ce mémoire. Certains diront qu'ils s'en seraient pour le moins étonnés de la part d'une personne qu'ils ont connu anxieuse et si peu sûre d'elle, mais mieux valait le préciser : la science est aussi (et surtout) affaire de construction collective et de relations humaines qu'il est précieux de préserver !

« L'art c'est moi, la science c'est nous. »

Claude Bernard (1885). Introduction à l'étude de la médecine expérimentale.

Je souhaite avant tout que soit reconnu le travail de chacun des collaborateurs qui m'ont fait confiance au cours de ces dix années de recherche. J'ai compté près d'une centaine de co-auteurs auxquels nos noms sont associés dans des publications, communications à congrès ou autres rapports... je vous remercie tous chaleureusement !

je voudrais commencer par dire ici toute ma gratitude aux scientifiques qui ne sont pas visibles dans ce mémoire, mais auprès de qui j'ai beaucoup appris : pour l'aide, les conseils, ou tout simplement pour l'exemple à suivre que vous m'avez procurés, merci en particulier à Paul Blanc, Catherine Massiani, Annette Bérard, Philippe Hinsinger, Philippe Arrizabalaga, Walter Wildi, Claude Fortin... Un grand merci à tous les collaborateurs qui ont contribué à ce travail et aux réflexions associées : les étudiants qui m'ont supporté quelques mois (Arnould K, Frizet P, Sevestre A, Guillemain M, Lesieur A, Wiktor V, Della-Vedova C, Bidegain L, Bakkaus E) ou toute une thèse (Margerit A, Réty C, Zeman F, Al Kaddissi S, Massarin S, Bourrachot S, Buzier R, Devez A), les collègues de l'IRSN à durée déterminée (Herlory O, Pereira S, Pelfrène A, Mathews T, Geoffro, L) ou indéterminée (tous mes collègues du L2BT et du SERIS, ainsi qu'à PRP-ENV, DGE et HOM), mes collègues en France à EDF (Ciffroy P, Grote M, Charlatchka R), au CEA (Ansoborlo E, Bion E, Moulin V, Berthomieu C, Chapon V, Cournac L), à l'Ineris (Péry A, Pandard P, Tack K), à Hydrosiences Montpellier (Casellas C, Gomez E, Fenet H, Elbaz-Poulichet F, Casiot C, Seidel JL, Aliaume C), à l'Irstea (Gourlay C, Tusseau MH, Garric J), à l'Onema (Perceval O), à l'INRA (Hinsinger P, P Blanc, JP Bosse, A Bérard) et ailleurs en Europe (Oughton D, Hertel-Aas T, Jolliet O, Payet J, Fuma S, Fortin C, Dominik J, Guéguen C, Ph Arrizabalaga, Vandenhove H, Zinger I, Avila R...).

Mes activités de recherche s'inscrivent dans le cadre des enjeux actuels de la protection de l'environnement vis-à-vis des éléments traces métalliques (ETM) et des radionucléides. J'ai développé mes activités de recherche principalement au sein de l'IRSN (Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire), au sein duquel je suis chercheur depuis fin 2002. Chef du Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie de 2007 à 2011, puis du Laboratoire de Biogéochimie, Biodisponibilité et Transferts des radionucléides depuis début 2012, j'ai exercé mes activités principalement au sein du projet ENVIRHOM-Eco que je pilote depuis 2008.

Ma démarche a été d'allier des études expérimentales couplées à la conception de modèles avec la représentation des processus observés par des modèles, dans un double but de prédire l'exposition (ex. extrapolation à des situations réelles) et d'utilisation opérationnelle pour la caractérisation du risque écologique. Mes recherches s'articulent autour de trois thématiques principales dont la synthèse est présentée dans ce mémoire :

- **la caractérisation du danger des ETM et des radionucléides pour les organismes aquatiques (Chapitre 1)**

Ma recherche s'est tout d'abord appuyée sur la conduite de bioessais d'écotoxicité sur différents organismes aquatiques (ex. algues, daphnies) et le développement de marqueurs de réponse sensibles (ex. stress oxydatif, génotoxicité) et représentatifs de la physiologie et de la dynamique de population des espèces. Les différents projets dans lesquels je me suis impliqué m'ont permis de traiter différentes situations d'exposition (uranium, sélénium, cuivre, irradiation externe gamma, contamination interne par des émetteurs alpha et beta, respectivement avec l' ^{241}Am , le ^3H). Les résultats obtenus sur les effets de l'irradiation gamma et la synthèse de ceux issus de la littérature ont notamment été utilisés pour proposer une méthodologie et des critères de protection radiologique génériques pour les écosystèmes (ERICA).

- **La détermination de la biodisponibilité des ETM et des radionucléides pour les organismes aquatiques (Chapitre 2)**

Mon objectif a été de préciser le lien entre la biodisponibilité pour les organismes aquatiques et la spéciation chimique des contaminants en solution (cuivre, uranium). Les résultats obtenus ont permis de valider, mais surtout de déterminer les limites d'application d'outils analytiques permettant la mesure de la labilité des métaux (DPASV, DGT) et de modèles (modèle de l'ion libre, du ligand biotique), notamment pour la prise en compte de la biodisponibilité dans un cadre réglementaire, comme pour la surveillance de l'état chimique des masses d'eau (Directive cadre sur l'eau), la détermination d'une Norme de Qualité Environnementale pour l'uranium, et son intégration dans la démarche d'évaluation du risque écologique.

- **La prise en compte des expositions conjointes à de multiples contaminants (stables et radioactifs) dans les écosystèmes aquatiques (Chapitre 3)**

Nos travaux ont mis en évidence que les évaluations du risque écologique liés aux rejets urbains ou industriels aboutissent souvent à l'identification de plusieurs contaminants (radioactifs et stables) à risque potentiel, alors que les connaissances et méthodes utilisées ne permettent pas de représenter de manière pertinente ces mélanges. Ainsi, mon objectif a été d'identifier les interactions entre contaminants stables et radioactifs (ex. U+Se, Cu+³H) par la confrontation des résultats expérimentaux avec les modèles couramment admis d'addition des concentrations et d'indépendance d'action.

A l'issue de ce bilan, mon projet visera à confronter des méthodes d'évaluation du risque écologique *a priori* (détermination du danger en laboratoire) à des informations *in situ* de caractérisation d'une part de la pression de contamination par des contaminants radioactifs et stables et d'autre part de la santé des écosystèmes. L'objectif de ce projet collaboratif sera double : (1) lever les différents verrous scientifiques et méthodologiques qui limitent encore la détermination du danger par l'extrapolation des connaissances expérimentales (maîtrise des conditions d'exposition en modulant la biodisponibilité, lien avec les concentrations et les doses internes, élargissement des modèles de biodisponibilité et d'effet conjoints à des contaminants multiples) ; (2) la validation des outils de mesure de la biodisponibilité dans des échantillons complexes (ex. présence de matière organique naturelle ...) pour en permettre à terme un utilisation pour la surveillance et la quantification des expositions aux ETM et aux radionucléides.

Synthèse des travaux scientifiques effectués

La synthèse ci-après se réfère aux travaux de recherche menés en collaboration dans différents projets, avec l'aide des étudiants (les projets, collaborations et étudiants sont référencés en gras dans le texte). Les références aux travaux publiés sont indiquées entre crochets.

Introduction générale

L'évaluation du risque écologique est née du besoin pour nos sociétés industrielles de déterminer les conséquences des activités humaines sur l'environnement (Suter, 1993). C'est une démarche (Figure 1) qui vise à déterminer la probabilité que des effets écologiques défavorables surviennent par suite de l'exposition, prévisible ou réelle, à un ou plusieurs facteurs de stress (USEPA, 1992), et permettre ainsi les prises de décisions adaptées en matière de gestion environnementale. Cette démarche nécessite donc d'organiser les connaissances scientifiques qui permettent de comprendre et de prévoir les relations entre d'une part, l'exposition à un ou plusieurs facteurs de stress (substances chimiques, rayonnements ionisants, stress physiques...), et d'autre part les effets écologiques. Elle nécessite aussi de spécifier le niveau de certitude (et d'incertitude) scientifique des données, modèles et hypothèses sous-jacentes.

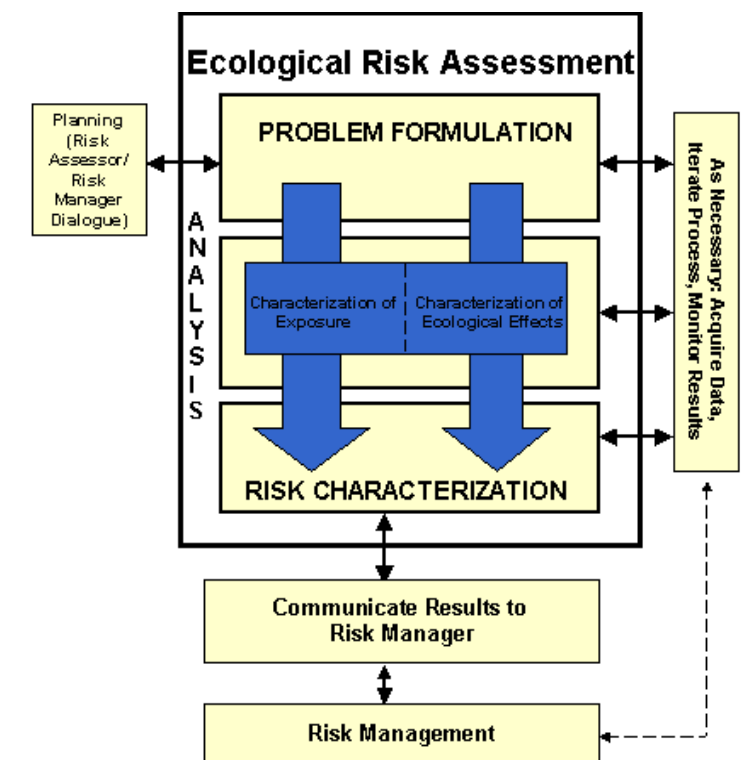


Figure 1 : Scéma de la démarche d'évaluation du risque écologique (USEPA, 1998)

La recherche en écotoxicologie, qui a pour but de comprendre les processus de transfert des substances chimiques dans les biotopes et les biocénoses, ainsi que leur transformation et leurs effets sur les organismes vivants et sur les processus écologiques fondamentaux, constitue la base scientifique de l'évaluation du risque écologique. Concernant les substances radioactives dont il est question en radioécologie, certaines spécificités demandent d'adapter l'approche (nature chimique des substances

radioactives, mais surtout quantification de l'exposition aux rayonnements ionisants par un calcul de dose¹), mais les enjeux scientifiques de la radioécologie et de l'écotoxicologie sont largement partagés.

L'adaptation et la mise en place d'une démarche cohérente d'évaluation des risques se heurtent en particulier à la faiblesse des connaissances caractérisant les expositions et les effets écologiques des substances chimiques et radioactives dans le domaine des expositions chroniques à faible niveau. Par exemple, les données permettant l'élaboration de relations de type «dose-réponse biologique» pour les substances radioactives sont parcellaires (principalement issues d'exposition externe gamma - Garnier-Laplace *et al.*, 2004 [AP04a]) et les perspectives établies depuis plusieurs années dans le domaine de la radioprotection de l'environnement font état de ces lacunes (Adam-Guillermin *et al.*, 2006 [AP06a]).

Une approche pragmatique pour pallier aux fortes incertitudes dans la caractérisation du risque écologique consiste à adopter une approche graduée et conservative dans la détermination des expositions et des effets. Par exemple, les méthodes aujourd'hui en vigueur au niveau européen pour l'évaluation du risque écologique des substances chimiques sont essentiellement issues des 'Technical Guidance Documents' (European Commission, 2003). Elles sont basées sur l'établissement pour chaque substance d'un rapport entre une Concentration Prévisible dans le milieu (dite PEC pour 'Predicted Environmental Concentration') et une Concentration Prévisible Sans Effet (dite PNEC pour 'Predicted Non Effect Concentration'). Cette dernière concentration est estimée en première approche à partir des bioessais d'écotoxicité réalisés en laboratoire, dans le but de déterminer le danger écotoxique de chaque substance isolément et dans des conditions standard.

Dans ce contexte, les réponses biologiques déterminées travers des bioessais doivent être suffisamment représentatives des conséquences sur la physiologie d'un organisme, et au final de la perturbation des processus écologiques que l'on cherche à représenter. Il est en outre primordial de déterminer dans quelle mesure les réponses biologiques observées au laboratoire, dans des conditions d'exposition standardisées, peuvent être extrapolées à des conditions d'exposition réelles dans le milieu. En particulier, dans de nombreux cas les écosystèmes sont exposés à plusieurs facteurs de stress, alors que les connaissances et méthodes utilisées ne permettent pas de représenter *a priori* les effets conjoints dans un contexte de multi-contamination.

Ainsi, notre objectif a été de comprendre la complexité des relations entre les expositions aux éléments traces métalliques (ETM) et aux radionucléides et les réponses biologiques des organismes, en se focalisant sur des organismes aquatiques modèles couramment utilisés en écotoxicologie. Trois axes ont été abordés :

¹ le concept de dose (ou débit de dose) radiologique est utilisé pour déterminer le niveau d'exposition aux rayonnements ionisants. Son unité est le Gray (Gy), le débit de dose étant défini par rapport au temps (ex. µGy/h)

- 1- **La détermination du danger écotoxique (Chapitre 1) :** Notre recherche s'est appuyée sur la conduite de bioessais d'écotoxicité sur différents organismes aquatiques (ex. algues, daphnies, poissons), tout en développant, par des collaborations, des marqueurs de réponse sensibles (ex. stress oxydatif, génotoxicité) et représentatifs de la physiologie et de la dynamique de population des espèces. Notre démarche a été de chercher à déterminer la représentativité des informations issues de bioessais classiques par deux voies :
 - a. la compréhension des modes d'action (stress oxydatif, génotoxicité, métabolisme énergétique) à l'origine de réponses des organismes, dans le but d'identifier les réponses partagées ou au contraire spécifiques à différentes situations d'exposition (éléments traces métalliques stables, uranium, radionucléides émetteurs alpha, bêta et gamma) ;
 - b. l'extrapolation des réponses individuelles par l'utilisation de modèles physiologiques basés sur la dynamique énergétique (approche DEB tox) et de dynamique de population.

- 2- **La détermination de la biodisponibilité (Chapitre 8).** Notre démarche a été de déterminer l'influence de la spéciation chimique des ETM et des radionucléides sur leur biodisponibilité. Les deux voies que nous avons explorées ont été :
 - a. la compréhension du lien entre la biodisponibilité et les réponses biologiques dans des conditions d'exposition pour lesquelles la spéciation chimique est parfaitement caractérisée : cette condition est nécessaire pour permettre la validation des modèles de biodisponibilité et l'extrapolation des connaissances acquises à d'autres conditions d'exposition ;
 - b. le développement et la validation de méthodes permettant une mesure *in situ* des concentrations biodisponibles dans les milieux (fractionnement par taille, DGT, polarographie).

- 3- **La mise en évidence des effets conjoints** pour des expositions à de multiples substances (**Chapitre 3**), dans le but de déterminer les éventuelles synergies qui pourraient remettre en cause le caractère conservatif des approches basées sur l'évaluation du risque cumulé. Notre démarche a été d'identifier les interactions entre contaminants stables et radioactifs (ex. U+Se, Cu+³H) par la confrontation des résultats expérimentaux avec les modèles couramment admis d'addition des concentrations et d'indépendance d'action.

Pour chacun de ces trois axes, les acquis de nos recherches ont été utilisés pour améliorer la détermination de critères de protection pour les écosystèmes, en particulier en y intégrant les connaissances acquises sur la biodisponibilité et le contexte de multi-contamination, et en se confrontant à des cas d'étude réels. Chacun des trois chapitres ci-dessous présente donc, après quelques éléments de contexte, les avancées de recherche menées, puis de quelle manière les connaissances acquises ont été utilisées dans le cadre de l'évaluation du risque écologique des éléments traces métalliques et des radionucléides.

1 Danger écotoxique des éléments traces métalliques et des radionucléides pour les organismes aquatiques : recherche de réponses biologiques sensibles et prédictives des conséquences écologiques

16 publications internationales (ACL05b, ACL06a, [ACL06a](#), [ACL06b](#), [ACL07a](#), ACL08a, [ACL08b](#), [ACL08d](#), [ACL08e](#), [ACL08f](#), [ACL09a](#), ACL10a, ACL11a, ACL11c, ACL12a, [ACL12b](#))

Principales communications complémentaires : 2 articles à comité de lecture nationale (ACLN08a, ACLN09a), 1 chapitre d'ouvrage (OS09a), 4 rapports (AP04a, AP06a, AP09a, AP10b)

Encadrement de 3 stagiaires (S. Bourrachot, 2005 ; V. Wiktor, 2004 ; C. Della-Vedova, 2004), co-encadrement de 2 thèses (F Zeman, 2008 ; C. Réty, 2010) et participation à l'encadrement de 2 thèses (S. Massarin, 2010 ; S. Al Kaddissi, 2012)

Collaborations : IRSN (Frédéric Alonzo, Christelle Adam-Guillermin, Karine Beaugelin-Seiller, Jacqueline Garnier-Laplace, Laure Geoffroy, Catherine Lecomte-Pradines, Teresa Mathews, Sandrine Pereira, Olivier Simon), Ineris (A Péry, R Beaudouin), EDF R&D (Ph Ciffroy, M Grote), NIRS (Shoichi Fuma), EPOC (P Gonzalez, A Legay)

Programmes de recherche : ENVIRHOM-Eco, ERICA, GGP-Environnement, HEMI-Breaks

1.1 Contexte et démarche scientifique

Dans l'idéal, la détermination du danger écotoxique des substances s'effectue dans des conditions aussi proches que possibles des écosystèmes naturels (écosystème reconstitué en mésocosme ou études *in situ*). Cependant, compte tenu des coûts qu'engendrent la mise en œuvre de tels tests, leur utilisation pour évaluer les dangers de l'ensemble des substances existantes reste limitée. Depuis les premières études réalisées à ce sujet dans les années 1970, une démarche plus pragmatique a conduit au développement d'un ensemble de bioessais et à leur standardisation par les instances internationales ou nationales (Forbes et Calow, 2002a). Néanmoins, afin d'assurer une représentativité suffisante de la diversité d'un écosystème, la démarche consiste à sélectionner des organismes modèles des différents niveaux trophiques des écosystèmes (ex. producteurs primaires, consommateurs de premier et deuxième ordre...). Plusieurs ouvrages de référence détaillent ces approches (e.g. Ramade, 2007 ; Forbes et Forbes, 2002).

La démarche empirique la plus répandue pour la détermination du danger écotoxique d'une substance sur un organisme réside dans l'établissement, dans des conditions de laboratoire contrôlées, de relations doses-réponse qui relie de manière quantitative une probabilité et une intensité d'effet à une exposition donnée. Pour cela, des outils ont été proposés depuis plusieurs décennies (cette méthodologie pour l'établissement de relations dose-réponses, ainsi que les outils statistiques associés, est détaillée dans Gilbin *et al.*, 2008 [OS09b] et Garnier-Laplace *et al.*, 2004 - [AP04a]). Dans la pratique, différentes concentrations de polluant sont testées, et l'effet (mort des organismes, inhibition d'activités métaboliques...) exprimé par rapport à la réponse du contrôle (**Figure 2**).

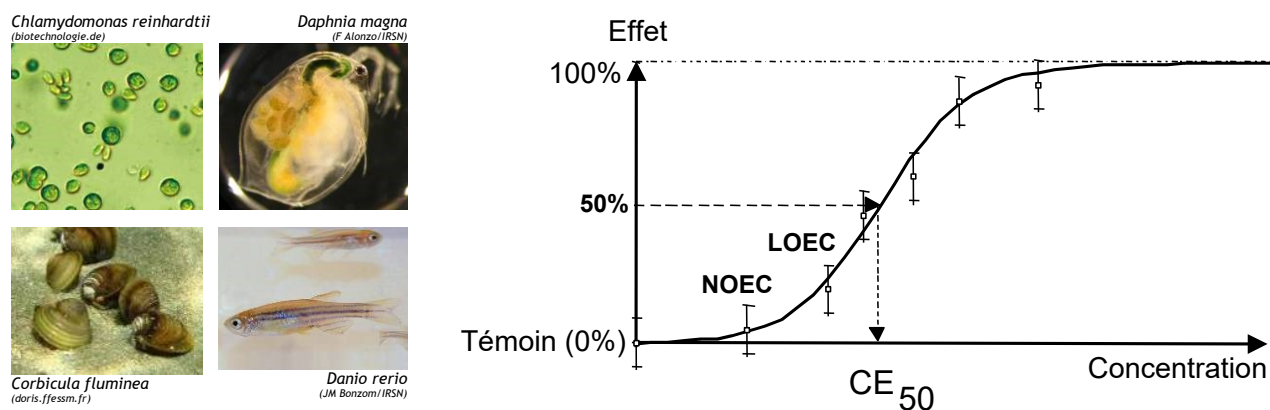


Figure 2 : Exemple des modèles biologiques utilisés pour l'établissement de relations dose-réponse (gauche) et représentation schématique de la relation dose-réponse type obtenue lors d'un bioessai (CE₅₀ = concentration effective à 50% ; NOEC = « No Observed Effect Concentration » ; LOEC = « Lowest Observed Effect Concentration »).

C'est ainsi que notre travail s'est principalement axé sur des algues unicellulaires (ex. *Chlamydomonas reinhardtii*) comme modèle de consommateur primaire, des invertébrés consommateurs de premier ordre comme le microcrustacé *Daphnia magna* ou le bivalve filtreur *Corbicula fluminea*, et sur des consommateurs de second ordre comme l'écrevisse *Procambarus klarkii* et le poisson *Danio rerio*.

En cohérence avec la stratégie du programme ENVIRHOM-Eco, et dans le cadre des différents projets liés (ERICA, GGP environnement, HEMI-Breaks), les réponses des organismes aux ETM et radionucléides ont en premier lieu été étudiées à l'échelle de l'individu pour des processus biologiques fondamentaux (traits d'histoire de vie, comme la survie, le succès reproducteur, la croissance somatique... §1.2) en lien avec la compréhension des modes d'action moléculaires et métaboliques sous-jacents (§1.3). Dans un second temps, le but a été d'intégrer les connaissances acquises à l'échelle de l'individu pour mieux prédire les conséquences à une échelle d'intégration supérieure, celui de la population (§1.4). Les principales études menées sont synthétisées ci-dessous. Enfin, les connaissances acquises ont été intégrées, parmi les autres connaissances issues de la littérature, dans une démarche visant à déterminer des critères de protection pour les écosystèmes vis-à-vis des radionucléides (§1.5).

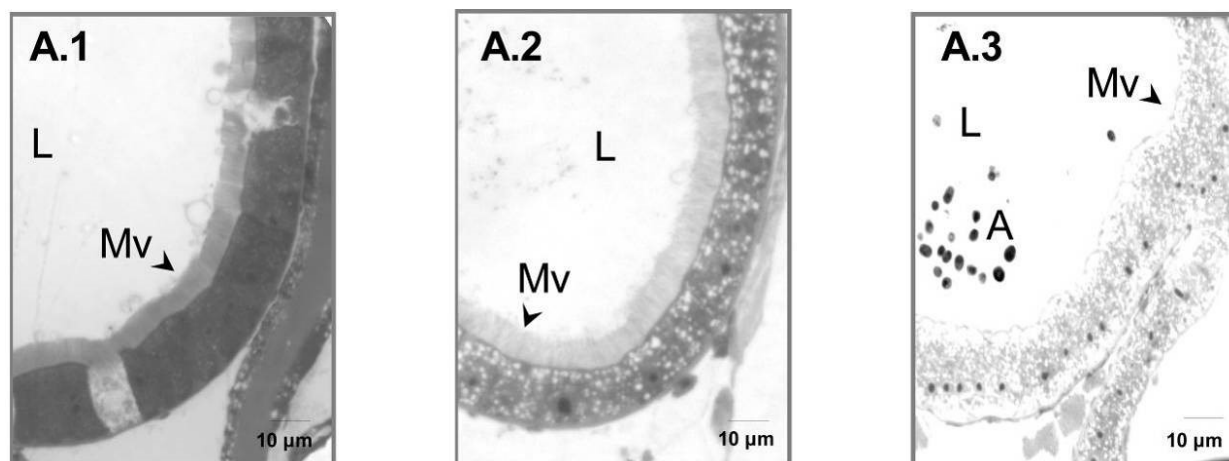
1.2 Complexité des réponses des traits d'histoire de vie : spécificité des réponses face à divers stressseurs

Les effets chroniques de l'irradiation interne alpha ont été étudiés pour la première fois sur le modèle de microcrustacé *Daphnia magna* (effets sublétaux durant 23 jours d'exposition) dans les travaux de **post-doctorat de Frédéric Alonzo** co-financé par le projet ERICA (Alonzo *et al.*, 2006 [ACL06a]). Les daphnies exposées à l'²⁴¹Am (0,4 à 40 Bq/ml dans le milieu, correspondant à un débit de dose interne de 20 à 990 µGy/h suite à sa bioaccumulation) ont montré une baisse de croissance somatique dès 110 µGy/h, sans effet significatif observé sur la fécondité, mais néanmoins accompagnée d'un accroissement de la demande respiratoire des individus, suggérant un coût métabolique accru en réponse à l'irradiation alpha.

En comparaison, la réponse dans des conditions identiques de *D. magna* à l'irradiation gamma pour des débits de dose similaires et plus élevés (410 à 31000 µGy/h) n'a montré aucun effet significatif sur la croissance somatique, la respiration ou encore l'ingestion de nourriture (Gilbin *et al.*, 2008 [ACL08e]).

Cependant, au plus fort débit de dose d'exposition, les pontes ont été libérées précocement et une baisse de la fécondité totale a pu être observée, les juvéniles montrant une moindre résistance. Ces résultats suggèrent un effet direct de l'irradiation externe gamma sur la fécondité et la résistance larvaire plutôt qu'un mécanisme de réduction des réserves énergétiques des œufs.

Pour un troisième scénario d'exposition, celui de l'uranium naturel, les travaux de **thèse de Florence Zeman** (Zeman *et al.*, 2008 [ACL08f]) ont montré des effets chroniques sur la fécondité des daphnies exposées ($CE_{10} = 14 \pm 7 \mu\text{g/L U}$). De même que pour les irradiations externes gamma et ^{241}Am , cette réponse sensible de la fécondité ne signifie pas que les modes d'action sont partagés : les réponses à l'uranium sont en effet observées à un débit de dose radiologique très faible (EDR_{10-21j} sur la fécondité estimée à un débit de dose interne de 2 à 5 $\mu\text{Gy/h}$ pour l'uranium naturel, même pour un isotope d'uranium artificiel plus énergétique comme ^{233}U (CE_{10-21j} entre 17 et 71 $\mu\text{g/L } ^{233}\text{U}$, pour un EDR_{10} estimé à 480-950 $\mu\text{Gy/h}$ - travaux complémentaires dans le cadre du **Master de Stéphanie Bourrachot** et de l'accueil de **Shoichi Fuma**, chercheur du NIRS [AFF06a ; AFF06b]). De plus l'uranium, contrairement à ^{241}Am , n'est pas à l'origine d'effets importants sur le taux respiratoire, mais provoque surtout une baisse de l'ingestion de nourriture qui décroît fortement l'énergie disponible pour la croissance et la reproduction (Calcul du Scope for Growth [ACL08e]). Ce mode d'action a été vérifié dans le cadre des travaux de **thèse de Sandrine Massarin** (Massarin *et al.*, 2010 [ACL10a]) dans lesquels l'utilisation de nourriture marquée au ^{14}C a permis de quantifier la diminution d'assimilation de carbone par les daphnies, en lien probable avec les dommages importants des cellules intestinales de la paroi du tube digestif en présence d'uranium observés au microscope optique : apparition de microvillosités, gonflement des cellules épithéliales... (**Figure 3**).



L : lumière ; Mv : microvillosités ; A : algues

*Figure 3 : Observations au microscope optique de tube digestif de Daphnia magna contrôle (A.1) et exposées pendant 21 jours à 50 $\mu\text{g/L U}$ (A.2) et 100 $\mu\text{g/L U}$ (A.3) (observations issues du travail de thèse de Florence Zeman (2008) - Massarin *et al.*, 2011 [ACL11c]).*

➤ *Ces études ont permis de montrer que les réponses des traits d'histoire de vie de la daphnie dépendent du type d'exposition considéré (irradiation externe ou interne, mode d'action chimique ou radiologique), et qu'elles sont issues de modes d'action potentiellement différents (effets directs des rayonnements gamma sur la fécondité, augmentation du coût métabolique pour une irradiation interne à l'²⁴¹Am, diminution de l'assimilation pour l'uranium). De plus, si les réponses biologiques peuvent en première approche paraître peu significatives (ex. de l'²⁴¹Am), une perturbation subtile comme la production d'œufs plus petits, potentiellement moins résistants aux variations environnementales (par exemple à un jeûne temporaire) pourrait avoir des conséquences non négligeables après 2 ou 3 générations.*

A la suite de ce travail, nous avons donc été amenés à explorer 2 voies distinctes : mieux comprendre les mécanismes d'action mis en jeu dans la réponse biologique des organismes (travaux décrits ci-dessous, §1.3) et déterminer les conséquences des altérations du métabolisme énergétique sur les générations suivantes et la dynamique de population (voir §1.4).

1.3 Génotoxicité et stress oxydatif : des marqueurs de réponse sensible et potentiellement informatif des effets écotoxiques à une échelle d'organisation supérieure

Le mécanisme d'action des rayonnements ionisants par la production de cassures double brin de l'ADN a fait l'objet de plusieurs décennies de recherche en radiobiologie. Les marqueurs de cassures double-brin et de réparation de l'ADN apparaissent donc comme des outils potentiellement pertinents pour mieux comprendre les réponses biologiques aux radionucléides. Par ailleurs, les effets contrôlés par la perturbation de la balance oxydative et l'apparition de dommages issus du stress oxydatif constituent aussi un mécanisme d'action bien documenté. Ainsi, les marqueurs d'expression génique et enzymatiques liés à la régulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) ont fait l'objet de développements depuis le démarrage du projet **ENVIRHOM-Eco** à l'IRSN.

Les effets génotoxiques et le stress oxydatif sont des modes d'action des radionucléides partagés avec de nombreux contaminants chimiques organiques et métalliques. Le cas de l'uranium est emblématique, puisqu'il a été montré que son mécanisme d'action est probablement plus lié à ses propriétés chimiques (dont la perturbation de la balance oxydative à l'origine potentielle de divers dommages oxydatifs) qu'à ses propriétés radiologiques, à l'image de nombreux métaux traces. Cet aspect a notamment fait l'objet des travaux menés dans le cadre du projet ANR **HEMI-Breaks**, qui a permis d'adapter plusieurs marqueurs moléculaires sensibles des cassures double-brin induites par les métaux traces (dont l'uranium) au modèle poisson *Danio rerio* puis de les appliquer *in vitro* et *in vivo* à l'étude des effets du rayonnement externe gamma. Ces travaux ont été menés en collaboration avec les chercheurs du projet **ENVIRHOM-Eco** à l'IRSN (Christelle Adam-Guillermin, Catherine Lecomte-Pradines, Olivier Simon) sur le modèle poisson, sur des modèles d'invertébré (bivalve, écrevisse) et sur des algues.

Les travaux menés dans le cadre du **post-doctorat de Sandrine Pereira** co-financé par le projet ANR **HEMI-Breaks** (Pereira *et al.*, 2011 [ACL11d]) ont permis de quantifier les cassures double brin de l'ADN et de déterminer l'efficacité de la voie non-homologue NHEJ (gamma-H2AX, DNAPK, micronoyaux) à réparer les cassures simple brin (essai comet en condition alcaline) induites par l'exposition à l'irradiation gamma du poisson *Danio rerio in vitro* (lignée de cellules embryonnaires ZF4) et *in vivo* (embryons). Une

comparaison des réponses obtenues après irradiation aigue ponctuelle (0,3 à 2 Gy à un débit de dose de 1 Gy/min) et continue (40 à 31250 μ Gy/h pendant 24h, soit 0,01 à 0,75 Gy) a montré que les dommages résiduels de l'ADN sont plus importants lors de l'irradiation continue, sans pour autant altérer le développement embryonnaire. Ce résultat pourrait être lié à l'activation d'autres voies de réparation de l'ADN (ex. recombinaison homologue) ou au renouvellement des cellules altérées lors du développement embryonnaire. Cette étude confirme donc la pertinence de marqueurs de dommage et de réparation de l'ADN comme des outils sensibles et précoces pour déterminer l'exposition aux rayonnements ionisants, mais aussi de la nécessité d'explorer les dommages et les différentes voies de réparation par des outils complémentaires. La continuité de ce travail a récemment permis de mettre en évidence la génotoxicité de l'uranium *in vitro* sur cellules ZF4 (Pereira *et al.*, 2012), suggérant une diminution de l'efficacité de la voie de réparation NHEJ en présence de cadmium, comme déjà suggéré pour le cadmium (Viau *et al.*, 2008), et l'activation potentielle de voies de réparation alternatives non spécifiques.

Concernant la validation de marqueurs de stress oxydatif, les travaux de **thèse de Simona Al Kaddissi** encadrée par **Olivier Simon** à l'IRSN (collaboration avec l'Université Bordeaux 1, **EPOC**, **Patrice Gonzalez** **Alexia Legay**) ont permis, dans un premier temps, d'identifier les effets aigus de l'uranium (0.03 à 8 mg/L, 4 à 10j) sur l'écrevisse *Procambarus clarkii* (Al Kaddissi *et al.*, 2011 [ACL11a]) : l'étude a montré la tolérance à l'uranium de cette espèce (faible mortalité observée), avec des niveaux d'accumulation dans les organes clés (branchie, hépatopancréas) probablement lié à la mise en place d'un mécanisme de détoxification (formes précipitées dans l'épithélium des branchies). L'étude a montré une répression des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydatif (sod(Mn)) et mitochondriaux (cox1) corrélée aux niveaux de bioaccumulation, accompagnée de dommages histologiques de l'épithélium branchial. Par la suite (Al Kaddissi *et al.*, 2012 [ACL12a]), l'étude des effets lors d'une exposition chronique à l'uranium (30 et 60 jours, 30 μ g/L U) a confirmé la perturbation de l'expression des gènes mitochondriaux (12s, atp6, cox1), des gènes impliqués dans la réponse au stress oxydatif (sod(Mn), mt), ainsi que l'activité des enzymes antioxydantes (SOD, CAT, GPX, GST - **Figure 4**). Ces résultats ont permis de proposer un possible mécanisme de cytotoxicité de l'uranium, associé à une toxicité mitochondriale par l'action de métabolites réducteurs sur l'uranium et la production d'espèces réactives de l'oxygène, comme proposé par Pourahmad *et al.* (2006) dans une étude *in vitro* sur des hépatocytes de rats.

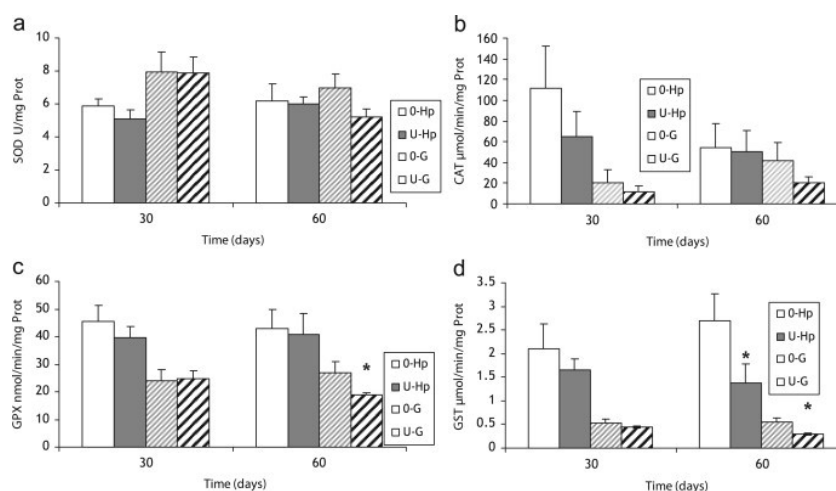


Figure 4 : Activités enzymatiques (SOD, CAT, GPX, GST) dans les branchies (G) et l'hépatopancréas (Hp) de *Procambarus clarkii* après 30 et 60 jours à 0 (control) et 30 μ g/L d'uranium. (*)P<0.05 (Al Kaddissi *et al.*, 2012, [ACL12a])

Une démarche similaire sur un modèle végétal (algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* - Pradines *et al.*, 2005, [ACL05b], résultats issus du **Master de Virginie Wiktor** en 2004) nous a conduit à rechercher les réponses précoces de l'uranium par la mesure de marqueurs enzymatiques de stress oxydatifs (ratio GSH/GSSG) et de détoxification (production de phytochélatines). Comme pour les métallothionéines sur les modèles animaux, l'uranium n'a pas montré de capacité à induire de phytochélatines, contrairement aux essais menés avec du cadmium. Les marqueurs enzymatiques de stress oxydatifs n'ont pas montré une sensibilité suffisante pour détecter une réponse à l'uranium et, au final, les réponses les plus sensibles ont été mesurées sur l'activité photosynthétique (fluorescence de la chlorophylle) et la mesure de croissance de la population algale. En effet, la sensibilité de la mesure de fluorescence chlorophyllienne, en lien avec l'identification d'une altération de l'ultrastructure des chloroplastes, a pu être optimisée dans le cadre des travaux de **post-doctorat de Laure Geoffroy** (2006-2007) ayant visé à déterminer les effets écotoxiques du séléniate sur l'algue unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* (Geoffroy *et al.*, 2007 [ACL07a]). L'utilisation de la fluorescence modulée (PAM, Pulse Amplitude Modulated fluorescence) a en particulier montré la pertinence de la détermination du rendement opérationnel de photosynthèse comme marqueur de réponse sensible au séléniate. Enfin, afin de compléter notre capacité à mesurer une réponse sensible de l'algue *Chlamydomonas reinhardtii* à des contaminants pro-oxydants, la mesure de ROS par une sonde fluorescente (DCFDA) a été adaptée et optimisée d'après Knauert and Knauer (2008). Ce développement a fait l'objet du stage de **Master d'Aurélié Sevestre** (2008) et a pu être utilisé avec succès afin de déterminer les interactions du tritium et du cuivre dans le cadre de la **thèse de Céline Réty** (Réty *et al.*, 2012 [ACL12b]), travaux menés dans le cadre du projet **GGP-Environnement** en collaboration avec **Philippe Ciffroy** et **Matthias Grote** (EDF R&D).

➡ *Le travail de recherche effectué nous a permis de valider différents outils moléculaires et cellulaires, confirmant la pertinence des marqueurs de génotoxicité et de stress oxydatif comme marqueurs de réponse sensibles et informatifs sur les modes d'action et les effets écotoxiques à une échelle d'organisation supérieure. Il reste encore beaucoup à faire dans la compréhension des mécanismes fondamentaux d'interaction entre les ETM et les rayonnements ionisants avec le vivant, et ce travail va bien au-delà des travaux ici présentés (ils sont conduits par ailleurs dans le cadre du projet ENVIRHOM-Eco et de collaborations menées par d'autres chercheurs de l'équipe).*

1.4 Effets sur la dynamique de population: l'approche DEB pour intégrer les effets sur les traits d'histoire de vie

Les effets des radionucléides au niveau de la population sont intégrateurs des réponses mesurées au niveau individuel. Cependant, bien que ce niveau soit écologiquement plus pertinent, la quantification de la réponse d'une population à un contaminant est rendue difficile par la complexité des facteurs environnementaux dont ils dépendent (conditions trophiques, pression de prédation, effet de la densité...). Sous certaines hypothèses, des modèles permettent d'estimer le taux de croissance de la population. Une des approches les plus efficaces permet de prendre en compte la structure interne des populations : structurées en classes d'âge en fonction de leur cycle de vie (cohortes), cette approche rend ainsi la propagation des réponses observées sur les différents stades de vie écologiquement plus

pertinente (Figure 5a). Une équation différentielle considère une décroissance exponentielle de l'abondance pour chaque cohorte avec le temps et permet en particulier de déterminer le taux asymptotique d'accroissement de la population (λ).

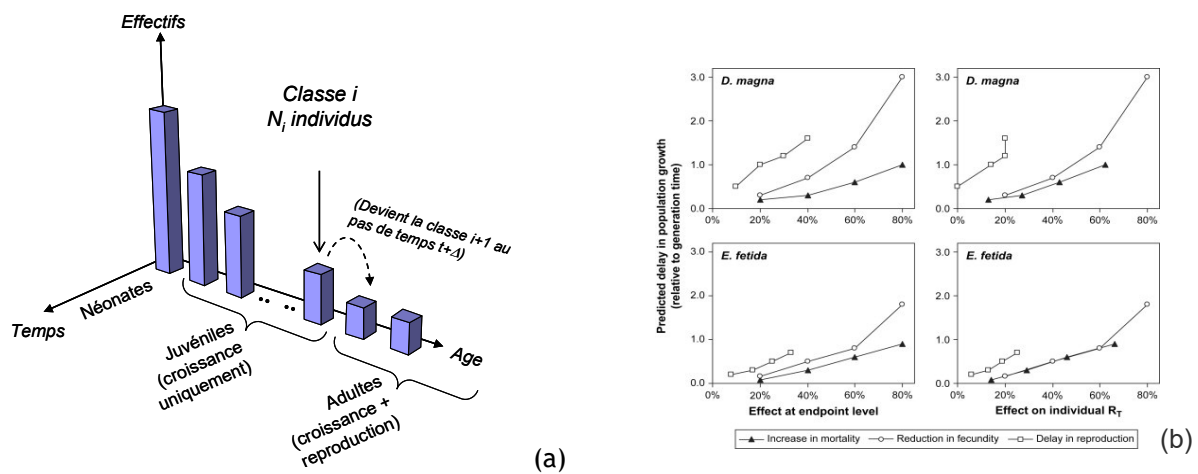


Figure 5 : Représentation (a) d'une matrice de population structurée par âge (matrice de Leslie) [AP07a] et (b) du délai prédit dans la croissance d'une population de daphnie (relatif au contrôle) en fonction d'une augmentation de la mortalité ($\blacktriangle$), d'une baisse de fécondité ($\circ$) ou d'un délai de la reproduction ($\square$) [ACL08a].

Ce type de modèle matriciel a été appliqué dans le cadre du projet **ERICA** en collaboration avec **Frédéric Alonzo** à l'IRSN (Alonzo *et al.*, 2008 [ACL08a]) en simulant, sur la base des résultats expérimentaux acquis, le retard de croissance de population de deux invertébrés terrestre et aquatique (*Eisenia fetida* et *Daphnia magna*, respectivement exposés à une irradiation gamma externe et à ^{241}Am). La modélisation a permis de montrer que le retard de reproduction (ex. date de première ponte pour la daphnie - **Figure 5b**) est pour les deux espèces le paramètre le plus sensible sur la croissance de la population. En revanche la croissance d'une population de daphnie est apparue, en raison de son cycle de vie court, plus sensible à une réduction de fécondité qu'à une réduction de la survie, tandis qu'*E. fetida* présente une même sensibilité pour ces deux critères.

➡ Ces travaux montrent que la simulation des effets sur la dynamique de population est possible en se basant uniquement sur les connaissances acquises pour une génération d'individus, comme c'est généralement le cas pour les tests d'écotoxicité standards. Cependant, la propagation de la réponse à l'identique d'une génération à l'autre, ne permet pas de prendre en compte les différences de sensibilité qui peuvent apparaître au fil des générations. Pour cela, il est nécessaire de déterminer la réponse des individus sur plusieurs générations.

Dans une étude de 70 jours, les effets de ^{241}Am sur *Daphnia magna* ont été étudiés plus en détails afin de mieux maîtriser l'exposition interne, et de déterminer les réponses des individus exposés sur 3 générations successives (Alonzo *et al.*, 2008 [ACL08b]). Les résultats ont montré des effets sur la survie, la fécondité (fig. 2 et 3, pages A41-A42) et la croissance, représentatifs d'une sensibilité plus forte au fil des générations : si à la première génération, aucune mortalité n'avait été observée jusqu'à 990 $\mu\text{Gy/h}$

[ACL06a] (confirmé jusqu'à 15000 $\mu\text{Gy/h}$ [ACL08b]), la survie et la croissance des larves de deuxième et troisième génération est en contraste affectée dès 300 $\mu\text{Gy/h}$. En particulier, les juvéniles de petite taille, issus d'œufs de masse plus faible, montrent une plus grande sensibilité. En considérant ces effets multigénérationnels, les conséquences prédites sur la croissance de la population sont logiquement bien plus importantes que sur la base des réponses d'une première génération uniquement (Figure 6).

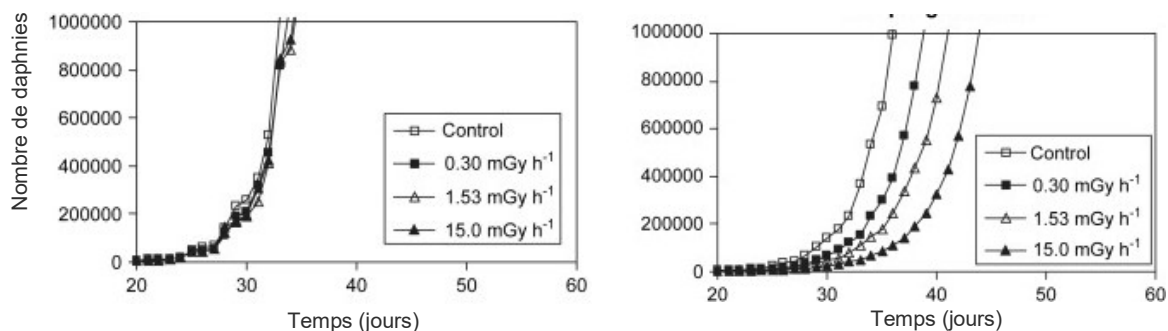


Figure 6 : Effet de l' ^{241}Am sur la croissance de population de *D. magna*, simulée à partir des données obtenues après l'exposition d'une génération (gauche) ou de trois générations successives (droite) (Alonzo et al., 2008 [ACL08a]).

L'aggravation des effets au fil des générations a pu être confirmée sur d'autres contaminants. Les travaux de thèse de Sandrine Massarin (2007-2010) ont ainsi mis en évidence que les effets de l'uranium sur la croissance somatique et la reproduction de *Daphnia magna* s'aggravent sur 3 générations successives exposées : une réduction importante de la croissance et du taux de nutrition est par exemple visibles dès 10 $\mu\text{g/L U}$ à la deuxième génération exposée (Massarin et al., 2010 [ACL10a]). L'exposition précoce de la deuxième génération dès l'embryogénèse pourrait en partie expliquer l'aggravation des effets observés, mais les effets sont plus complexes, car ils dépendent aussi des réserves énergétiques allouées par la mère dans les œufs. L'allocation d'énergie semble donc être un facteur clé dans la survie et la croissance des juvéniles.

Dans l'approche de type Scope For Growth utilisée dans les travaux de thèse de Florence Zeman (Zeman et al., 2008 [ACL08f]), la capacité reproductive et de croissance d'un individu avaient été déterminées à partir d'une estimation de l'énergie disponible pour l'individu (différence entre la mesure de l'assimilation et la respiration). Cependant, croissance et reproduction demandent une dépense énergétique basale de maintenance qui n'est pas prise en compte par ce type d'approche. Afin d'établir un bilan énergétique complet, prenant en compte la dynamique inhérente à la croissance des individus, la théorie DEB (Dynamic Energy Budget) de Kooijman (1993) permet de décrire quantitativement les grandes fonctions biologiques d'un organisme (nutrition, assimilation, croissance, reproduction, maintenance et vieillissement) par les flux d'énergie. Cette théorie a été adaptée par Kooijman et Bedaux (1996) pour décrire les réponses biologiques d'un organisme en présence de substances toxiques et leurs conséquences sur la croissance et la reproduction. C'est le modèle DEBtox (Dynamic Energy Budget in toxicology) décrivant 5 modes d'action possibles, décrits par une fonction de stress à seuil (décrit par la NEC, 'No Effect Concentration') et dont l'intensité de la réponse dépend de la concentration interne dans l'organisme (Figure 7).

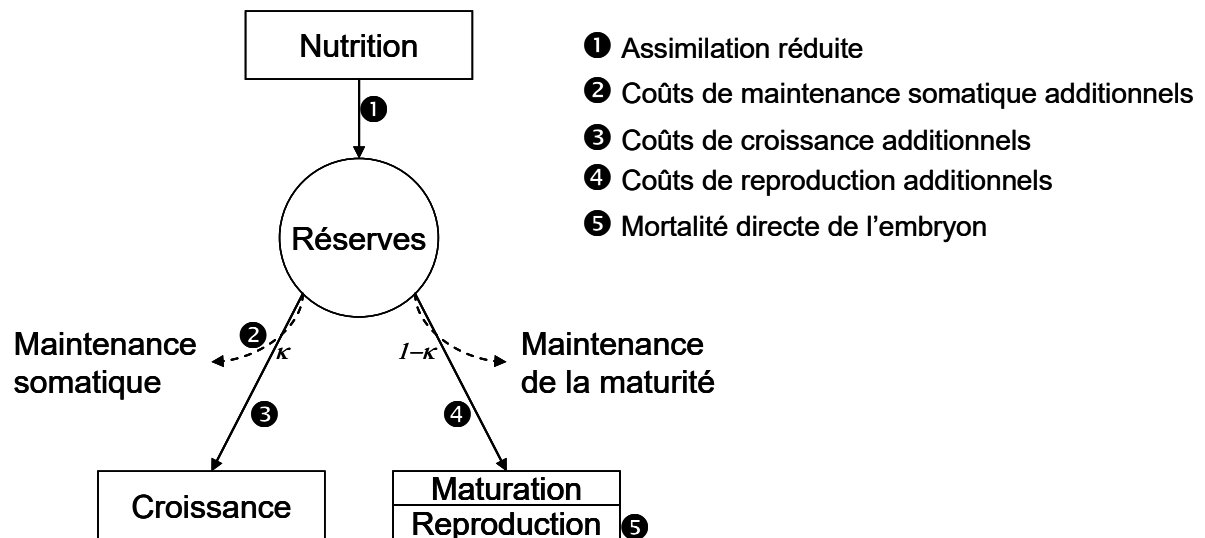


Figure 7 : Représentation schématique de la répartition d'énergie dans le modèle DEB et des 5 modes d'action considérés dans le DEBtox (d'après Kooijman, 2000)

En couplant les modèles DEBtox aux matrices de Leslie, il a été possible de relier les effets de l'uranium sur la survie, la croissance et la reproduction à la dynamique de population (Massarin *et al.*, 2011 [ACL11c], en collaboration avec l'Ineris). Comme indiqué plus haut (§1.2), les résultats obtenus sur la daphnie ont tous confirmé l'action centrale de l'uranium sur la réduction de l'assimilation de nourriture, probablement lié à des effets directs sur le système digestif.

➔ Par le développement d'une approche DEBtox, il a été possible de confirmer que le mode d'action de l'uranium suggéré (baisse de l'assimilation de nourriture) permet d'expliquer les réponses observées sur la baisse de croissance et la diminution de la reproduction des individus, mais aussi de simuler de manière satisfaisante l'accroissement de l'intensité des effets au fil des générations. Cette approche a de plus l'avantage, comme l'a suggéré Billoir *et al.* (2009), de prendre en compte toutes les concentrations d'expositions simultanément dans le modèle pour l'estimation d'une concentration sans effet (NEC, No Effect Concentration), permettent une détermination plus fiable de la concentration critique d'effet qu'avec une EC_{10} ou une NOEC.

1.5 Intégration des connaissances acquises pour l'évaluation du risque écologique : détermination de valeurs guides pour la protection des écosystèmes

Les travaux de recherche présentés ci-dessus ont permis de déterminer la sensibilité des traits d'histoire de vie de différentes espèces aux radionucléides et aux ETM, de mettre en évidence certains mécanismes à l'origine de ces réponses, et au final de démontrer la capacité prédictive des données acquises pour simuler des effets au niveau de la dynamique de population des espèces. Ces études fournissent aussi, du point de vue de l'évaluation du risque, les données primaires nécessaires à la détermination de valeurs guides pour la protection des écosystèmes.

La détermination d'une valeur guide dite sans effet pour tout ou partie d'un écosystème et pour une substance donnée constitue une étape incontournable pour déterminer une norme de qualité environnementale (NQE) dans le cadre de la prévention pour la protection des milieux (ex., directive cadre sur l'eau, directive 76/464/CEE). Dans ce cadre, la NQE se définit par « la concentration d'un polluant ou d'un groupe de polluants dans l'eau, les sédiments ou le biote qui ne doit pas être dépassée, afin de protéger la santé humaine et l'environnement ». Pour l'environnement, les valeurs à déterminer correspondent pour chaque contaminant à la plus faible des PNEC (« Predicted No Effect Concentration ») des différents compartiments que sont l'eau, les sédiments et les organismes vivants. La PNEC a pour objet de protéger la structure et le fonctionnement du compartiment d'intérêt de l'écosystème exposé (biodiversité associée à la colonne d'eau ou aux sédiments dans le cas d'un écosystème aquatique). Dans la pratique, ce sont le plus souvent les données d'effet du type EC₁₀ ou EC₅₀ obtenues en laboratoire (comme illustré dans les travaux présentés au §1.2) qui servent de base à la détermination d'une PNEC dans un cadre réglementaire (European Commission, 2003). Afin d'assurer une représentativité suffisante, quatre catégories d'effet de type déterministe (mortalité, croissance, reproduction, morbidité) sont généralement considérées sur plusieurs taxons, et analysées selon leur pertinence écologique en termes de dynamique de populations des espèces (e.g., Forbes et Calow, 2002b).

Nous avons adapté et développé les outils méthodologiques nécessaires afin de dérouler cette démarche pour ce qui concerne les radionucléides. Ces travaux ont été menés en collaboration avec les chercheurs à l'IRSN (**Karine Beaugelin-Seiller, Jacqueline Garnier-Laplace**) dans le cadre des projets **ERICA** (collaboration avec les partenaires européens participants) et **GGP-Environnement** (collaboration avec **Philippe Ciffroy, EDF R&D**), ainsi que du Groupe d'Expertise Pluraliste **GEP-mines**. Une intégration de cette démarche est en cours dans le cadre du projet ANR **AMORE**.

Dans un premier temps, le travail initié par le stage de **DESS de Claire Della-Vedova** et des travaux effectués dans le cadre du projet **ERICA**, ont eu pour objet de déterminer des critères de protection génériques pour les écosystèmes vis-à-vis des rayonnements ionisants gamma, en dérivant l'équivalent de PNEC : la PNED pour les effets aigus, et la PNEDR pour les effets chroniques (« Predicted No Effect Dose (Rate) »). Un travail de sélection des données issues de la base de donnée FRED (FASSET Radiation Effect Database), de reconstruction des relations dose-réponse et de traitement statistique par la méthode SSD (« Species Sensitivity Distribution ») a été adoptée (*fig. 1 et 2, pages A52-A53 [ACL08d]*). Le détail de la démarche ayant mené à la détermination d'une PNED(R) du rayonnement gamma pour différents types d'écosystèmes est présenté *pages A50 à A51* (Garnier-Laplace *et al.*, 2006 [ACL06b]). La pertinence de l'utilisation de ces valeurs génériques dans le cadre d'une évaluation des risques écologiques (application dans le cadre de l'approche intégrée **ERICA**) est discuté dans Garnier-Laplace *et al.* (2008, [ACL08d]) en comparant ces valeurs au bruit de fond naturel (généralement de l'ordre de 0,01 à 1 µGy/h) et des effets observés sur des sites contaminés par des radionucléides, ainsi qu'en illustrant des cas où une évaluation générique de ce type atteint ses limites (ex. objectif de protéger un écosystème ou une espèce particulière). Au final, une PNEDR générique de 10 µGy/h a été déterminée comme valeur guide assurant une protection suffisante de la structure et du fonctionnement de l'ensemble des écosystèmes vis-à-vis des effets d'une exposition chronique aux rayonnements ionisants.

Dans un deuxième temps, nos travaux ont porté sur l'uranium. L'uranium figure parmi les 41 substances d'intérêt pour l'évaluation de l'état chimique des masses d'eau françaises ainsi que des substances pertinentes du programme national de réduction des substances dangereuses dans l'eau (circulaire DE/DPPR du 07/05/2007), pour lesquelles il est nécessaire de définir une NQE. Nous avons ainsi proposé une méthodologie pour déterminer une PNEC relative au danger chimique de l'uranium en eau douce (Beaugelin-Seiller *et al.*, 2009 et 2010 [AP09a, AP10b]). Les données d'écotoxicité rassemblées étant insuffisantes pour appliquer la méthode SSD, la donnée d'écotoxicité chronique de l'uranium en eau douce la plus sensible a été retenue (NOEC-7j sur le microcrustacé *Ceriodaphnia dubia* de 2,7 µg/l - Pickett *et al.*, 1993). En lui affectant le facteur de sécurité de 10 recommandé (European Commission, 2003), une valeur générique de la PNEC chronique eau douce de l'uranium à 0,3 µg/L U, à appliquer en incrément du bruit de fond géochimique, a été déterminée. A la suite de ces travaux, la prise en compte des connaissances acquises sur la biodisponibilité nous a permis de proposer une PNEC par domaines physico-chimiques pour l'uranium (voir §2.4).

Enfin, le travail de **post-doctorat de Teresa Mathews** (Mathews *et al.*, 2009 [ACL09a]) a permis d'effectuer une évaluation probabiliste (Figure 2) du risque chimique et radiologique pour le cas de l'uranium, en considérant respectivement une PNEC (chimique) et la PNEDR (radiologique).

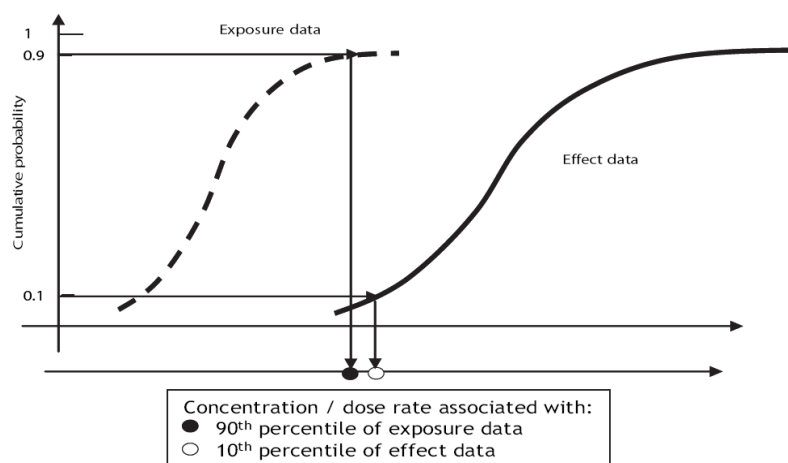


Figure 8 : Représentations schématisées de l'approche probabiliste adoptée pour la détermination des indices de risque chimique ou radiologique de l'uranium [ACLN08a].

Une méthode a été proposée permettant de convertir, pour plusieurs espèces de référence, les expositions en termes de concentration (µg/L U) et de débit de dose (µGy/h) pour différentes compositions isotopiques de l'uranium (fig. 1 et méthode détaillée pages A30-A31 [ACL09a]). Les résultats montrent que la proportion d'espèces protégées du danger radiologique par la valeur guide chimique décroît avec le degré d'enrichissement de l'uranium en ²³⁵U considéré, alors que la PNEDR de 10µGy/h ne permet pas pour la majorité des cas d'assurer une protection vis-à-vis du danger chimique. Ces travaux confirment donc la pertinence de considérer en priorité le danger chimique plutôt que radiologique dans l'évaluation du risque écologique de l'uranium.

2 Biodisponibilité des éléments traces métalliques et des radionucléides en milieu aquatique : influence de la spéciation chimique

7 publications internationales (ACL03a, ACL04a, ACL04b, ACL05a, ACL06c, ACL07a, ACL08f)

Principales communications complémentaires : 2 articles à comité de lecture nationale (ACLN08a, ACLN09a), 1 chapitre d'ouvrage (OS09a), 3 rapports (AP06e, AP09b, AP10b)

Encadrement de 2 stagiaires (E Bakkaus, 2002 ; A Devez, 2000), co-encadrement d'1 thèse (F Zeman, 2008) et participation à l'encadrement de 2 thèses (R Buzier, 2005 ; A Devez, 2004)

Collaborations : IRSN (L Février, F Coppin, S Frelon, O Simon, A Pelfrène), HSM (E Gomez, C Casellas, JL Seidel, F Elbaz-Poulichet), CEA (E Ansoborlo, E Bion, V Moulin), Cemagref (MH Tusseau-Vuillemin, J Garric), Ineris (K Tack), EDF R&D (Ph Ciffroy, M Grote, R Charlatchka), Institut Forel (J Dominik, C Guéguen), INRS-ETE (C Fortin)

Programmes de recherche : ENVIRHOM-ECO, GGP-Environnement, AMORE

Participation à des groupes de travail et d'expertise : CETAMA GT-32, GT Biodisponibilité, GEP-mines

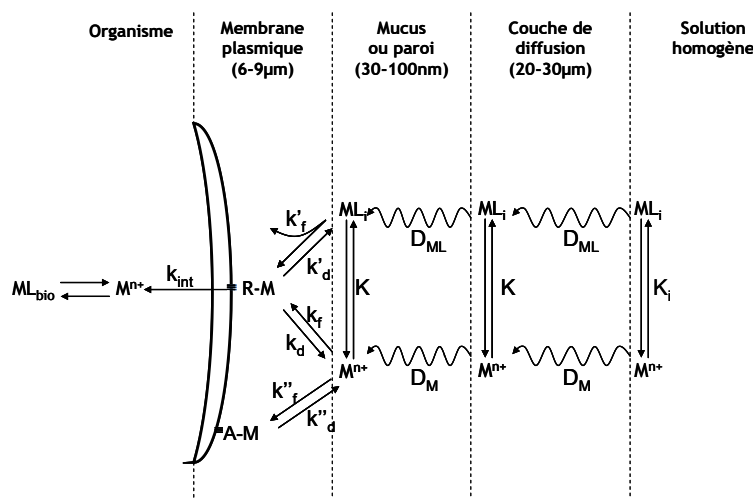
2.1 Contexte et démarche scientifique

On définit la biodisponibilité comme le degré avec lequel un contaminant est assimilé par un organisme (Hamelink *et al.*, 1994). La connaissance de la biodisponibilité d'un contaminant dans un milieu donné est donc primordiale pour estimer l'exposition et la réponse biologique des organismes qui en résulte. Trois aspects de la biodisponibilité peuvent être définis pour les organismes de l'environnement :

- la disponibilité environnementale, qui se définit par l'apport du contaminant jusqu'à l'environnement immédiat de l'organisme (c'est-à-dire où il peut être pris en charge par l'organisme) et les formes chimiques sous lesquelles le contaminant est apporté (spéciation chimique) ;
- la biodisponibilité environnementale, qui se définit par les processus physiologiques de prise en charge par l'organisme ;
- la biodisponibilité toxicologique, qui se définit par l'ensemble des processus qui contribuent à la réponse biologique de l'organisme suivant sa prise en charge : internalisation, redistribution dans les tissus, détoxification.

Dans cette logique, la disponibilité puis la biodisponibilité environnementale des ETM dissous pour les organismes aquatiques a été décrite en trois étapes principales par Campbell (1995) : l'advection ou la diffusion depuis la solution vers la surface de la membrane ; l'adsorption ou la complexation sur les sites de transport ; le transport à travers la membrane pour une assimilation dans l'organisme. Il est généralement admis que la biodisponibilité des ETM n'est pas fonction des concentrations totales dissoutes dans le milieu d'exposition. Le modèle d'activité de l'ion libre (FIAM) a été proposé pour décrire la biodisponibilité par les activités en ion libres des ETM (Morel, 1983 ; Campbell, 1995 - Figure 9). Ce modèle considère que seules les espèces réactives à la surface des cellules (ions métalliques hydratés et complexes cinétiquement labiles) sont biodisponibles, alors que les espèces chimiques qui ne peuvent pas

réagir avec la membrane cellulaire (complexes stables avec des ligands inorganiques et organiques, métaux complexés ou adsorbés sur des surfaces) ne sont pas considérées comme biologiquement actives.



Dans la solution homogène, l'ion libre (M^{n+}) est en équilibre avec un nombre i de ligands L pour former les complexes ML_i selon des constantes d'équilibre K_i . Après diffusion vers la membrane plasmique de l'organisme (coefficient de diffusion D), l'ion libre M^{n+} et les complexes ML_i interagissent avec le site de transport membranaire (R) ou des sites de surface biologiquement non actifs (A) selon leurs constantes de formation k_f et de dissociation k_d . La cinétique d'internalisation (k_{int}) est l'étape cinétiquement limitante.

Figure 9 : Modèle conceptuel de biodisponibilité des éléments traces métalliques pour les organismes aquatiques (d'après Campbell, 1995 [OS09a]).

Cette approche a depuis été largement développée, avec son extension le BLM (Biotic Ligand Model, voir ci-après §2.2), jusque dans un contexte réglementaire. Cependant, plusieurs limites et exceptions ont pu être démontrées et demandent de déterminer le domaine de validité de ces approches (ex. revue critique de Slaveykova et Wilkinson, 2005). Dans notre travail, deux grands types d'approches ont été développées afin d'estimer la disponibilité environnementale des ETM, soit par des approches de modélisation de la spéciation chimique des ETM dans le milieu, soit directement en mettant en œuvre des méthodes analytiques pour la quantification de la fraction labile (cf. synthèse des approches de modélisation et analytiques dans Gilbin *et al.*, 2009 [OS09a]).

Dans les deux chapitres suivants, nous illustrerons par nos travaux menés sur la biodisponibilité des ETM et de l'uranium, les informations qu'il est possible d'obtenir par la modélisation de la spéciation chimique en solution (§2.2) ou la quantification analytique des fractions labiles (§2.3), et de quelle manière ces connaissances ont pu être utilisées pour mieux déterminer les expositions et évaluer les risques dans différents cas d'étude (§2.4).

2.2 Apports de la modélisation de la spéciation chimique pour estimer la biodisponibilité

Parmi les outils basés sur les modèles de spéciation chimique à l'équilibre thermodynamique, une des approche les plus abouties est l'approche BLM (Biotic Ligand Model - Di Toro, 2001 ; De Schamphelaere et Janssen, 2002; Paquin, 2002), qui simule la spéciation chimique des ETM dans les eaux (dont la prédiction de la concentration en ion libre), ainsi que les phénomènes de compétition du métal toxique avec d'autres ions (généralement Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+) pour leur prise en charge par un ligand biotique (ligand

représentant le site de toxicité pour un organisme, dont la nature précise n'est généralement pas caractérisé). Ce concept est aujourd'hui retenu pour la détermination de critères de qualité d'eau pour divers métaux (Reiley, 2007) et son application en France dans le cadre de la Directive Cadre sur l'Eau est en cours d'évaluation par le groupe d'expert sur la biodisponibilité auquel nous participons avec l'**Ineris**, le **Cemagref** et **EDF R&D**.

Pour une application de cette approche aux radionucléides, la première étape est de disposer d'une base de données thermodynamiques cohérente et validée afin de rendre possible une simulation correcte de la spéciation chimique en solution. Notre participation au groupe de travail **CETAMA GT32** consacré à ce sujet nous a permis depuis plusieurs années de déterminer l'influence des données utilisées pour la modélisation de la spéciation en utilisant le modèle de spéciation J-Chess (Van der Lee, 1998). Une illustration en est donnée par le travail d'inter-comparaison effectué sur l'Américium(III) (Bion *et al.*, 2005 [ACL06c]). De même, un travail conséquent a été effectué sur l'uranium afin de disposer d'une base de données thermodynamiques mise à jour et cohérente (Denison et Garnier-Laplace, 2005).

L'uranium a un comportement chimique relativement complexe au sein des systèmes aquatiques continentaux, en comparaison d'ETM comme le cuivre. Les concentrations en espèces dissoutes d'uranium sont fonction du potentiel redox, du pH et de la nature et teneur des ligands présents. La forme hexavalente U(VI) contrôle la concentration en uranium total dans les environnements oxydants (Figure 10). Ainsi, dans un milieu aquatique inorganique et oxydant, l'U(VI) se trouve sous diverses formes de complexes en fonction en particulier des équilibres calco-carboniques et de la concentration en ligands inorganiques (phosphates, sulfates, fluorures, silicates). Il peut notamment former des complexes carbonatés ($(\text{UO}_2)_2\text{CO}_3(\text{OH})^{3-}$, UO_2CO_3 , $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$, $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$) ou hydroxylés (UO_2OH^+ , $\text{UO}_2(\text{OH})_2$ et $(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$).

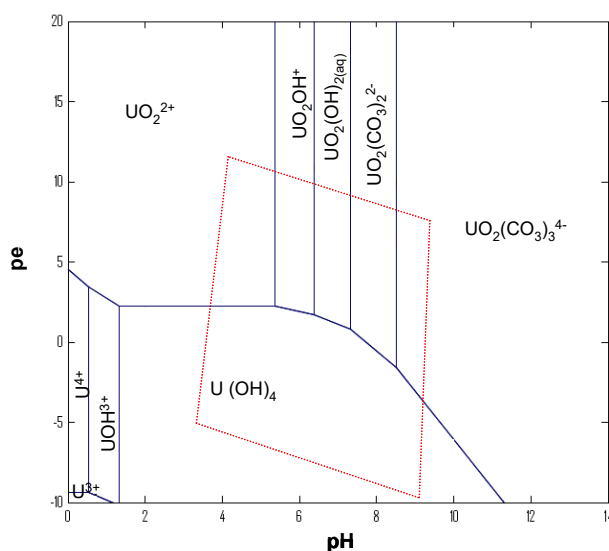


Figure 10 : Diagramme pe-pH de l'uranium obtenu avec le logiciel J-Chess ($[\text{U}] = 300 \mu\text{g/L}$ dans le milieu d'exposition de *D magna*, milieu M4). La zone en rouge représente la zone de pH et de potentiel d'oxydo-réduction susceptible d'être rencontrée dans l'environnement. Figure issue de la thèse de F. Zeman (2008).

De précédentes études sur la toxicité de l'uranium indiquent que la bioaccumulation (Fortin *et al.*, 2004) ainsi que la toxicité de l'uranium (Markich, 1996) sont proportionnelles à la concentration en métal sous forme ion libre (UO_2^{2+}). Cependant, des études plus récentes ont rapporté un certain nombre d'exceptions

quand le pH varie (Markich *et al.*, 2000 ; Fournier *et al.*, 2004 ; Fortin *et al.*, 2007). Ces études suggèrent que la spéciation ainsi que le pH pourraient avoir un effet plus complexe que celui attendu par les modèles du FIAM et BLM.

Notre objectif a donc été de préciser le lien entre la spéciation chimique (disponibilité environnementale) de l'uranium à différents pH et sa biodisponibilité toxicologique estimée par un bioessai sur le microcrustacé *Daphnia magna* (Zeman *et al.*, 2008 [ACL08f]). Les données obtenues dans notre travail ont été comparées aux données préalablement publiées sur la toxicité de l'uranium sur *D magna* (Poston *et al.*, 1984 ; Barata *et al.*, 1998), dans le but de valider le modèle de biodisponibilité établi : l'hypothèse est qu'à une compétition constante avec les cations (notre étude et celles reportées dans la littérature ont été menées à des dureté comparables), la CE₅₀-48h devrait logiquement être associée à une concentration identique d'UO₂²⁺. Cependant, la concentration d'UO₂²⁺ calculée à la CE₅₀-48h varie de plusieurs ordres de grandeur suivant les conditions de pH (de 6,5 10⁻⁶ à 1,7 10⁻¹ µg/L), et une corrélation linéaire entre la concentration en ion libre uranyle dans les différents milieux à la CE₅₀-48h et le pH a pu être mise en évidence. En conclusion de ce travail, différentes hypothèses on pu être formulées quant au rôle du pH sur la biodisponibilité de l'uranium comme :

- une compétition de l'ion UO₂²⁺ avec le proton H⁺, comme le suggère la relation linéaire log [UO₂²⁺]/pH, en accord avec Di Toro *et al.* (2005),
- une inhibition non-compétitive du transport du métal par les protons, comme reporté par Fortin *et al.* (2007) chez les algues (avec une plus grande entrée de UO₂²⁺ à pH=8 plutôt qu'à pH=7),
- une contribution d'autres espèces écotoxiques de l'uranium, incluant UO₂OH⁺ ou des complexes carbonatés, comme suggéré par Fortin *et al.* (2007) et Markich *et al.* (2000).

➡ **Nos résultats conduisent à considérer plusieurs espèces chimiques biodisponibles pour l'uranium en solution. Seules les molécules dont l'encombrement stérique est important sont considérées comme physiquement non biodisponibles, ainsi que les molécules chargées négativement (en raison de l'électronégativité des membranes biologiques). Ainsi, il est nécessaire de considérer a minima quatre espèces chimiques biodisponibles pour exprimer le flux d'uranium internalisé et donc pouvant contribuer à un effet écotoxique (Denison, 2004).**

La simulation de la spéciation chimique pour quantifier la biodisponibilité montre ses limites pour un élément comme l'uranium, à la fois car des incertitudes sur les données thermodynamiques utilisées subsistent, mais aussi car cette approche implique de connaître de manière exhaustive la concentration et les caractéristiques des ligands mis en jeu. Les limites sont donc atteintes dès lors que les constantes thermodynamiques sont méconnues pour un complexe. C'est notamment dans ces cas (milieux complexes difficiles à décrire théoriquement) que l'approche de la spéciation par des méthodes analytiques peut potentiellement palier aux limites de la modélisation.

2.3 Apports de la mesure de labilité pour estimer la biodisponibilité

La spéciation chimique des ETM et des radionucléides via des méthodes analytiques tend à se développer de par les potentialités de plus en plus élevées des méthodes et leur adaptation aux matrices environnementales (Gilbin *et al.*, 2009 [OS09a]). Certaines méthodes permettent en particulier de quantifier la fraction labile (ion libre et complexes susceptibles de se dissocier lors de l'analyse), représentative de la biodisponibilité tant que les hypothèses du FIAM sont respectées, que les concentrations en cations compétiteurs sont stables et que les complexes inertes sont montrés comme non biodisponibles. La difficulté réside dans la validation expérimentale de ces hypothèses, pour des méthodes analytiques adaptées à la mesure de labilité dans des échantillons environnementaux, dans l'idéal directement *in situ*.

Pour des métaux comme le cuivre, diverses méthodes permettent de mesurer spécifiquement l'ion libre et/ou les complexes labiles à de faibles concentrations, comme les méthodes polarographiques qui permettent de déterminer la spéciation des métaux dans les eaux avec une précision suffisante (Buffle, 1988). Cependant, ces méthodes ne sont disponibles que pour certains métaux et sont souvent délicates à mettre en œuvre *in situ* car elles demandent une technicité importante souvent incompatible avec un déploiement dans le cadre de programme de surveillance de routine (ex. de l'étude de Devez *et al.*, 2005 [ACL05a] décrite au §2.4 ci-dessous). Dans cet objectif, la DGT (Diffusive Gradient in Thin Film, proposé par Davison et Zhang, 1994 - **Figure 11**) permet d'envisager un déploiement *in situ* pour la détection de l'ion libre et des complexes suivant leur labilité. Le principe repose sur l'utilisation des propriétés complexantes d'une couche d'accumulation (en général une résine chélatante) qui permet d'établir un flux constant des éléments vers celle-ci, contrôlé par interposition d'une couche de diffusion d'hydrogel entre le milieu extérieur et la couche d'accumulation. Ce dispositif simple permet ainsi de relier quantitativement l'accumulation des éléments sur la résine au cours du temps aux concentrations labiles dans le milieu extérieur (Gilbin, 2006 [AP06e] ; [ACL03a]). L'un des grands avantages de la DGT pour une application *in situ* est que la concentration de métal mesurée dépend du temps de déploiement du système, et permet donc une mesure très sensible des concentrations labiles si le temps de déploiement est suffisant.

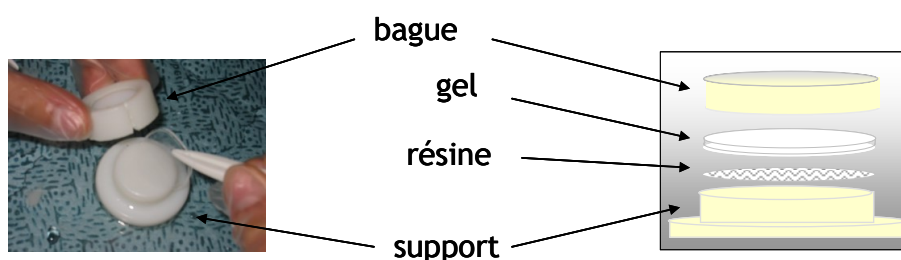


Figure 11 : Montage du dispositif DGT et représentation schématique du mécanisme de la DGT immergée en solution (d'après Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2003 [ACL03a]).

Nos travaux menés en collaboration avec Marie-Hélène Tusseau-Vuillemin au Cemagref ont permis de caractériser les complexes labiles mesurés par la DGT (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2003 [ACL03a]). En s'inspirant du formalisme adopté pour la description de la labilité des complexes en électrochimie (De Jong et Van Leeuwen, 1987 et Galeceran *et al.*, 2001), il nous a été possible de proposer un modèle numérique de diffusion des espèces métallique dans la DGT, permettant de décrire la labilité des complexes. Ce modèle a été validé par des mesures de labilité de complexes labiles et inertes du cuivre

(respectivement Cu-citrate et Cu-EDTA). L'étude a notamment identifié les paramètres influençant la labilité d'un complexe : le temps caractéristique de diffusion dans le gel (lui-même fonction de l'épaisseur du gel et du coefficient de diffusion du complexe), la constante de dissociation du complexe et le rapport métal/ligand (labilité inversement proportionnelle au rapport métal/ligand). Une des conséquences est que pour interpréter de manière fine la mesure de labilité par DGT, il est nécessaire de connaître précisément les coefficients de diffusion des complexes dans le gel (alors que généralement, un coefficient de diffusion identique est considéré pour le métal libre et les complexes labiles).

A la suite de ces travaux de qualification de la DGT pour la mesure de labilité, nous avons étudié ses performances à évaluer la biodisponibilité en comparant les mesures de labilité en présence de plusieurs ligands (EDTA, NTA, glycine, matière organique naturelle) avec la mesure d'une réponse biologique sur *Daphnia magna* (EC₅₀-24h - Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2004 [ACL04b]). Pour un complexe non labile et non écotoxique comme le Cu-EDTA, les mesures sont apparues probantes, alors que pour le complexe labile Cu-NTA (mais non écotoxique), la DGT n'a pas montré de plus-value pour caractériser la biodisponibilité. Pour la matière organique naturelle, formant des complexes non écotoxique mais partiellement labiles, comme pour la glycine, nous avons pu déterminer la capacité de la DGT à discriminer les complexes de plus fort encombrement stérique en utilisant des gels de diffusion restrictifs.

Des premières expériences effectuées dans le cadre du post-doctorat d'Aurélie Pelfrène, en collaboration avec Laureline Février à l'IRSN, ont permis d'entreprendre une démarche similaire pour qualifier la mesure de labilité par DGT vis-à-vis de l'uranium dans des matrices simples, et notamment de confirmer (comme pour le cuivre) l'influence du rapport métal/ligand (complexes testés avec EDTA, citrate, carbonates et phosphates) et de l'épaisseur du gel diffusif. Du fait de la labilité partielle de plusieurs complexes inorganiques, et de la biodisponibilité potentielle de complexes non labiles (voir plus haut l'étude de Zeman *et al.*, 2008 [ACL08f]), les résultats sont plus difficiles d'interprétation. Les études se poursuivent à l'IRSN afin d'aboutir à la soumission d'un article courant 2012.

2.4 Intégration des connaissances acquises sur la biodisponibilité pour l'évaluation du risque écologique : apports et limites des différentes approches

Les connaissances acquises sur la relation entre la spéciation chimique de l'uranium et sa biodisponibilité (décrits §2.2) ont été mises à profit dans le cadre de notre participation au Groupe d'Expertise Pluraliste

sur les mines d'uranium du Limousin **GEP-mines [AP09b]** et de nos travaux pour la proposition d'une NQE conditionnelle aux domaines physico-chimiques des cours d'eau français **[AP10b]**. La poursuite de ces travaux est en cours dans le cadre du groupe d'expert sur la biodisponibilité des ETM auquel nous participons avec l'**Ineris**, le **Cemagref** et **EDF R&D** et dans le cadre du développement d'une approche multicritère pour l'évaluation du risque écologique dans le cadre du projet ANR **AMORE**.

La prise en compte du concept de biodisponibilité dans les évaluations de risques a fait l'objet d'études avancées pour les ETM. Pour certains métaux traces, l'état des connaissances est tel que certaines autorités (par exemple, l'US-EPA) ont désormais accepté que des outils de mesure ou de prédiction de la biodisponibilité soient intégrés aux dossiers d'évaluations de risques. En fonction du degré de connaissances relatives au métal et au site étudié, la notion de biodisponibilité peut être introduite à différents niveaux, du plus simple au plus complexe :

- estimation de la concentration en ETM libre (et éventuellement en complexes biodisponibles) par l'utilisation de modèles de spéciation thermodynamique ;
- prise en compte de la distribution liquide-solide (par approche du type coefficient de distribution ou mesure de la fraction dissoute) ;
- estimation de la concentration métallique labile par l'utilisation d'outils analytiques permettant discriminer les formes labiles et inertes (ex. DGT).

La sélection des méthodes et des approches permettant de dériver des facteurs de correction tenant compte de la biodisponibilité dépend donc du contexte de l'évaluation (par exemple, nature et quantité des données physico-chimiques du site), des métaux considérés (existence ou non de modèle BLM) et des capacités de mesures complémentaires (par exemple, validité d'outils analytiques polarographiques, DGT...). Ainsi, il apparaît possible d'explorer ces différentes approches, et surtout de proposer des méthodologies de détermination de PNEC corrigés d'un facteur de biodisponibilité. Quelques exemples d'études auxquelles nous avons participé permettent d'illustrer ces différentes approches permettant de considérer la biodisponibilité.

- Cas de la détermination d'une PNEC par domaines physico-chimiques pour l'uranium

Afin d'identifier les paramètres physico-chimiques à considérer *a minima* pour établir une typologie de la spéciation de l'uranium pour les cours d'eau français, la sensibilité de la spéciation de l'uranium U(VI) aux variations de conditions physico-chimiques des eaux de surface en France a été étudiée en effectuant des calculs de spéciation pour des gammes réalistes de composition des eaux (Beaugelin-Seiller *et al.*, 2010 **[AP10b]**). Sur la base des connaissances acquises sur la biodisponibilité de l'uranium, plusieurs hypothèses ont été considérées pour représenter la biodisponibilité de l'uranium, consistant à considérer l'ion libre UO_2^{2+} seul ou combiné avec un ou plusieurs complexes considérés biodisponibles (complexes hydroxylés, carbonatés et phosphatés). La prise en compte des espèces UO_2^{2+} , $\text{UO}_2(\text{OH})^+$, $\text{UO}_2(\text{OH})_2$ et UO_2CO_3 est apparue comme la combinaison la plus représentative des données d'écotoxicité disponibles, tout en restant dans une démarche conservative pour la détermination de PNEC conditionnelles au domaine physico-chimique des cours d'eau français. Ainsi, la PNEC générique de 0,3 µg/L U peut être considérée comme applicable dans les eaux pour lesquelles l'uranium est *a priori* totalement biodisponible (ex. eau de pH < 6,4 et/ou d'alcalinité < 10 mg/L HCO_3), alors que dans des eaux de surface de composition typique

des grands cours d'eau français (pH de 7 à 8, dureté et alcalinité de l'ordre de 100 mg/L CaCO₃), la fraction biodisponible de l'uranium peut être estimée entre 1 et 10% des concentrations inorganiques dissoutes (donc une PNEC estimée à un ou 2 ordres de grandeur au dessus de la PNEC générique).

- Cas des ETM dans la Vistule : apport de la spéciation par taille (ultrafiltration)

L'étude menée en collaboration avec **Céline Guéguen** et **Janusz Dominik** à l'**Institut Forel** (Guéguen *et al.*, [ACL04a]) a eu pour but de déterminer le lien entre la biodisponibilité (bioessais de toxicité : CE₅₀-72h sur l'inhibition de croissance de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* et bioessai Microtox® sur la bactérie *Vibrio fischeri*), le fractionnement par taille et la simulation de la spéciation à l'équilibre thermodynamique dans la partie amont de la rivière Vistule en Pologne. La comparaison de la toxicité dans les eaux ultrafiltrées, filtrées et non filtrées nous a permis d'identifier le rôle majeur de l'association des métaux toxiques (Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Pb, Zn) avec les particules et avec les ligands de faible poids moléculaire. La présence éventuelle d'autres substances qui n'ont pas été mesurés n'a pas permis d'expliquer totalement la nature écotoxique de certains échantillons (voir §3.3).

- Cas du cuivre dans les eaux de ruissellement issus de parcelles viticoles : complexation par la matière organique naturelle

Durant une étude de suivi *in situ* du bassin versant viticole de Roujan en collaboration avec **Elena Gomez**, **Claude Casellas** et **Françoise Elbaz-Poulichet** à **HSM** (thèse d'**Aurélié Devez**, Devez *et al.*, 2005 [ACL05a]), des eaux de ruissellement ont été prélevées, lors d'événements pluvieux, sur deux parcelles individualisées (C et NC) dont le type de sol et les pratiques culturales diffèrent. Malgré des concentrations totales en cuivre toutes supérieures à la CE₅₀ pour le bioessai utilisé (CE₅₀-72h sur la croissance de l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*) nous avons montré le pouvoir complexant de ces eaux par analyse polarographique (DPASV), en cohérence avec la nécessité d'ajouter des concentrations de 3 à 10 fois supérieures à la CE₅₀-72h de référence du cuivre pour générer une toxicité). Les analyses par DPASV ont indiqué l'existence d'un complexe électrochimiquement labile du cuivre dont l'apparition est concomitante avec la toxicité lors d'additions successives de cuivre. Là encore, certains échantillons se sont avérés écotoxiques malgré la faible biodisponibilité du cuivre, probablement due à la présence d'autres contaminants.

- Cas des ETM dans le bassin versant de la Seine : validation de la DGT in situ

Ce dernier exemple concerne la mesure de labilité des métaux en Seine avec la DGT, en collaboration avec **Maïe-Hélène Tusseau-Vuillemin** et dans le cadre de la thèse de **Rémy Buzier** au **Cemagref** et la contribution de **Françoise Elbaz-Poulichet** et **Jean-Luc Seidel** à **HSM** (Tusseau-Vuillemin *et al.*, 2007 [ACL07b]). L'étude a permis de montrer que le déploiement de DGT avec des gels restrictifs, dans des qualités d'eaux contrastées du bassin versant de la Seine permet de distinguer la disponibilité des ETM :

dans les stations étudiées sous influence de rejets urbains, la présence de matière organique dissoute ne diminue pas autant la labilité du cuivre que pour des stations amont où les substances humiques dominent. Cette étude a donc mis en évidence le rôle important de la matière organique dissoute dans la complexation des ETM, mais surtout que la labilité des complexes organiques dépend fortement de la qualité et de l'origine (urbaine, naturelle) de la matière organique présente.

☞ *Notre démarche est toujours en cours de développement à l'IRSN pour ce qui concerne la prise en compte de la biodisponibilité de l'uranium dans l'analyse des expositions. Au vu du retour d'expérience apporté par les études sur la Seine, la Vistule ou encore les eaux de ruissellement viticoles, il apparaît en particulier nécessaire d'intégrer le rôle de la matière organique naturelle et des fractions particulières dans l'estimation de la labilité de l'uranium et autres ETM et leur biodisponibilité en milieu aquatique. Une autre voie de développement consiste aussi à combiner les approches théoriques de spéciation et d'analyse de spéciation à des cas d'étude réels par différentes techniques (ultrafiltration, polarographie, DGT), à l'image des études menées sur la Seine.*

Pour l'ensemble des approches présentées, l'une des limites repose toutefois sur le fait que les modèles de biodisponibilité (FIAM et BLM) n'ont à ce jour été calibrés que sur un nombre limité d'espèces et d'ETM (l'uranium en est un exemple) et de voies d'exposition. L'approche que nous avons développée s'est par ailleurs limitée à comprendre les liens entre la disponibilité environnementale (spéciation chimique) et la biodisponibilité environnementale (prise en charge par l'organisme, ou plus rarement bioaccumulation). La validation des modèles de biodisponibilité n'a pas encore pris complètement en compte les éléments de biodisponibilité toxicologique (abordés dans notre travail uniquement de manière globale par l'observation d'une réponse biologique).

Un exemple des limites de modèles de biodisponibilité simples (ex. BLM) pour prédire l'exposition interne réelle à l'uranium peut être montré sur un organisme filtreur comme le bivalve *Corbicula fluminea* : une étude de long terme (1 à 90 jours, 10 à 500 µg/L U) menée dans le cadre du projet **ENVIRHOM** à l'IRSN par Olivier Simon (Simon *et al.*, 2011 [ACL11e]) a montré que l'exposition interne (bioaccumulation) n'est pas toujours corrélée à la concentration dans le milieu d'exposition, même pour un milieu de composition physico-chimique constant, et que des différences importantes existent entre les organes du bivalve (**Figure 12**). Si pour une branchie, la proportionnalité entre la concentration externe et interne a pu être vérifiée (signe d'un équilibre rapide en accord avec une approche de type ion libre), il n'en est pas de même pour les organes internes comme la masse viscérale. En effet, même si la prise en charge de l'uranium et la détoxification par des métallothionéines n'a pas été démontrée pour l'uranium (contrairement à d'autres métaux, ex. Cd), la présence de granules riches en uranium, co-précipité avec du fer, suggère un mode de détoxification actif dans l'organisme, qui modifie les cinétiques d'échanges entre organes, les temps d'exposition et donc les réponses biologiques potentielles (dans notre étude représenté par la réponse génotoxique, essai comet). Ces résultats sont l'illustration que la concentration interne d'exposition ne peut pas être complètement décrite par un simple équilibre avec les concentrations dans l'eau, mais que la prise en compte des cinétiques d'accumulation et de dépuración

dans les tissus, et surtout la spéciation dans le milieu biologique (formes déttoxifiées, fractions subcellulaires solubles responsables de la réponse biologique...), sont de première importance pour comprendre la l'exposition interne des organismes à l'uranium.

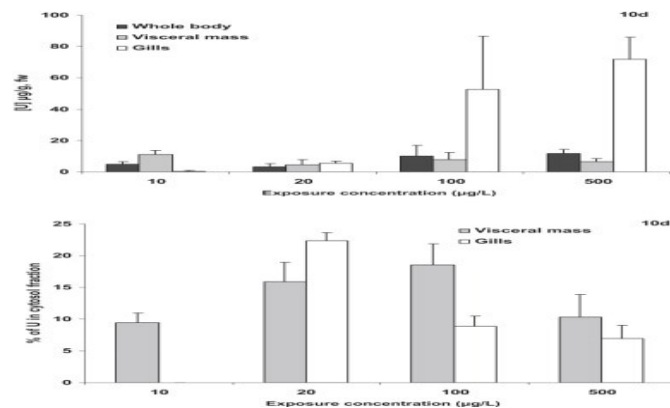


Figure 12 : Bioaccumulation de l'uranium dans différents tissus de *Corbicula fluminea* exposé 10 jours à 10, 10, 100, 500 µg/L U (moyenne +/- écart-type, n=10) : organisme entier (■), masse viscérale (■), branchies(□). D'après Simon et al. (2011, ACL11e).

➡ Le développement d'un modèle intégré de biodisponibilité de l'uranium (mais aussi pour l'ensemble des ETM) prenant en compte la spéciation chimique dans le milieu, la prise en charge par les organismes au travers des différentes voies d'exposition (ex. métal dissous, mais aussi particules ingérées), puis la toxico-cinétique interne du contaminant dans les organes jusqu'à la compréhension des interactions avec les cibles à l'origine de la réponse biologique (toxico-dynamique), reste un challenge important. Ce travail est pourtant nécessaire pour valider les extrapolations qui sont faites de facto actuellement en appliquant des connaissances partielles sur la biodisponibilité à l'évaluation du risque pour tout un écosystème. C'est en particulier le cas pour la détermination de la biodisponibilité dans les sédiments et l'extrapolation des connaissances acquises à d'autres espèces dont la physiologie et les traits de vie diffèrent.

3 Exposition des organismes aquatiques à des substances multiples : effets conjoints, risque cumulé et mise en évidence des interactions

4 publications internationales (ACL04a, ACL07b, ACL11b, ACL12b)

Principales communications complémentaires : 1 poster (AFF08f), 2 communications orales (COM08d, COM08e), 2 rapports (AP12a, AP10a)

Encadrement de 2 thèses (F Zeman, 2008 ; C Réty, 2010), 2 stagiaires (P Frizet, 2010 ; A Lesieur, 2005)

Collaborations : IRSN (J Garnier-Laplace, K Beaugelin, C Lecomte-Pradines), HSM (E Gomez), ECOLAG (C Aliaume), EDF R&D (M Grote), EPFL (J Payet, O Jolliet)

Programmes de recherche : ENVIRHOM-Eco, GGP-Environnement

3.1 Contexte et démarche scientifique

Dans le cadre d'exposition chronique des écosystèmes aquatiques continentaux à de faibles doses de contaminants, les évaluations du risque telles que pratiquées aujourd'hui, aboutissent souvent à l'identification non pas d'un seul, mais de plusieurs substances (stables ou radioactives) à risque potentiel. Aujourd'hui, les méthodes d'évaluation opérationnelles recommandées par le Bureau Européen des substances chimiques et décrite dans le « Technical Guidance Document » ne permettent pas de simuler de manière pertinente ce contexte de multi-contamination puisque le cas des mélanges n'est pas abordé.

Les recherches en toxicologie humaine et en pharmacologie ont développé depuis plusieurs années les bases théoriques permettant de caractériser les effets conjoints de plusieurs substances (notamment de principes actifs, au niveau moléculaire et cellulaire). Cependant, la prise en compte du contexte de multi-contamination en écotoxicologie est beaucoup plus récente (van Gesteele *et al.*, 2011). En effet, l'adaptation des méthodologies et l'acquisition des connaissances adéquates n'est pas triviale, à la fois car les modes d'action des substances d'intérêt sont rarement connus avec précision, mais aussi car la cible de protection (les populations, voire la structure et le fonctionnement des écosystèmes) nécessite un niveau d'intégration qui va bien au-delà d'une étude des interactions sur les cibles moléculaires d'action. Dans ce cadre, nous avons développé une thématique de recherche en collaboration avec **EDF R&D (Matthias Grote)** dans le cadre du projet **GGP-Environnement**, **HSM (Elena Gomez)** et **ECOLAG (Catherine Aliaume)** dans le cadre du projet **ENVIRHOM-Eco** de l'IRSN.

Les modèles d'addition des concentrations ou des doses (CA, additivité de *Loewe*) et d'indépendance d'action (IA, ou additivité de *Bliss*) sont les plus classiquement utilisés pour représenter l'effet conjoint de mélanges de substances sous l'hypothèse de « non-interaction ». Le modèle d'addition des concentrations (ex. Berenbaum, 1985 ; Drescher et Boedecker, 1995 ; Feron et Groten, 2002) considère un mode d'action commun des substances en mélange, et se définit (Équation 1) par l'addition des concentrations normalisées à un niveau de réponse biologique donné, comme la CE₅₀ (ex. approche des unités toxiques). Le modèle d'indépendance d'action (défini pour la première fois par Bliss, 1939 et couramment utilisé depuis : Altenburger *et al.*, 2000 ; Backhaus *et al.*, 2000 ; Faust *et al.*, 2001, Cerdergreen *et al.*, 2008),

considère des modes d'action différents et indépendants et fait appel au produit des probabilités d'effet de chaque substance en mélange (Équation 2).

Équation 1 : Modèle d'addition des concentrations
(CA)

$$\sum_{i=1}^n \frac{c_i^*}{CEx_i} = 1$$

c_i^* = concentration de la substance i d'un mélange de n composés ($i=1...n$) ayant un effet total E .

CEx_i = concentration de la substance i qui provoque l'effet E avec $x\%$ d'effet par rapport au contrôle dans le cas où elle est appliquée seule.

Équation 2 : Modèle d'indépendance d'action
(IA)

$$E(c_{mix}) = 1 - \prod_{i=1}^n (1 - E(c_i))$$

dans le cas d'un mélange avec n composés ($i=1...n$)

$E(c_{mix})$ = effet total d'un mélange avec une concentration totale c_{mix}

$E(c_i)$ = effet individuel de la substance i présente à la concentration c_i .

Une réponse observée pour un mélange de substances qui s'écarterait significativement de l'un de ces deux modèles signifierait un rejet de l'hypothèse de « non-interaction », et donc la mise en évidence d'une interaction (différents termes ont été utilisés pour décrire la variété des actions de substances en mélange, en particulier l'effet synergique et antagoniste... cf. Greco *et al.* (1995) pour une définition exhaustive des termes). Une des représentations les plus satisfaisantes est celle des isobogrammes (Altenburger *et al.*, 1990 ; Gessner *et al.*, 1995) ou des surfaces de réponses de non-interaction, dont l'expression mathématique peut être résolue par des techniques d'itération (Dressler *et al.*, 1999) ou graphiquement (Vettori *et al.*, 2006). Une évolution de ces modèles a été développée par Sorensen *et al.* (2007) et Jonker *et al.* (2005) afin de décrire explicitement les interactions possibles.

Une étude de ces différents modèles a été effectuée dans le cadre du travail de **thèse de Florence Zeman** (2008) co-dirigée avec **Catherine Aliaume (ECOLAG)** dans le contexte de l'étude du mélange binaire uranium-sélénium, et le principe a été repris dans les travaux de **thèse de Céline Réty** (2009) codirigée avec **Elena Gomez (HSM)** afin d'identifier les interactions en mélange du tritium et du cuivre (§3.2 ci-après). Enfin, les premiers développements pour intégrer la notion de risque cumulé pour différents cas d'étude et dans la démarche d'évaluation des risques des radionucléides en mélange avec des substances stables est présentée au §3.3.

3.2 Identification d'antagonisme et synergie des radionucléides avec des éléments traces

Les travaux de la **thèse de Florence Zeman** (Zeman *et al.*, article soumis) ont porté sur le mélange binaire entre l'uranium et le sélénium, dont les concentrations dans l'environnement peuvent se retrouver très largement accrues par différentes activités anthropiques, en particulier par les activités minières (Noller, 1991). Le but de la thèse de Florence Zeman a été de déterminer la réponse de la daphnie *Daphnia magna* au mélange binaire uranium-sélénium. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux effets sur les différents traits de vie de la daphnie à l'échelle de l'individu et aux effets sur le bilan énergétique de la daphnie, permettant ainsi de tirer parti des développements effectués sur des substances seules (§1). En cohérence avec les travaux de Cedergreen *et al.* (2005) sur d'autres contaminants, nous avons pu montrer que le choix de la réponse étudiée et de la durée d'exposition peut conduire à des résultats contradictoires dans l'identification des effets conjoints de l'uranium et du sélénium. Pour la toxicité aigüe, la mortalité à 24h a montré des résultats conformes à l'hypothèse de non interaction, alors qu'à 48h un effet clairement antagoniste a pu être déterminé (**Figure 13**).

L'antagonisme a été confirmé après 7 jours d'exposition concernant la réponse de la fécondité, mais plus contrasté pour d'autres réponses (croissance, réserves lipidiques). Une modélisation de type *Scope for Growth* nous a permis de représenter l'allocation énergétique pour la croissance et la reproduction en fonction de la bioaccumulation des contaminants (différence entre l'énergie assimilée et celle allouée à la croissance, la reproduction, la formation de la carapace (mue), les réserves énergétiques et la maintenance (respiration)). Les résultats ne suggèrent pas d'interaction toxico-dynamique vraie entre l'uranium et le sélénium, mais plutôt une interaction toxico-cinétique modifiant la bioaccumulation de l'uranium en présence de sélénium.

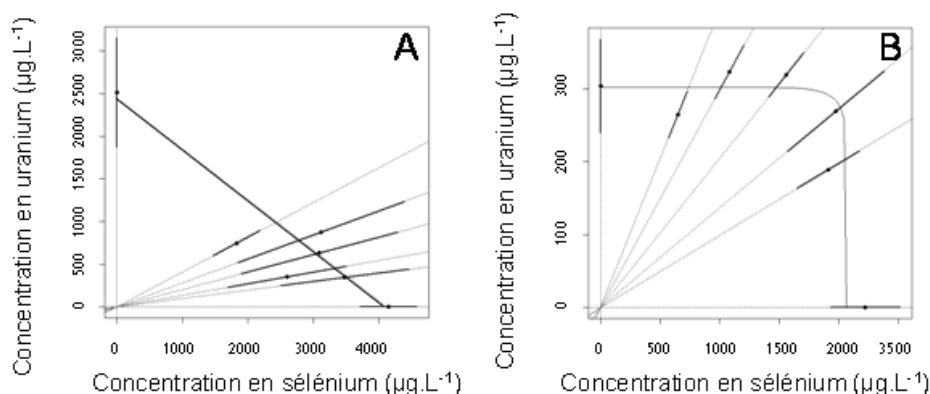


Figure 13 : Isobogramme représentant la réponse ($CE_{50} \pm$ erreur standard) de *D magna* après (A) 24h (droite d'isoreponse conforme à l'hypothèse de non-interaction) et (B) 48h (forme caractéristique d'un antagonisme) pour une exposition au mélange uranium-sélénium à différents rapports U/Se (traits pointillés). Thèse de Florence Zeman (2008).

Les travaux de thèse de Céline Réty (Réty *et al.*, 2012 [ACL12b]) ont eu notamment pour objectif d'identifier les interactions de l'HTO (eau tritiée) et du cuivre sur l'algue *Chlamydomonas reinhardtii*. L'HTO ayant montré une augmentation de la quantité d'espèces réactives de l'oxygène (mesure par $H_2DCF\text{-}DA$, voir §1.3), l'hypothèse d'une interaction avec le cuivre en lien avec ce mode d'action a été testée. Les résultats ont permis de montrer un effet synergique du cuivre et de l'HTO sur la production d'espèces réactives de l'oxygène. Par ailleurs, les mesures de bioaccumulation dans les cellules ont permis de montrer que la cinétique d'accumulation du cuivre était très significativement augmentée (plus de 4 fois) en présence d'HTO. Ces résultats suggèrent donc que la réponse synergique observée sur la production d'espèces réactives à l'oxygène pourrait être liée à une augmentation de l'exposition interne des cellules au cuivre. Toutefois, les réponses observées n'ont pas été confirmées à un niveau plus intégré de réponse (mesure de croissance).

➡ Ces travaux ont permis de valider la possibilité d'utiliser pour des mélanges binaires de radionucléides et de substances stables les méthodes proposées pour l'identification des déviations de l'hypothèse non interaction. Cette validation n'a pas été rendue possible directement pour le mélange traité (cuivre + tritium), du fait de la difficulté d'obtenir des effets significatifs lors de l'exposition à l'eau tritiée, même aux plus fortes activités testables. Alternativement, ces modèles ont pu être utilisés avec succès pour l'exemple uranium+sélénium.

Pour une description correcte des interactions entre deux substances, un effort expérimental important a dû être fourni pour déterminer à la fois les processus d'exposition (lien spéciation - biodisponibilité - toxico-cinétique) et d'effet (lien toxico-cinétique - modes d'action moléculaire - conséquences sur les traits d'histoire de vie) des substances isolées, avant de déterminer à quel(s) niveau(x) les interactions peuvent survenir entre deux substances. Par les deux exemples abordés, l'importance de la dynamique de ces processus est apparue primordiale pour identifier l'interaction. En effet, pour l'exemple uranium-sélénium, l'effet antagoniste observé est très certainement lié aux différences de bio-cinétiques d'accumulation du sélénium et de l'uranium et dans les perturbations de la balance pro/anti-oxydante qui en découle. Pour l'exemple tritium-cuivre, l'effet le plus clairement établi est celui de l'augmentation des flux d'internalisation du cuivre en présence d'eau tritiée.

➡ *Au-delà des limites imposées par l'acquisition expérimentale de données robustes, nos études ont aussi mis en exergue les difficultés de l'approche : la mesure classique des réponses biologiques à un temps déterminé (ex. EC_{10} ou EC_{50}) sont peu adaptés pour décrire les interactions, chaque critère d'effet étant susceptible de démontrer des interactions (synergie/addition/antagonisme) d'ampleurs très différentes, voire contradictoire. Nous avons montré qu'il est nécessaire de considérer la dynamique des réponses en lien avec l'exposition interne (toxico-cinétique) des contaminants.*

Au final, les données acquises pour les deux exemples traités, si elles ont permis d'établir des synergies ou des antagonismes, ne sont que d'une utilité limitée pour la construction d'une méthodologie d'évaluation des risques écologiques prenant en compte les radionucléides dans un contexte d'exposition dynamique et hétérogène à de multiples contaminants. Les méthodes employées permettent en effet de déterminer la significativité d'une déviation par rapport à l'addition attendue, mais ne peuvent avoir une utilité que dans un schéma plus global de prise en compte des mélanges de substances, et dès lors qu'une interaction particulière et critique pour l'évaluation des risques aurait été identifiée. Ainsi, cette approche très analytique basée sur l'identification expérimentale des données ne peut avoir d'utilité qu'en complément d'une approche plus pragmatique de screening des substances en présence pour un scénario d'intérêt.

Une autre approche a été de se confronter directement à la complexité d'échantillons écotoxiques contenant de multiples contaminants, et de tenter de tirer parti des connaissances acquises, présentées dans les chapitres précédents, pour améliorer notre compréhension sur la nature du danger à l'origine de la toxicité. Quelques exemples de cas d'application sont donnés ci-dessous.

3.3 Intégration des connaissances acquises pour l'évaluation du risque écologique cumulé des substances en mélange

Plusieurs développements récents ont montré qu'il était possible d'étendre la caractérisation du risque écologique aux mélanges de substances en considérant le risque cumulé (cf. revue exhaustive de Ragas *et al.*, 2011 sur le sujet, dont les principes ont été repris dans le cadre du projet STAR [AP12a]). Ces méthodes sont basées sur l'hypothèse de non interaction décrite plus haut (§3.1). Nous avons appliqué ce principe à l'évaluation du risque cumulé des substances rejetées dans les effluents liquides de centrales

nucléaires de production d'électricité en fonctionnement normal (Garnier-Laplace *et al.*, 2009 [ACLN09b]). La méthode appliquée, en collaboration avec Jérôme Payet et Olivier Jolliet (EPFL), a été celle du ΔPAF (Équation 3) inspirée des méthodes utilisées pour calculer l'impact écotoxicologique dans les eaux douces en Analyse du Cycle de Vie (Van Der Meent et Huijbregts, 2005).

Équation 3 : Définition du ΔPAF

$$\Delta PAF_i = 0.5 \times \sum_i \frac{\Delta C_i}{HC_{50i}}$$

avec :

HC_{50i} : Concentration affectant 50% des espèces à hauteur de 50% d'effet (par exemple déterminé par SSD)

ΔPAF_i : Changement de la fraction d'espèces potentiellement affectées (PAF) par la substance i

ΔC_i : Changement de la concentration de la substance i

La méthode nous a permis de hiérarchiser le risque écotoxique potentiel des effluents considérés, et de déterminer sur la même base le risque radiologique et chimique relatif à chaque substance. Sur la base d'un scénario de rejet annuel moyen, le pourcentage d'espèces affecté prédit s'est avéré très faible (moins de 1%), et la méthode a permis d'identifier que le risque lié aux substances chimiques était 10^4 à 10^6 plus élevé ($Cu > Zn > H_3BO_3$) que pour les substances radioactives ($^{14}C > ^{110m}Ag > ^{60}Co$).

➡ *S'il n'y a pas de problème méthodologique à mener une étude de screening sur la base du cumul des indices de risques des substances radioactives et chimiques, il n'en demeure pas moins plusieurs incertitudes : la composition exhaustive d'un rejet n'est pas toujours connue, et les interactions potentielles entre substances ne sont pas prises en compte, à la fois par manque de connaissances et de modèles adaptés. Une approche expérimentale peut permettre de fournir des informations complémentaires quant au risque écotoxique d'un effluent ou d'un échantillon contenant plusieurs substances toxiques en mélange. Quelques exemples en sont donnés ci-dessous.*

En complément de l'étude menée sur la biodisponibilité et la labilité du cuivre par polarographie, l'étude de Devez *et al.* 2005 [ACL05a] a identifié, outre le cuivre, d'autres contaminants dans les eaux de ruissellement viticoles qui peuvent jouer un rôle dans le potentiel écotoxique des échantillons étudiés : arsenic (0,41 à 1,98 $\mu\text{mol/L}$) et zinc (0,3 à 0,9 $\mu\text{mol/L}$) présents dans certains produits phytosanitaires de traitement de la vigne en application précoce (début du printemps), utilisés seuls ou associés à des substances organiques (produits phytosanitaires divers). Dans un tel contexte agricole de multi-contamination, il s'est avéré assez délicat d'attribuer la toxicité directe des eaux de ruissellement à un seul composé du mélange. En effet, même si le cuivre et le zinc sont en concentrations totales supérieures à leurs CE_{50} respectives, ils sont, cependant, susceptibles d'être présents sous forme

complexée (voir §2.3) et ne peuvent expliquer totalement le pouvoir écotoxique des échantillons. De même, l'étude de la réponse écotoxique d'échantillons de la Vistule (Guéguen *et al.*, 2004 [ACL04a]) n'a pas permis d'expliquer totalement la nature écotoxique de certains échantillons. En particulier, la réponse écotoxique de certains échantillons, augmentée après ultrafiltration, nous a conduits à considérer le rôle potentiellement protecteur des substances humiques colloïdales, qui pourraient diminuer la capacité des métaux à atteindre les sites de transport membranaires en s'adsorbant à la surface des cellules algales comme suggéré par Campbell *et al.* (1997). Le rôle ambivalent des substances humiques, diminuant la biodisponibilité des ETM, mais aussi la favorisant a été étudié depuis par de nombreux auteurs (ex. Vigneault *et al.*, 2000 ; Slaveykova *et al.*, 2003 ; Koukal *et al.*, 2003 ; Meylan *et al.*, 2004 ; Boullemant *et al.*, 2004 ; Vigneault et Campbell, 2005 ; Lamelas et Slaveykova, 2008).

Un dernier exemple peut être donné par l'étude que nous avons menée sur un effluent industriel ayant été rejeté accidentellement par une installation d'assainissement, de traitement et de récupération d'uranium (Gagnaire *et al.*, 2011 [ACL11b]). La réponse écotoxique à cet effluent a été testée sur différents organismes (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Daphnia magna*, *Chironomus riparius*, *Danio rerio*), et comparée à nos connaissances préalables sur la toxicité de l'uranium (Fortin *et al.* 2004 ; Barillet *et al.* 2005; Pradines *et al.*, 2005 [ACL05b] ; Barillet *et al.* 2007 ; Bourrachot *et al.* 2008 [ACL08c] ; Zeman *et al.* 2008 [ACL08f] ; Dias *et al.* 2008). Les résultats obtenus sur les algues, daphnies et œuf de poisson ont montré que la réponse écotoxique ne pouvait pas être uniquement expliquée par la présence d'uranium : bien que cette substance contribue probablement de manière majoritaire à la toxicité, d'autres substances pourraient aussi contribuer à la réponse écotoxique des organismes testés (fluorures, chlorures, chrome). A l'inverse, la réponse de bioessais sur les stades larvaires d'insecte *Chironomus riparius* ou de poisson *Danio rerio* s'est avérée moins sensible que prévu au vu des niveaux d'exposition en uranium.

A l'issue de ces différentes études, trois situations ont pu être dégagées :

- une réponse écotoxique en accord avec le niveau de contamination et la présence de ligands qui module la biodisponibilité des ETM (dans ce cas, les modèles de biodisponibilité permettent d'expliquer la réponse observée) ;
- une réponse écotoxique plus faible qu'attendue, du fait de l'interaction avec d'autres substances : complexation avec un autre contaminant comme le phénol, ou rôle protecteur de colloïdes organiques (substances humiques) sur l'organisme ;
- des échantillons dont la toxicité n'a pu être que partiellement attribuée aux substances identifiées.

➡ Ainsi, ces résultats ont mis en évidence des éléments essentiels pour déterminer l'origine de la réponse écotoxique d'un organisme à un échantillon environnemental : tout d'abord l'identification exhaustive de l'ensemble des substances, la connaissance de leur toxicité pour l'organisme testé de manière isolée dans des conditions comparables, et la détermination de leur biodisponibilité par la mesure de leur labilité ou la détermination de leur spéciation chimique. Mais nos travaux ont aussi montré la nécessité de prendre en compte les interactions entre contaminants dans le milieu (dont la complexation peut modifier leur biodisponibilité, comme illustré entre le cuivre et le phénol dans la Vistule) et de considérer d'autres interactions qui peuvent modifier la physiologie ou l'interaction des organismes avec les substances toxiques (ex. pouvoir protecteur des substances humiques adsorbées sur les cellules algales). Enfin, nos travaux ont montré qu'il est nécessaire de faire appel à plusieurs bioessais (bactéries, algues, crustacés, insectes, poissons) afin de caractériser au mieux le danger écotoxique des mélanges : la sensibilité des organismes mais aussi les interactions peuvent être très différentes selon l'espèce considérée. Cette approche mettant en œuvre une batterie de bioessais est donc complémentaire au calcul du risque cumulé (ex. Δ PAF présenté plus haut), permettant de mettre en évidence les éventuels écarts de réponse écotoxique.

Projet de recherche

A l'issue de ce bilan, nos perspectives de recherche viseront à élargir la prise en compte effective des mélanges de substances stables et radioactives pour l'évaluation du risque écologique. Notre projet est intimement lié au Réseau Européen pour l'Excellence en Radioécologie (STAR, FP7 EURATOM Grant, 2011-2015) qui a notamment pour objectif de générer des outils d'évaluation et de modélisation pour l'écotoxicologie afin d'étudier les impacts des radionucléides dans un contexte de contamination multiple, proche des situations réelles complexes.

Les principales avancées attendues de ce travail seront de vérifier de la pertinence des critères de protection lors d'une exposition à des contaminations multiples. Trois avancées majeures sont visées :

- **identifier des classes de substances, stables ou radioactives, dont les hypothèses de non interaction sont validées, ou au contraire entre lesquelles une interaction systématique (synergie, antagonisme) peut être attendue**

Collaborations : IRSN (K Beaugelin-Seiller, J Garnier-Laplace), équipes du réseau d'excellence STAR (H Thoring, J Brown, NRPA ; H Vandenhove, SCK.CEN)

Les travaux précédemment entrepris ont permis de montrer l'utilité de méthodes de type 'Evaluation du Risque Cumulé' (type Δ PAF ou msPAF, Ragas *et al.*, 2011) pour hiérarchiser les substances chimiques et stables à risque potentiel pour un scénario donné (ex. rejets d'effluents industriels). Il s'agira donc d'élargir la démarche à un ensemble de situations de contamination (par exemple, les différentes industries du cycle du combustible nucléaire, de l'extraction minière à la production d'électricité, jusqu'aux déchets). Une des limites majeures qui empêche la validation des options pour l'évaluation du risque écologique des mélanges de substances est la connaissance limitée que nous avons des situations d'expositions typiques aux mélanges. Il sera donc nécessaire d'identifier les situations d'exposition en mélange qui sont les plus représentatives (analyse des scénarios d'exposition en mélange les plus probables issus des différentes activités anthropiques) et d'identifier ceux pour lesquels un risque de s'écarter de l'hypothèse de non interaction est le plus élevé. La réglementation REACH (Backhaus *et al.*, 2010) pourrait déjà fournir une base de classification des groupes de substances a priori additives ou au contraire présentant un potentiel de synergie. Une telle approche pourrait aussi intégrer les radionucléides.

Nos travaux précédents ont aussi permis de tester les méthodes permettant d'identifier les interactions pour un mélange binaire et de mieux comprendre les mode d'action potentiels à l'origine de celles-ci. Ces travaux devront être poursuivis pour des mélanges ciblés en développant une approche intégrée (ci-après). Cependant, il reste difficilement envisageable de tester de manière systématique une infinité de mélanges binaires. Pour la généralisation de cette démarche, il y a un grand besoin de développer un schéma de classification des substances sur la base de leurs modes d'action, afin de supporter l'application des différents modèles d'addition (CA/IA). Grouper les substances sur la base de la connaissance des récepteurs à l'origine de la réponse biologique des organismes permettrait une évaluation plus adéquate des effets, en focalisant les évaluations sur le type de récepteur biologique touché plutôt que sur chaque substance ou groupe de substances chimiques. L'application de la notion de dose pour représenter l'exposition des substances radioactives est déjà une étape dans ce sens.

- développer un modèle intégré d'exposition et d'effet des mélanges basé sur le couplage de modèles BLM-PBPK-DEBtox, permettant une représentation mécaniste des interactions entre deux substances

Collaborations : thèse A Margerit 2021-2015, IRSN (F Alonzo, C Lecomte-Pradines), HSM (E Gomez), équipes du réseau d'excellence STAR (D Spurgeon, C Svendsen, CEH ; N Honemans, SCK.CEN, D Oughton, UMB)

Le retour d'expérience des études que nous avons effectuées sur les mélanges binaires montre que la prise en compte des mélanges de substances (radioactives et/ou stables) n'est réellement envisageable que dans une approche intégrée, prenant en compte à la fois les interactions (i) de nature physico-chimique dans le milieu d'exposition (domaine de la spéciation chimique), (ii) à l'interface avec les organismes, en particulier les membranes et les transporteurs (processus intégrés sous le vocable de biodisponibilité - voir ci-après les développements prévus), (iii) de nature toxicocinétique (distribution dynamique des substances dans l'organisme), et enfin (iv) de nature proprement toxicologique. En particulier, au-delà des approches classiques en écotoxicologie pour interpréter les effets des mélanges (addition des concentrations, addition des effets), la théorie DEB (Dynamic Energy Budget) abordée en partie dans les travaux précédents (§1.4) offre la possibilité de comprendre et d'intégrer les effets sur la croissance, la reproduction ou la survie des organismes. Elle donne aussi la possibilité d'expliquer les interactions observées en prenant en compte de manière explicite les mécanismes biologiques sous-jacents qui sont impliqués : elle pourrait donc aider à identifier les mécanismes clés et permettre de focaliser les priorités futures de recherche en modélisation et expérimentations pour améliorer nos capacités à identifier les mécanismes d'interaction des substances en mélange (Baas *et al.*, 2009).

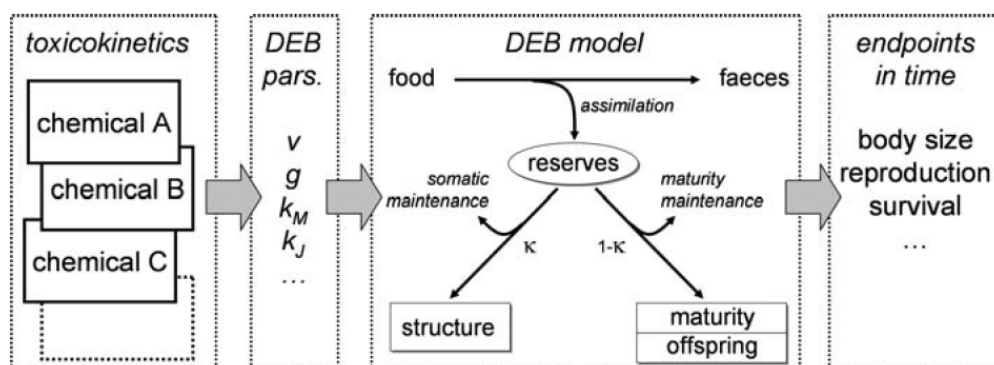


Schéma de l'approche biologique proposée pour décrire les interactions entre substances en mélange (d'après Jager *et al.*, 2010).

Appliquer une telle approche pour le cas des mélanges de radionucléides pourrait potentiellement permettre de valider le concept de l'addition des doses pour les organismes. Cela permettrait en outre d'identifier les besoins d'établir des facteurs d'efficacité biologiques entre types de rayonnements et différentes expositions (externe, interne). Pour le cas des mélanges avec des substances stables, elle permettrait de coupler cette approche avec des modèles innovants basés sur la description des processus de biodisponibilité (BLM, ...) et d'accumulation (biocinétiques) dont il a été montré sur les exemples

uranium-sélénium et tritium-cuivre qu'une partie des interactions pouvait être expliquée au niveau des flux et cinétiques d'internalisation des substances dans les organismes.

Pour mener à bien cette action, des données expérimentales d'expositions chroniques à des radionucléides seuls ou en mélanges avec d'autres contaminants (e.g. métaux traces, biocides) seront générées. Différentes combinaisons binaires seront envisagées en prenant en compte les similitudes et différences de mode d'action dans le but d'étudier les scénarios les plus pertinents.

- **disposer de méthodes analytiques et de modèles de biodisponibilité calibrés, permettant de déterminer l'exposition aux ETM et aux radionucléides (en particulier l'uranium) dans des conditions réalistes (déploiement *in situ*, présence de matière organique dissoute...)**

Collaborations : ANR AMORE et groupe d'experts 'Biodisponibilité (Ph Ciffroy, EDF R&D ; K Tack, Ineris ; C Gourlay, V Archimbaud, Irstea), IRSN (L Février, F Coppin, S Frelon, O Simon, C Adam-Guillermine), HSM (E Gomez, projet EC2CO/MOBIVEC), équipes du réseau d'excellence STAR (B Salbu, UMB ; H Vandenhove, SCK.CEN ; S Lofts, CEH)

L'une des limites de l'approche BLM repose sur le fait que ce type de modélisation n'a à ce jour été calibré que sur un nombre limité d'organismes. La généralisation à d'autres espèces de même groupe taxonomique reste donc un challenge et pourrait être abordé par différentes approches : (i) considérer une similitude dans le mécanisme d'action entre espèces (similitude des constantes de stabilité à l'interface avec le ligand biologique, similitude dans les sites d'action) ; (ii) considérer une similitude entre les traits biologiques (voire écologiques) des espèces étudiées. Ces réflexions sont en cours au sein du Groupe d'experts 'biodisponibilité' et de l'ANR AMORE.

Par ailleurs, le développement et la validation d'outils pour estimer la biodisponibilité des éléments traces métalliques, et en particulier l'uranium, nécessite d'être poursuivie afin d'en permettre une application dans un contexte de multi-contamination et dans des échantillons complexes. Dans ce cadre, différentes actions sont prévues :

- développement d'un modèle BLM complet. Ce travail est prévu dans le cadre du réseau d'excellence STAR, et permettront de développer en parallèle un modèle de type BLM pour l'uranium sur plusieurs organismes (végétaux, invertébrés, poissons), y compris en y intégrant les interactions avec les ETM pour lesquels un BLM existe déjà (ex. cuivre, cadmium)
- raffinement de la détermination de biodisponibilité par des calculs de spéciation prenant en compte la complexation U- Matière organique dissoute (Quenching de fluorescence, analyse de sensibilité des calculs de spéciation). Cette action nécessitera de déterminer l'éventuelle biodisponibilité des complexes organiques et l'effet de la matière organique sur la réponse des organismes
- maîtrise des conditions d'exposition en modulant la biodisponibilité par l'utilisation de nanovecteurs (projet EC2CO-MOBIVEC), et lien avec les concentrations et les doses internes

- détermination de fraction biodisponible de l'uranium *in situ* par la technique DGT (validation en laboratoire de la fraction labile en DGT pour estimer la biodisponibilité ; mesure in situ de la fraction biodisponible de l'uranium par DGT, y compris en présence de matière organique dissoute)

Références bibliographiques

- Altenburger R, Backhaus T, Boedeker W, Faust M, Scholze M, Grimme LH (2000). Predictability of the toxicity of multiple chemical mixtures to *Vibrio fischeri*: Mixtures composed of similarly acting chemicals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19 (9), pp. 2341-2347.
- Altenburger R, Bodeker W, Faust M, Grimme H (1990). Evaluation of the isobologram method for the assessment of mixtures of chemicals. *Ecotox Environ Saf.*, 20, 98-114.
- Baas J, Jager T, Kooijman B (2010). A review of DEB theory in assessing toxic effects of mixtures3 *Science of the Total Environment* 408(18):3740-3745.
- Backhaus T, Altenburger R, Boedeker W, Faust M, Scholze M, Grimme LH (2000). Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19, 2348-2356.
- Backhaus T., Blanck H, Faust M (2010). Hazard and Risk Assessment of Chemical Mixtures under REACH: State of the Art, Gaps and Options for Improvement Swedish Chemicals Agency report PM 3/10. pp 74
- Barata C, Baird DJ, Markich SJ (1998). Influence of genetic and environmental factors on the tolerance of *Daphnia magna* Straus to essential and non-essential metals. *Aquat. Tox.* 42:115-137.
- Berenbaum MC (1985). The expected effect of a combination of agents: the general solution. *J.Theor.Biol.*, 114, 413-431.
- Billoir E, Ferrão-Filho A, Delignette-Muller M, Charles S (2009). DEBtox theory and matrix population models as helpful tools in understanding the interaction between toxic cyanobacteria and zooplankton. *Journal of Theoretical Biology* 258:380-388.
- Bliss CI (1939). The toxicity of poisons applied jointly. *Ann. Appl. Biol.*, 26, 585-615.
- Boullemant A, Vigneault B, Fortin C, Campbell PGC (2004). Uptake of neutral metal complexes by a green alga: Influence of pH and humic substances. *Australian Journal of Chemistry* 57(10):931-936
- Buffle J (1988). Complexation reactions in aquatic systems : An analytical approach. New York, Ellis Horwood, John Wiley and Sons. 692 pp.
- Campbell PGC (1995). Interactions between trace metals and aquatic organisms : A critique of the free-ion activity model. In : « Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems ». Tessier A. and Turner D.R. Eds. Chichester, John Wiley and Sons. p 45-102.
- Campbell PGC, Twiss MR, Wilkinson KJ (1997). Accumulation of natural organic matter on the surfaces of living cells and its implication for the interaction of biota with toxic solutes. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* 54:2543-2554.
- Cedergreen N, Christensen AM, Kamper A, Kudsk P, Mathiassen SK, Streibig JC, Sørensen H (2008). A review of independent action compared to concentration addition as reference models for mixtures of compounds with different molecular target sites. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27 (7), pp. 1621-1632.
- Cedergreen N, Streibig JC (2005). Can the choice of endpoint lead to contradictory results of mixture-toxicity experiments? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24 (7), pp. 1676-1683.
- De Schampelaere KAC, Janssen CR (2002). A biotic ligand model predicting acute copper toxicity for *Daphnia magna*: The effects of calcium, magnesium, sodium, potassium, and pH. *Environmental Science and Technology* 36(1):48-54
- Denison F (2004). Uranium (VI) speciation: modelling, uncertainty and relevance to bioavailability models. Application to uranium uptake by the gills of a freshwater bivalve. Thèse de doctorat de l'université d'Aix-Marseille I spécialité Biosciences de l'Environnement, Chimie et Santé, 347p.
- Di Toro DM, Allen HE, Bergman HL, Meyer JS, Paquin PR, Santore RC (2001). Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. 1. Technical basis. *Environ. Toxicol. Chem.* 10:2383-2396.
- Di Toro DM, McGrath JA, Hansen DJ, Berry WJ, Paquin PR, Mathew R, Wu KB, Santore RC (2005). Predicting sediment metal toxicity using a sediment biotic ligand model: Methodology and initial application. *Env. Toxicol. Chem.* 24:2410-2427.
- Dreschner K, Boedeker W. 1995. Assessment of the combined effects of substances: The relationship between concentration addition and independent action. *Biometrics*, 51, 716-730.
- Dressler V, Muller G, Suhnel J (1999). CombiTool—a new computer program for analyzing combination experiments with biologically active agents. *Comp. Biomed. Res.*, 32, 145-160.
- European Commission (2003). Technical guidance document in support of Commission Directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances and Commission Regulation (EC) No 1488/ 94 on risk assessment for existing substances, Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Part II; Office for Official Publication of the European Communities: Luxembourg, 2003.

- Faust M, Altenburger R, Backhaus T, Blanck H, Boedeker W, Gramatica P, Hamer V, Scholze M, Vighi M, Grimme LH (2001). Predicting the joint algal toxicity of multi component s-triazine mixtures at low-effect concentrations of individual toxicants. *Aquat. Toxicol.*, 56,13-32.
- Faust M, Scholze M (2004). Competing concepts for the prediction of mixture toxicity: Do the differences matter for regulatory purposes? EU project BEAM. *Final. European Commission*, Brussels, Belgium.
- Feron VJ, Groten JP (2002). Toxicological evaluation of chemical mixtures. *Food Chem. Toxicol.*, 40:825-839.
- Forbes VE, Calow P (2002a). Extrapolation in ecological risk assessment: Balancing pragmatism and precaution in chemical controls legislation. *BioScience* 52(3):249-257.
- Forbes VE, Calow P (2002b). Species Sensitivity Distributions Revisited: A Critical Appraisal. *Hum. Ecol. Risk Assess.* 2002(8):473-492.
- Forbes VE, Forbes TL (2002) Ecotoxicologie. Théorie et applications. *coll. Du labo au terrain, Editions INRA, France.*
- Fortin C, Denison FH, Garnier-Laplace J (2007). Metal-phytoplankton interactions: Modelling the effect of competing ions (H^+ , Ca^{2+} , and Mg^{2+}) on uranium uptake. *Env. Toxicol. Chem.* 26:242-248.
- Fortin C, Dutel L, Garnier-Laplace J (2004). Uranium complexation and uptake by a green alga in relation to chemical speciation: The importance of the free uranyl ion. *Env. Toxicol. Chem.* 23:974-981.
- Fournier E, Tran D, Denison F, Massabuau JC, Garnier- Laplace J (2004). Valve closure response to uranium exposure for a freshwater bivalve *Corbicula fluminea*: quantification of the influence of pH. *Environ. Toxicol. Chem.* 23:1108-1114.
- Gessner PK (1995). Isobolographic analysis of interactions: an update on applications and utility. *Toxicology*, 105, 161-179.
- Greco, W. R., G. Bravo, 1995. The search for synergy: a critical review from a response surface perspective. *Pharmacol. Rev.* 47, 331-385.
- Hamelink JL, Landrum PF, Bergman HL, Benson WH (1994). Bioavailability: Physical, Chemical and Biological Interactions. CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A.
- Jager T, Vandenbrouck T, Baas J, De Coen WM, Kooijman SALM (2010). A biology-based approach for mixture toxicity of multiple endpoints over the life cycle. *Ecotoxicology* 19(2):351-361.
- Jonker MJ, Svendsen C (2005). Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. *Env. Toxicol. Chem.*, 24, 2701-2713.
- Knauert S, Knauer K (2008). The role of reactive oxygen species in copper toxicity to two freshwater green algae. *J Phycol* 44:311-319.
- Kooijman SALM (1993). Dynamic energy budgets in biological systems, theory and applications in ecotoxicology. Cambridge.
- Kooijman SALM, Bedaux JJM (1996). Analysis of toxicity tests on *Daphnia* survival and reproduction. *Water Research* 30(7):1711-1723.
- Koukal B, Guéguen C, Pardos M, Dominik J (2003). Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Chemosphere* 53(8):953-961
- Lamelas C, Slaveykova VI (2008). Pb uptake by the freshwater alga *Chlorella kesslerii* in the presence of dissolved organic matter of variable composition. *Environmental Chemistry* 5(5):366-372
- Markich S, Brown P, Jeffree R (1996). The use of geochemical speciation modeling to predict the impact of uranium to freshwater biota. *Radiochimica Acta* 74:321-326.
- Markich SJ, Brown PL, Jeffree RA, Lim RP (2000). Valve movement responses of *Velesunio angasi* (Bivalvia: Hyriidae) to manganese and uranium: An exception to the free ion activity model. *Aquat. Tox.* 51:155-175.
- Meylan S, Behra R, Sigg L (2004). Influence of metal speciation in natural freshwater on bioaccumulation of copper and zinc in periphyton: A microcosm study. *Environmental Science and Technology* 38(11):3104-3111.
- Morel F (1983). Principles of Aquatic Chemistry. New York, Wiley-Interscience. 301 pp.
- Newman M, Jagoe C(1994). Ligands and the bioavailability of metals in aquatic environments. In : « Bioavailability - Physical, Chemical, and biological interactions ». Hamelink, Bergman, Benson Eds. USA, Lewis Pub. p 39-61.
- Noller BN (1991). Non-Radiological contaminants from uranium mining and milling at Ranger, Jabiru, Northern territory, *Australia. Environmental Monitoring and Assessment*, 19, 383-400.
- Paquin PR, Gorsuch JW, Apte S, Batley GE, Bowles KC, Campbell PGC, Delos CG, Di Toro DM, Dwyer RL, Galvez F, Gensemer RW, Goss GG, Hogstrand C, Janssen CR, McGeer JC, Naddy RB, Playle RC, Santore RC, Schneider U, Stubblefield WA, Wood CM, Wu KB (2002). The biotic ligand model: A historical overview. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology* 133(1-2):3-35.
- Pereira S, Camilleri V, Floriani M, Cavalié I, Garnier-Laplace J, Adam-Guillermin C (2012). Genotoxicity of uranium contamination in embryonic zebrafish cells. *Aquatic Toxicology* 109:11-16.
- Pickett JB, Specht WL, Keyes JL (1993). Acute and chronic toxicity of uranium compounds to *Ceriodaphnia dubia*, Rep. No. WSRC-RP-92-995. Prepared for the Department of Energy under contract DE-AC09-89SR 18035.
- Poston TM, Hanf Jr RW, Simmons MA (1984). Toxicity of uranium to *Daphnia magna*. *Water, Air, and Soil Pollution* 22:289-298.

- Ragas AMJ, Oldenkamp R, Preeker NL, Wernicke J, Schlink U (2011). Cumulative risk assessment of chemical exposures in urban environments. *Environment International* 37(5):872-881.
- Ragas AMJ, Teuschler LK, Posthuma L, Cowan CE (2011). Human and Ecological Risk Assessment of Chemical Mixtures. In "Mixture toxicity. Linking approaches from Ecological and Human Toxicology". Van Gestel C, Jonker MJ, Kammenga JE, Laskowski R, Svendsen C (eds), SETAC Books, CRC Press, Boca Raton.
- Ramade F (2007). Introduction à l'écotoxicologie - Fondements et applications. *Éditions TEC & DOC* Lavoisier, France, 618 pp.
- Reiley MC (2007). Science, policy, and trends of metals risk assessment at EPA: How understanding metals bioavailability has changed metals risk assessment at US EPA. *Aquatic Toxicology*, 84(2), 292-298
- Slaveykova VI, Wilkinson KJ (2005). Predicting the bioavailability of metals and metal complexes: Critical review of the biotic ligand model. *Environmental Chemistry* 2(1):9-24.
- Slaveykova VI, Wilkinson KJ, Ceresa A, Pretsch E (2003). Role of fulvic acid on lead bioaccumulation by *Chlorella kesslerii*. *Environmental Science and Technology* 37(6):1114-1121.
- Sørensen H, Cedergreen N, Skovgaard I, Streibig JC (2007). An isobole based statistical model and test for synergism/antagonism in binary mixture toxicity experiments. *Environmental and Ecological Statistics* 14, 383-397.
- Suter (II) GW (Ed.) (1993). *Ecological Risk Assessment*. Chelsea, MI: Lewis Publishers.
- US EPA (1992) Framework for ecological risk assessment. US EPA, Risk Assessment Forum, EPA/630/R-92/001.
- US EPA (1998). Guidelines for Ecological Risk Assessment. USEPA, Risk Assessment Forum, EPA/630/R-95/002F.
- Van De Meent D, Huijbregts MAJ (2005). Calculating life-cycle assessment effect factors from potentially affected fraction-based ecotoxicological response functions. *Environ. Toxicol. Chem.* 24:1573-1578.
- van der Lee J (1998). Thermodynamic and mathematical concepts of CHESS. Technical Report LHM/RD/98/39, CIG, 'Ecole des Mines de Paris, Fontainebleau, France. <http://chess.geosciences.ensmp.fr/>
- Van Gestel C, Jonker MJ, Kammenga JE, Laskowski R, Svendsen C (eds) 2011. *Mixture toxicity. Linking approaches from Ecological and Human Toxicology*. SETAC Books, CRC Press, Boca Raton.
- Vettori MV, Goldoni M, Caglieri A, Poli D, Folesani G, Ceccatelli S, Mutti A (2006). Antagonistic effects of methyl-mercury and PCB153 on PC12 cells after a combined and simultaneous exposure. *Food Chem. Toxicol.* 44, 1505-1512.
- Viau M, Gastaldo J, Bencokova Z, Joubert A, Foray N (2008). Cadmium inhibits non-homologous end-joining and over-activates the MRE11-dependent repair pathway. *Mutat Res* 654:13-21.
- Vigneault B, Campbell PGC (2005). Uptake of cadmium by freshwater green algae: Effects of pH and aquatic humic substances. *Journal of Phycology* 41(1):55-61.
- Vigneault B, Percot A, Lafleur M, Campbell PGC (2000). Permeability changes in model and phytoplankton membranes in the presence of aquatic humic substances. *Environmental Science and Technology* 34(18):3907-3913.

Publications et production scientifique

La production scientifique en dehors des travaux de thèse est classée ci-dessous selon la codification AERES. Pour les articles indexés, le facteur d'impact de la revue (JCR 2010) et le nombre de citations (Scopus, au 30/3/2012) sont donnés entre parenthèses.

Pour les travaux directement issus de la (co)direction de stagiaires, doctorants et post-doctorants (voir **§Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), le nom de la personne est encadré (ex. Réty C).

Articles dans des revues internationales ou nationales avec comité de lecture répertoriées (n=26)

L'index H (auto-citations exclues) est de **8** (8 articles cités au moins 8 fois).

(*) article dont le tiré à part est fourni dans la troisième partie de ce mémoire.

- ACL12a Al Kaddissi S, Legeay A, Elia AC, Gonzalez P, Camilleri V, **Gilbin R**, Simon O (2012). Effects of uranium on crayfish *Procambarus clarkii* mitochondria and antioxidants responses after chronic exposure: What have we learned? *Ecotoxicology and Environmental Safety* 78:218-224. (I.F. JCR 2010 : 1.466).
- ACL12b(*)** Réty C, **Gilbin R**, Gomez E. (2012). Induction of reactive oxygen species and algal growth inhibition by tritiated water with or without copper. *Environmental Toxicology* 27(3):155-165. (I.F. JCR 2010 : 1.932).
- ACL11a Al Kaddissi S, Legeay A, Gonzalez P, Floriani M, Camilleri V, **Gilbin R**, Simon O (2011). Effects of uranium uptake on transcriptional responses histological structures and survival rate of the crayfish *Procambarus clarkii*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74(7):1800-1807. (I.F. JCR 2010 : 2.340 / cité 1 fois).
- ACL11b(*)** Gagnaire B, Boyer P, Bonzom JM, Lecomte-Pradines C, Simon O, **Gilbin R** (2011). Transfer modelling and toxicity evaluation of the effluent from an installation of cleansing and uranium recovery using a battery of bioassays. *Ecotoxicology* 20(1):187-201. (I.F. JCR 2010 : 3.051 / cité 1 fois).
- ACL11c Massarin S, Beaudouin R, Zeman F, Floriani M, **Gilbin R**, Alonzo F, Pery ARR (2011). Biology-based modeling to analyze uranium toxicity data on *Daphnia magna* in a multigeneration study. *Environmental Science and Technology* 45(9):4151-4158. (I.F. JCR 2010 : 4.827 / cité 1 fois).
- ACL11d Pereira S, Bourrachot S, Cavalie I, Plaire D, Dutilleul M, **Gilbin R**, Adam-Guillermin C (2011). Genotoxicity of acute and chronic gamma-irradiation on zebrafish cells and consequences for embryo development. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30(12):2831-2837. (I.F. JCR 2010 : 3.026).
- ACL11e Simon O, Floriani M, Cavalie I, Camilleri V, Adam-Guillermin C, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2011). Internal distribution of uranium and associated genotoxic damages in the chronically exposed bivalve *Corbicula fluminea*. *Journal of Environmental Radioactivity* 102(8):766-773. (I.F. JCR 2010 : 1.466 / cité 1 fois).
- ACL11f Simon O, Massarin S, Coppin F, Hinton T.G, **Gilbin R** (2011). Investigating the embryo/larval toxic and genotoxic effects of γ irradiation on zebrafish eggs. *Journal of Environmental Radioactivity* 102(11):1039-1044. (I.F. JCR 2010 : 1.466 / cité 1 fois).
- ACL10a Massarin S, Alonzo F, Garcia-Sanchez L, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J, Poggiale JC (2010). Effects of chronic uranium exposure on life history and physiology of *Daphnia magna* over three successive generations. *Aquatic Toxicology* 99(3):309-319. (I.F. JCR 2010 : 3.333 / cité 6 fois).
- ACL09a(*)** Mathews T, Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Adam-Guillermin C, Della-Vedova C (2009). A probabilistic assessment of the chemical and radiological risks of chronic exposure to uranium in freshwater ecosystems. *Environmental Science and Technology* 43(17):6684-6690. (I.F. JCR 2010 : 4.827 / cité 8 fois).
- ACL08a Alonzo F, Hertel-Aas T, Gilek M, **Gilbin R**, Oughton DH, Garnier-Laplace J (2008). Modelling the propagation of effects of chronic exposure to ionising radiation from individuals to populations. *Journal of Environmental Radioactivity* 99(9):1464-1473. (I.F. JCR 2010 : 1.466 / cité 5 fois).
- ACL08b(*)** Alonzo F, **Gilbin R**, Zeman FA, Garnier-Laplace J (2008). Increased effects of internal alpha irradiation in *Daphnia magna* after chronic exposure over three successive generations. *Aquatic Toxicology* 87(3):146-156. (I.F. JCR 2010 : 3.333 / cité 9 fois).
- ACL08c Bourrachot S, Simon O, **Gilbin R** (2008). The effects of waterborne uranium on the hatching success development and survival of early life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology* 90(1):29-36. (I.F. JCR 2010 : 3.333 / cité 12 fois).
- ACL08d(*)** Garnier-Laplace J, Copplestone D, **Gilbin R**, Alonzo F, Ciffroy P, Gilek M, Agüero A, Björk M, Oughton DH, Jaworska A, Larsson CM, Hingston JL (2008) Issues and practices in the use of effects data from FREDERICA

- in the ERICA Integrated Approach. *Journal of Environmental Radioactivity* 99(9):1474-1483. (I.F. JCR 2010 : 1.466 / cité 27 fois).
- ACL08e(*)** Gilbin R, Alonzo F, Garnier-Laplace J (2008). Effects of chronic external gamma irradiation on growth and reproductive success of *Daphnia magna*. *Journal of Environmental Radioactivity* 99(1):134-145. (I.F. JCR 2010 : 1.466 / cité 10 fois).
- ACL08f(*)** Zeman FA, Gilbin R, Alonzo F, Lecomte-Pradines C, Garnier-Laplace J, Aliaume C (2008). Effects of waterborne uranium on survival growth reproduction and physiological processes of the freshwater cladoceran *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 86(3):370-378. (I.F. JCR 2010 : 3.333 / cité 15 fois).
- ACL07a(*)** Geoffroy L, Gilbin R, Simon O, Floriani M, Adam-Guillermin C, Pradines C, Cournac L, Garnier-Laplace J (2007). Effect of selenate on growth and photosynthesis of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquatic Toxicology* 83(2):149-158. (I.F. JCR 2010 : 3.333 / cité 11 fois).
- ACL07b Tusseau-Vuillemin MH, Gourlay C, Lorgeoux C, Mouchel JM, Buzier R, Gilbin R, Seidel JL, Elbaz-Poulitchet F (2007). Dissolved and bioavailable contaminants in the Seine river basin. *Science of the Total Environment* 375(1-3):244-256. (I.F. JCR 2010 : 3.190 / cité 31 fois).
- ACL06a(*)** Alonzo F, Gilbin R, Bourrachot S, Floriani M, Morello M, Garnier-Laplace J (2006). Effects of chronic internal alpha irradiation on physiology, growth and reproductive success of *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 80(3):228-236. (I.F. JCR 2010 : 3.333 / cité 9 fois).
- ACL06b(*)** Garnier-Laplace J, Della-Vedova C, Gilbin R, Copplestone D, Hingston J, Ciffroy P (2006). First derivation of predicted-no-effect values for freshwater and terrestrial ecosystems exposed to radioactive substances. *Environmental Science and Technology* 40(20):6498-6505. (I.F. JCR 2010 : 4.827 / cité 30 fois).
- ACL06c Bion L, Ansoborlo E, Moulin V, Reiller P, Collins R, Gilbin R, Février L, Perrier T, Denison F, Cote G (2005). Influence of thermodynamic database on the modelisation of americium(III) speciation in a simulated biological medium. *Radiochimica Acta* 93(11):715-718. (I.F. JCR 2010 : 1.128 / cité 5 fois).
- ACL05a Devez A, Gomez E, Gilbin R, Elbaz-Poulitchet F, Persin F, Andrieux P, Casellas C (2005). Assessment of copper bioavailability and toxicity in vineyard runoff waters by DPASV and algal bioassay. *Science of the Total Environment* 348(1-3):82-92. (I.F. JCR 2010 : 3.190 / cité 6 fois).
- ACL05b Pradines C, Wiktor V, Camilleri V, Gilbin R (2005). Development of biochemical methods to estimate the subcellular impact of uranium exposure on *Chlamydomonas reinhardtii*. *Radioprotection* Sup1(40):S163-S168. (I.F. JCR 2010 : 0.862).
- ACL04a Guéguen C, Gilbin R, Pardos M, Dominik J (2004). Water toxicity and metal contamination assessment of a polluted river: The Upper Vistula River (Poland). *Applied Geochemistry* 19(1):153-162. (I.F. JCR 2010 : 2.017 / cité 21 fois).
- ACL04b(*)** Tusseau-Vuillemin MH, Gilbin R, Bakkaus E, Garric J (2004). Performance of diffusion gradient in thin films to evaluate the toxic fraction of copper to *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 23(9):2154-2161. (I.F. JCR 2010 : 3.026 / cité 27 fois).
- ACL03a(*)** Tusseau-Vuillemin MH, Gilbin R, Taillefert M (2003). A dynamic numerical model to characterize labile metal complexes collected with diffusion gradient in thin films devices. *Environmental Science and Technology* 37(8):1645-1652. (I.F. JCR 2010 : 4.827 / cité 45 fois).

3.4 Articles dans des revues avec comité de lecture non répertoriées dans des bases de données internationales (n=3)

- ACLN09a Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, Gilbin R, Adam-Guillermin C (2009). A unified Ecological Risk Assessment on freshwaters for chemical and radiological ecotoxicity: The uranium case. *Radioprotection* 44(5):913-918. (I.F. JCR 2010 : 0.862).
- ACLN09b Garnier-Laplace J, Beaugelin-Seiller K, Gilbin R, Della-Vedova C, Jolliet O, Payet J (2009). A Screening Level Ecological Risk Assessment and ranking method for liquid radioactive and chemical mixtures released by nuclear facilities under normal operating conditions. *Radioprotection* 44(5):903-908. (I.F. JCR 2010 : 0.862 / cité 2 fois).
- ACLN08a Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, Gilbin R, Adam-Guillermin C (2008). Uranium chemical and radiological risk assessment for freshwater ecosystems receiving ore mining releases: Principles equations and parameters, AIP Conference Proceedings 1034:333-336.

Articles dans des revues sans comité de lecture (n=3)

- ASCL10 Gilbin R, Garnier-Laplace J; Hinton TG; Alonzo F; Beaugelin K (2010). Understanding and evaluation of exposure and effects to non Human species from Radionuclides: recent advances and perspectives in nuclear ecotoxicology research in France and Europe. *IANCAS Bulletin* nov. 2010
- ASCL09 Berthomieu C, Chapon V, Gilbin R (2009). Utilization of bacteria to decontaminate the environment contaminated by radionuclear materials [Utiliser des bactéries pour dépolluer les environnements contaminés par des radionucléides]. *Biofutur* (295):33-36.
- ASCL08 Adam-Guillermin C, Alonzo F, Bonzom JM, Gilbin R, Garnier-Laplace J, Simon O (2008). Ecological consequences of chronic uranium exposure [Conséquences écologiques d'une exposition chronique à l'uranium] (2008) *Biofutur* (291):42-45.

Communications par affiche dans un congrès international ou national (n=45)

- AFF12a Février L, Guigues S, Pelfrène A, Bucher G, Frelon S, Coppin F, Simon O, **Gilbin R** (2012). Assessment of U bioavailability in water: complementary use of thermodynamic modelling and DGT. 4ème séminaire spéciation CETAMA 29-31 Mai 2012 Montpellier
- AFF12b **Gilbin R**, Février L. ; Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J (2012). Apport des recherches sur l'écotoxicité de l'uranium en eau douce pour la proposition d'une PNEC par domaines de biodisponibilité. Colloques du réseau Antiopes, 19-20 mars 2012, Avignon.
- AFF12c Frelon S, Simon O, Cagnat X, Gurriaran R, Beaugelin K, **Gilbin R** (2012). Uranium & dosimetry in aquatic organisms: which isotopes & descendants to consider?. IRPA 11-18 mai 2012 Glasgow Ecosse
- AFF12d Frelon S, Mounicou S, **Gilbin R**, Simon O (2012). Uranium fate in crayfish after different conditions of exposure. Focus on U accumulation and speciation in the cytosolic fraction of 2 target organs: gills and digestive gland. SETAC 20-24 mai 2012 Berlin
- AFF10a Adam-Guillermin C, Cavalié I, Camilleri V, Gagnaire B, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2010). Genotoxicity in gills and gonads of the zebrafish *Danio rerio* in relation to uranium toxicokinetics. SETAC 23-27 mai 2010 Seville
- AFF10b **Al Kaddissi S**, Simon O, Legeay A, Gonzalez P, Camilleri V, Floriani M, **Gilbin R**, Massabuau JC (2010). A comparative study of effects of acute exposures to uranium and cadmium on cellular and population levels of the crayfish: *Procambarus clarkii*. SETAC 23-27 mai 2010 Seville
- AFF10c **Al Kaddissi S**, Simon O, Legeay A, Gonzalez P, Camilleri V, Floriani M, **Gilbin R**, Massabuau JC (2010). Etude comparative de l'impact de l'uranium et du cadmium chez l'écrevisse *Procambarus clarkii*. SEFA 31 mars -1 avril 2010 Versailles
- AFF10d Simon O, Floc'h E, Geffroy B, **Gilbin R** (2010). Effects and environmental consequences of U exposure on the fish *Danio rerio*. SETAC 23-27 mai 2010 Seville
- AFF10e Simon O, Floc'h E, Geffroy B, **Gilbin R** (2010). Reprotoxicité de l'Uranium chez le poisson *Danio rerio*. SEFA 31 mars -1 avril 2010 Versailles
- AFF09a Février L, Pelfrène A, Le Moing F, Bonzom JM, Coppin F, Motelica-Heino M, **Gilbin R** (2009). Uranium measurement by DGT: validation of the DGT technique in simplified media and first deployment in a naturally contaminated sediment. Conference on DGT and the Environment (Santa Margherita di Pula Sardinia Italy). 7/10/2009 au 9/10/2009
- AFF09b Gagnaire B, Bonzom JM, Boyer P, **Gilbin R**, Pradines C, Simon O. (2009). Toxicity evaluation of the effluent of a nuclear plant (Tricastin France) after an uranium spillage using a battery of bioassays. ASLO 25-30 janv 2009 2009 Nice
- AFF09c **Massarin S**, Alonzo F, Dutilleul M, **Gilbin R**, Poggiale JC (2009). Effects of multigenerational uranium exposure on life history and energy budget of *Daphnia magna*. SETAC Europe 19th Annual Meeting (Goteborg Suède). 31/05/2009 au 4/06/2009
- AFF09d **Réty C**, **Gilbin R**, Gomez E. (2009). Toxicity of tritiated water as single substance or in mixture with copper on green algae (*Chlamydomonas reinhardtii*). SETAC Europe 19th Annual Meeting (Goteborg Suède). 31/05/2009 au 4/06/2009
- AFF09e Simon O, Mottin E, Geffroy B, **Gilbin R** (2009). Accumulation levels and effect of trophic transfer of U in the fish *D. rerio*. PRIMO 17-20 mai 2009 2009 Bordeaux
- AFF08a **Bourrachot S**, Aubergat L, **Gilbin R** (2008). Effects of uranium on Zebrafish reproductive function: links with biomarkers of exposure and of effects SETAC Europe - 18th Annual Meeting Varsovie Pologne.
- AFF08b **Massarin S**, Alonzo F, **Gilbin R**, Poggiale JC (2008). Effects of food conditions on physiological processes and energy budget of *Daphnia magna* exposed to radionuclides - SETAC Europe 18th Annual Meeting (Varsovie Pologne) 25/05/2008 au 29/05/2008
- AFF08c **Réty C**, Gomez E, **Gilbin R** (2008). Interaction of two types of ionising radiation (beta and gamma) on copper uptake by freshwater algae (*Chlamydomonas reinhardtii*) . SETAC Europe 18th Annual Meeting (Varsovie Pologne) 25/05/2008 au 29/05/2008
- AFF08d Simon O, Massarin S, Adam-Guillermin C, Cavalié I, Bourrachot S, **Gilbin R** (2008). Investigating the embryotoxic and genotoxic effects of gamma irradiation on zebrafish eggs. SETAC Europe 18th Annual Meeting (Varsovie Pologne) 25/05/2008 au 29/05/2008
- AFF08e **Zeman F**, Alonzo F, Pradines C, Aliaume C, **Gilbin R** (2008). Importance of water chemistry for the toxicity of uranium in an aquatic organism. 5th SETAC world Congress 03/08/2008 au 07/08/2008
- AFF08f **Zeman F**, Pradines C, Aliaume C, **Gilbin R** (2008). Effect of a binary mixture (Uranium-Selenium) on the microcrustacean *Daphnia magna*. SETAC Europe 18th Annual Meeting 25/05/2008 au 29/05/2008
- AFF07a **Alonzo F**, **Gilbin R**, Zeman F, Garnier-Laplace J (2007). Effects of chronic internal alpha irradiation on individual energy budget in *Daphnia magna* and consequences for population dynamics. SETAC Europe 2007 Meeting 20-24 may 2007 Porto (Portugal).
- AFF07b Garnier-Laplace J, Beaugelin K, Payet J, **Gilbin R** (2007). A screening level risk assessment and ranking method for chemical and radioactive mixtures released in freshwaters by nuclear facilities under normal operating conditions. SETAC Europe 2007 Meeting 20-24 may 2007 Porto (Portugal).
- AFF07c **Geoffroy L**, **Gilbin R**, Guillemin M, Adam-Guillermin C, Pradines C, Garnier-Laplace J (2007). Selenium uptake and effects on freshwater phytoplankton : increasing ecological relevance by using various chemical forms algae species and sensitive endpoints. SETAC Europe 2007 Meeting 20-24 may 2007 Porto (Portugal).
- AFF07d **Réty C**, **Gilbin R**, Gomez E, Garnier-Laplace J (2007). Effects of multiple stressors on freshwater algae: application to routine liquid effluents released from nuclear power plants. SETAC Europe 2007 Meeting 20-24 may 2007 Porto (Portugal).

- AFF07e Zeman F, **Gilbin R**, Alonzo F, Pradines C, Garnier-Laplace J, Aliaume C (2007). Chronic effects of uranium on *Daphnia magna* and consequences on populations: Integrating physiological processes into a classical 21-day reproduction test. SETAC Europe 2007 Meeting 20-24 may 2007 Porto (Portugal).
- AFF07f Zeman F, Pradines C, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J, Aliaume C (2007). Selenium and uranium combined effect on the microcrustacean *Daphnia magna*: a preliminary study. S SETAC Europe 2007 Meeting 20-24 may 2007 Porto (Portugal).
- AFF06a Bourrachot S, Fuma S, Alonzo F, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2006). Chronic effects of uranium on ingestion and reproduction in *Daphnia magna*. Consequences for trophic transfer and energy budget. SETAC Europe 2006 Meeting The Hague (Netherlands).
- AFF06b **Gilbin R**, Alonzo F, Pradines C, Fuma S, Zeman F, Bourrachot S, Garnier-Laplace J (2006). Assessing chronic effects of radioactive substances at individual and population levels in *Daphnia magna*. Experimental and modelling approach. (P) SETAC Europe 16th annual meeting The Hague The Netherlands 7-11 may 2006
- AFF06c Zeman F, Alonzo F, **Gilbin R**, Pradines C, Garnier-Laplace J (2006). Chronic effects of selenium on physiological processes of *Daphnia Magna*. SETAC Europe 2006 Meeting The Hague (Netherlands).
- AFF05a Alonzo F, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2005). Extrapolating effects of stress from individuals to populations based on bioenergetics: Experimental and modelling approach. SETAC Europe 15th Annual Meeting Lille France
- AFF04a Casiot C, Aliaume C, Gomez E., Naulet F., Hewa Bandulage A, Parra K, **Gilbin R.**, Casellas C, Elbaz-Poulichet F (2004). Seasonal variations of arsenic and metal concentrations in a river impacted by acid mine drainage (Carnoulès site France) ; relationship with metal concentrations in fish. SETAC Europe 15th Annual Meeting Prague Tcheck Republik
- AFF04b **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2004). Dose-effect relationship on the green algae *Chlamydomonas reinhardtii*: a first attempt to discriminate chemo and radiotoxicity on growth parameters using different uranium isotopes. SETAC Europe 15th Annual Meeting Prague Check Republik
- AFF04c Svadlenkova M, **Gilbin R**, Fortin C, Garnier-Laplace J (2004). Uranium adsorption and uptake by the diatom *Cyclotella meneghiniana*: A comparison with the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. SETAC Europe 15th Annual Meeting Prague Tcheck Republik
- AFF03a **Gilbin R**, Fortin C, Adam C, Pradines C, Floriani M, Sabatier S, Garnier-Laplace J (2003). Uranium chronic toxicity for a green alga: Bioavailability cellular distribution and relevant toxicity endpoints. SETAC Europe Hamburg MOP/96
- AFF02a Devez A, **Gilbin R**, Gomez E, Persin F, Andrieux P, Casellas C (2002). Copper speciation bioavailability and toxicity in runoff waters from contrasted fields and aquatic ecosystem receptor in a multipollution context. Résumé accepté pour un poster. SETAC Europe 12th Annual Meeting Vienna Austria 12-16 May 2002.
- AFF02b **Gilbin R**, Bakkaus E, Tusseau-Vuillemin MC (2002). Trace metals monitoring in water: ability of DGT measurements for the estimation of bioavailability. Poster. EGS annual meeting Nice France 21-26 May 2002. AEHMS 7th International Conference. Lyon 15-17 septembre 2003.
- AFF01a Devez A, **Gilbin R**, Gomez E, Andrieux P, Persin F, Casellas C (2002). Bioavailability of copper zinc and arsenic species in runoff waters from contrasted fields in a Mediterranean vineyard catchment. Poster. SETAC Europe 11th Annual Meeting 6-10 mai 2001 Madrid Espagne.
- AFF01b Devez A, **Gilbin R**, Gomez E, Casellas C, Persin F (2001). Spéciation et Biodisponibilité du Cuivre présent dans les eaux de ruissellement de parcelles viticoles. 4ème Colloque du groupe français de l'IHSS. Rôle et Comportement des Matières Organiques dans l'Environnement. 21-22 Novembre 2001 Limoges France.
- AFF00a Guéguen C, **Gilbin R**, Pardos M, Dominik J. (2000). Trace Metal Bioavailability in a Polluted River: The Upper Vistula River (Southern Poland). Poster. ASLO Aquatic Sciences Meeting "Research Across Boundaries" 5-9 juin 2000 Copenhagen Denmark.
- AFF00b Guéguen C, **Gilbin R**, Dominik J, Pardos M (2000). Role of the colloidal fraction in metal distribution in the Vistula River Poland. Poster. 5th International Symposium & Exhibition on Environmental Contamination in Central & Eastern Europe 12-14 Sept. 2000 Prague Czech Republic.
- AFF00c Guéguen C, Loizeau JL, **Gilbin R**, Arpagaus P, Pardos M, Dominik J (2000). Separation and characterisation of colloidal material in natural waters using tangential flow ultrafiltration : example of the Upper Vistula River. Poster. 4th International Conference and 16th National Conference " Water Supply and Water Quality " 11-13 Sept. 2000 Krakow Poland.

Communications orales dans un congrès international ou national (n=48)

- COM12a **Gilbin R**, Février L, Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J (2012). Uranium : vers une norme de qualité environnementale pour les cours d'eau français. SFRP 19-20 juin 2012 Paris
- COM12b Pereira S, Cavalié I, Camilleri V, Floriani M, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J, Adam-Guillermin C (2012). Etude de la génotoxicité des métaux trace dans des cellules embryonnaires de poisson zèbre: caractérisation de la réparation des cassures double-brin . ANTIOPES 19-20 mars 2012 Avignon
- COM11a Al Kaddissi S, Simon O; Legeay A; Gonzalez P; Camilleri V; Frelon S; **Gilbin R** (2011). The use of molecular responses of crayfish *Procambarus clarkii* as biomarkers of cadmium and uranium. . SETAC Europe 15-19 Mai 2011 2011
- COM11b Faucher K, Adam-Guillermin C, Floriani M, **Gilbin R** (2011). Applications du MET et du MEB en écologie sensorielle -cas de l'observation de certains organes sensoriels cibles en écotoxicologie chez le poisson. GUMP 9-16 mai 2011 2011 Pointe-à-Pitre (Guadeloupe)

- COM11c Frelon S, Al Kaddissi S, Floriani M, **Gilbin R**, Simon O (2011). Uranium biodistribution in crayfish *Procambarus clarkii*-Approach of its speciation in digestive gland and gills. TraceSpec 2011 13th 18-20 mai 2011 Pau
- COM11d Gagnaire B, Adam-Guillermin C, **Gilbin R** (2011). De la molécule à la population: utilisation du poisson zèbre *Danio rerio* comme modèle pour évaluer les effets biologiques de l'uranium. Ecole du CEA 40715 2011 Giens
- COM11e Henner P, Geras'kin S, Hinton T, **Gilbin R** (2011). State-of-knowledge regarding the effects of ionizing radiation on plant communities: results of outdoors irradiation studies of ecosystems conducted in the 60s 70s and 80s.. ICRER (International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity) 19-24 Juin 2011 2011 Hamilton (Canada)
- COM11f Simon O, Geffroy B, Floc'h E, **Gilbin R** (2011). Effects and Consequences of Uranium exposure in the *Danio rerio*. . SETAC Europe 15-19 Mai 2011 2011
- COM10a Al Kaddissi S, Simon O, Legeay A, Gonzalez P, Camilleri V, Floriani M, **Gilbin R**, Massabau J-C. (2010). The use of the crayfish *P. Clarkii* as an indicator of Cd and U pollution.. ICC7 20-25 juin 2010 2010 Chine
- COM10b Gagnaire B, Adam-Guillermin C, Bourrachot S, Barillet S, Lerebours A, Augustine S, **Gilbin R** (2010). From molecule to population: using zebrafish *Danio rerio* as a model to evaluate biological effects of uranium. SETAC 23-27 mai 2010 2010 Seville
- COM10c Massarin S, Alonzo F, Garcia-Sanchez L, **Gilbin R**, Poggiale JC (2010). Effects of chronic uranium exposure on life history and physiology of *Daphnia magna* over three successive generations. SETAC 23-27 mai 2010 2010 Seville
- COM10d Massarin S, Alonzo F, Garcia-Sanchez L, Gilbin R, Poggiale JC (2010). Effets d'une exposition chronique à l'uranium sur les traits d'histoire de vie et la physiologie de *Daphnia magna* sur trois générations successives . SEFA 31 mars -1 avril 2010 Versaille
- COM09a Adam-Guillermin C, Alonzo F, Bonzom JM, Gagnaire B, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2009). Conséquences écologiques de l'exposition chronique aux radionucléides : connaissances et méthodes nécessaires pour la mise en place d'un système de radioprotection de l'environnement. SFRP 16-18 Juin 2009 2009 Angers
- COM09b Alonzo F, Massarin S, Dutilleul M, Zeman F, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2009). Modelling population responses of freshwater invertebrates to radionuclides with different toxic effects on organisms. DEB Theory: 30 years of research for metabolic organization Brest (France). 19/04/2009 au 22/04/2009
- COM09c Beaugelin-Seiller K, Mathews T, Garnier-Laplace J, Gilbin R, Adam-Guillermin C, Della-Vedova C (2009). Integrative assessment of chemical and radiological ecotoxicity of depleted natural and enriched uranium in freshwater ecosystems. American Society of Limnology and Oceanography 2009 ASLO Aquatic Sciences Meeting (Nice France).. 25/01/2009 au 30/01/2009
- COM09d Bourrachot S, Floriani M, Hinfray N, Palluel O, Adam-Guillermin C, Porcher J-M, Brion F, **Gilbin R** (2009). Effects of low level uranium exposure on critical life stage of zebrafish (*Danio rerio*). SETAC Europe 19th Annual Meeting (Goteborg Suède). 31/05/2009 au 4/06/2009
- COM09e Frelon S, Simon O, Floriani M, **Gilbin R** (2009). Uranium distribution in an environmental aquatic living species *Corbicula fluminea* - Approach of its biological speciation. ISSEBETS 2009 7th International Symposium on Speciation of Element in Biological Environmental and Toxicological Sciences (Eger Hongrie). 27/08/09 au-30/08/09
- COM09f Gagnaire B, Adam-Guillermin C, Augustine S, Lerebours A, Bourrachot S, Simon O, **Gilbin R** (2009). From molecule to population: using zebrafish *Danio rerio* as a model to evaluate biological effects of uranium. 14th International Symposium on Toxicity Assessment (ISTA) (Metz France). 30/08/2009 au 4/09/2009
- COM09g Garnier-Laplace J, **Gilbin R** (2009). Le projet européen ERICA : vers une méthode d'évaluation du risque écologique associé aux substances radioactives. (Proc) ARET 2006 Paris 15-16 juin 2006
- COM09h Herlory O, Bonzom JM, **Gilbin R**, Frelon S, Fayolle S, Delmas F, Coste M. (2008). Biosurveillance des écosystèmes aquatiques impactés par d'anciens sites miniers uranifères: résultats préliminaires du suivi du périphyton dans le Ritord (Limousin). Association des Diatomistes de Langue Française ADLaF (Banuyls sur Mer France). 7/09/2009 au 10/09/2009
- COM09i Massarin S, Alonzo F, Dutilleul M, **Gilbin R**, Poggiale J.-C. (2009). Effects of multigenerational uranium exposure on life history and energy budget of *Daphnia magna*. 14th International Symposium on Toxicity Assessment (ISTA) (Metz France). 30/08/2009 au 4/09/2009
- COM09j Mathews T, Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Adam-Guillermin C, Della-Vedova C (2009). Integrated Assessment of the Chemical and Radiological Toxicity of Uranium. SETAC USA (La Nouvelle Orléans USA). 19/11/2009 au 23/11/2009
- COM09k Pelfrène A, **Gilbin R**, Coppin F, Février L (2009). Lability of mineral and organic complexes of uranium evaluated by DGT: consequences for the use of DGT as a predictor of their bioavailability. SETAC Europe 19th Annual Meeting Göteborg Suède.
- COM09l Réty C, **Gilbin R**, Gomez E (2009). Effet du tritium envers l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*. Chapitre St-Laurent 27-29 mai 2009 2009 Montréal (Canada)
- COM09m Réty C, **Gilbin R**, Gomez E (2009). Toxicity of tritiated water in mixture with copper on green algae (*Chlamydomonas reinhardtii*). ISTA 30-aout 4 sept. 2009 2009 Metz
- COM09n Réty C, **Gilbin R**, Gomez E. (2009). Effet du tritium envers l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*. 13e colloque annuel SRA-SETAC Chapitre Saint-Laurent Montréal Canada.
- COM08a Alonzo F, Zeman F, Massarin S, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J. (2008). Predicting ecological and evolutionary responses of planktonic populations to chronic radionuclide exposure inducing different toxic effects on organisms. International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity Bergen Norvège.

- COM08b Alonzo F, Massarin S, Zeman F, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2008). Modelling population responses of freshwater invertebrates to pollutants with different toxic effects on organisms. 5th SETAC World Congress Sydney Australie.
- COM08c Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Adam-Guillermin C (2008). A common ecological risk assessment on freshwaters for chemical and radiological ecotoxicity: the uranium case. International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity 15/06/2008 au 20/06/2008
- COM08d Garnier-Laplace J, Beaugelin-Seiller K, **Gilbin R** (2008). A Screening Level Ecological Risk Assessment and ranking method for liquid radioactive and chemical mixtures released by nuclear facilities under normal operating conditions. International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity Bergen Norvège.
- COM08e **Gilbin R**, Réty C, Zeman F, Alonzo F, Pradines C, Geoffroy L, Garnier-Laplace J, Tolla C. (2008). Ecotoxicological impact of radioactive and chemical substances in mixtures: an experimental and modelling approach on aquatic plankton. International Conference on Radioecology and Environmental Radioactivity Bergen Norvège.
- COM07a Alonzo F, **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2007). Extrapolation des effets des radionucléides de l'individu à la population. Congrès annuel de la SFRP Reims France
- COM07b Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Adam-Guillermin C (2007). Uranium chemical and radiological risk assessment for freshwater ecosystems receiving ore mining releases: principles equations and parameters ; 8th International Symposium on the Natural Radiation Environment (NRE-VIII) 07/10/07-12/10/07 Rio de Janeiro Brésil
- COM06a Alonzo F, **Gilbin R**, Zeman F, Bourrachot S, Garnier-Laplace J (2006). Effects of chronic internal alpha irradiation on individual mass and energy budget in *Daphnia magna* and consequences for population dynamics SETAC Asia/Pacific Meeting Beijing China 18-20 September 2006
- COM06b Geoffroy L, **Gilbin R**, Adam-Guillermin C, Pradines C, Garnier-Laplace J. (2007). Effects of selenite and selenate on growth photosynthesis and ultrastructure of *Chlamydomonas reinhardtii*. (P) SETAC Europe 16th annual meeting The Hague The Netherlands 7-11 may 2006
- COM05a Garnier-Laplace J, Della-Vedova C, **Gilbin R**, Copplestone D, Beaugelin-Seiller K, Ciffroy P (2005). Applying Species Sensitivity Distributions To Derive Protection Threshold For Aquatic Ecosystems Exposed To Ionising Radiations. SETAC Europe 15th Annual Meeting Lille France
- COM05b **Gilbin R**, Denison F, Fortin C, Garnier-Laplace J. (2005). Is thermodynamic equilibrium modelling useful to predict the link between trace metal exposure and bioavailability? The case of uranium. SETAC Europe 15th Annual Meeting Lille France
- COM04a Garnier-Laplace J, Denison F, **Gilbin R**, Della-Vedova C, Adam C, Simon O, Beaugelin K. (2004). Bioavailability in ecological risk assessment for radionuclides. ECORAD Aix-en-Provence France.
- COM04b **Gilbin R**, Pradines C, Garnier-Laplace J. (2004). Chronic uranium exposure and growth toxicity for phytoplankton. Dose-effect relationship: first comparison of chemical and radiological toxicity. ECORAD Aix-en-Provence France.
- COM03a De Almeida S, Elbaz-Poulichet F, **Gilbin R**, Seidel J-L, Tusseau-Vuillemin M-H. (2003). Labile and bioavailable trace metal monitoring of the Seine River (France) by means of DGT: a two years experience. AEHMS 7th international conference.
- COM02a Bonzom JM, Roussel H, Ait-Aissa S, Baird D, Chauvet E, Coquery M, Garabetian F, Gauthier L, Gerino M, Hulot F, Lagadic L, Lauer A, Loreau M, Morin A, Mouchet F, Palluel O, Pandard P, Porcher J.M, Poulsen V, **Gilbin R**, Ten-Hage L, Vervier P. (2002). Effects of copper in freshwater mesocosms. SETAC Europe 12th Annual Meeting Vienna Austria 12-16 May 2002.
- COM02b **Gilbin R**, Bakkaus E, Tusseau-Vuillemin MH, Garric J (2002). Ability of DGT measurements for estimating trace metals bioavailability: comparison with bioassays and free-ion modelling. SETAC Europe 12th Annual Meeting Vienna Austria 12-16 May 2002.
- COM02c Roussel H, Bonzom JM, Ait-Aissa S, Baird D, Chauvet E, Coquery M, Garabetian F, Gauthier L, Gerino M, Hulot F, Lagadic L, Lauer A, Loreau M, Morin A, Mouchet F, Palluel O, Pandard P, Porcher J-M, Poulsen V, **Gilbin R**, Ten-Hage L, Vervier P. (2002). Effect of copper speciation on freshwater ecosystems : a lotic mesocosms study. 5e CILLO (Congrès international de limnologie et d'océanographie) Paris.
- COM01a Casellas C, Gomez E, Fenet H, **Gilbin R** (2001). Relevance of PAH's exposure assessment by combined in vitro and in vivo assays. Communication orale. SETAC Europe 11th Annual Meeting 6-10 mai 2001 Madrid Espagne.
- COM00b Fenet H, Balaguer P, Georget V, Beltran E, Gomez E, **Gilbin R**, Térrouanne B, Sultan C, Nicolas J.C, Casellas C. (2000). Activités (anti)stéroïdiennes de produits phytosanitaires détectées dans des lignées stables luminescentes. 30e Congrès du Groupe français des pesticides 29-31 mai 2000 Reims France.
- COM99a Comunale F, Georget V, Balaguer P, Fenet H, Gomez E, Térrouanne B, **Gilbin R**, Casellas C, Sultan C, Nicolas JC (1999). Detection of (anti)steroid activities in stably transfected cell lines for aquatic biomonitoring. Communication orale. International Conference on Endocrine Disrupters and Environment. Nantes France 7-8 octobre 1999.

Conférences données sur invitation (n=9)

- INV10a **Gilbin R**, Garnier-Laplace J (2010). Recent developments in Radioecology related to Environmental Protection of the Environment. BARC, EAD Workshop, 08-12/03/2010, Mumbai, India

- INV10b **Gilbin R**, Garnier-Laplace J, Beaugelin-Seiller K (2010). From molecule to population: using zebrafish, *Danio rerio*, as a model to evaluate biological effects of uranium. Biological Considerations to Uranium Mining Workshop. USGS, Albright Training Center, Grand Canyon, Arizona. June 23-25, 2010
- INV10c **Gilbin R**, Garnier-Laplace J, Alonzo F, Hinton T (2010). Recent Advances in Radioecology in Europe. Radioecology Special Session. 55th Annual Meeting of the Health Physics Society, 27 June - 1 July 2010, Salt Lake City, UT
- INV09a **Gilbin R**, Adam-Guillermin C, Fournier E, Geoffroy L, Zeman F (2009). Selenium behaviour in the aquatic environments. Fifth Workshop of the IUR Task Force. 5th meeting of the IUR Task Force "Radioecology and Waste" (Madrid Espagne) 03/05/2009 au 05/05/2009
- INV07a **Gilbin R**, Février L, Adam-Guillermin C, Fournier E, Geoffroy L, Zeman F (2007). Spéciation du sélénium en milieu biologique : biodisponibilité et effets toxiques. Séminaire Spéciation CETAMA 20-21 Novembre 2007 Corum Montpellier France.
- INV07b **Gilbin R**, Tolla C, Réty C, Zeman F, Alonzo F, Pradines C, Geoffroy L, Garnier-Laplace J. (2007). Ecotoxicological impact of radioactive and chemical substances mixtures: an experimental and modelling approach on aquatic plankton - Environmental Impact of Radiation 12/12/2007 au 18/12/2007 Chiba Japon
- INV06a **Gilbin R** (2006). Conséquences environnementales liées aux substances radioactives. Colloque « Radioactivité et risques » 13/01/2006 ENSAM Paris.
- INV04a **Gilbin R** (2004). Spéciation des radionucléides et interactions avec les organismes vivants (Envirhom). Séminaire Spéciation Journées d'information CETAMA 15-16 Novembre 2004 Institut Curie Paris France.
- INV03a **Gilbin R** (2003). Uranium fate and effects in freshwaters: needed data to apply risk assessment methodology. 2nd Workshop of the IUR Task Group "Radioecology and Waste". CIEMAT Madrid 3-4 November 2003

Chapitres d'ouvrages scientifiques (n=6)

- OS09a **Gilbin R**, Ansoborlo E, Martin-Garin A, Frelon S, Moulin C, Floriani M. (2009). Chapitre 1 : Eléments du cycle biogéochimique spéciation et biodisponibilité élémentaire - approche théorique et analytique. In. Toxicologie nucléaire environnementale et humaine Lavoisier Tec & Doc pp 7-24.
- OS09b Ansoborlo E, Paquet F, Den Auwer C, Moulin V, **Gilbin R**, Van der Meeren A, Bérard P. (2009). Chapitre 24 : Plutonium. In. Toxicologie nucléaire environnementale et humaine Lavoisier Tec & Doc pp 445-467.
- OS09a Beaugelin-Seiller K, Ringard C, Despres A, Maximilien R, Moulin V, Garnier-Laplace J, **Gilbin R** (2009). Chapitre 32 : Méthode d'évaluation du risque écologique et sanitaire. In. Toxicologie nucléaire environnementale et humaine Lavoisier Tec & Doc pp 623-634.
- OS09b **Gilbin R**, Garnier-Laplace J, Souidi M (2009). Chapitre 15 : Méthodologie pour l'établissement de relations dose-réponse. In. Toxicologie nucléaire environnementale et humaine Lavoisier Tec & Doc pp 281-289.
- OS055 Gomez E, **Gilbin R**, Rosain D. Picot B (2005). Macroalgal decomposition and phosphate behaviour in sediment of coastal brackish lagoons: A laboratory study under oxic and anoxic conditions. Phosphate in sediments 55-62. Editors Golterman H. & Serrano L.

Autres productions (rapports, n=17)

- AP12a Vandenhove H, Horemans N, **Gilbin R**, Lofts S, Real A, Bradshaw C, Février L, Thoring H, Oughton D, Mora JC, Adam C, Alonzo F, Saenen E, Spurgeon D, Salbu B (2012). Critical review of existing approaches, methods and tools for mixed contaminant exposure, effect and risk assessment in ecotoxicology and evaluation of their usefulness for radioecology. STAR project (contract Number:Fission-2010-3.5.1-269672), D-N° 4.1.
- AP10a **Gilbin R** (2010). Risques associés aux mélanges de substances pour les écosystèmes aquatiques (Rapport final). Rapport IRSN/DEI/SECRE-10-21
- AP10b Beaugelin-Seiller K, Février L, Garnier-Laplace J, **Gilbin R** (2010). Proposition de valeurs de PNEC chronique et aiguë pour l'uranium: valeurs génériques et conditionnelles aux domaines physico-chimiques des eaux douces considérées. Rapport IRSN/DEI/SECRE n° 2010-038, 69p.
- AP09a Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R** (2009) Vers la proposition d'une norme de qualité environnementale pour l'uranium en eau douce. Rapport IRSN/DEI/SECRE-09-15 70p.
- AP09b Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Février L.(2009). Prise en compte de l'influence de la spéciation chimique de l'uranium dans l'analyse de ses effets écotoxiques en eau douce - Développement méthodologique et application au cas du Ritord.. Rapport IRSN/DEI/SECRE-09-38
- AP09c Bonzom JM, Boyer P, **Gilbin R**, Lecomte-Pradines C, Signoret P, Simon O (2009) Ecotoxicité de l'effluent Socatri dans la rivière Gaffière Utilisation d'une batterie de bioessais au laboratoire (algues invertébrés benthiques et pélagiques poissons). Rapport IRSN/DEI/SECRE-08-51
- AP09d **Gilbin R** (2009). Risques associés aux mélanges de substances pour les écosystèmes aquatiques (rapport d'avancement). Rapport IRSN/DEI/SECRE-09-14
- AP08a Beaugelin-Seiller K, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Della-Vedova C (2008). Contribution à l'évaluation du risque environnemental associé aux rejets d'uranium dans le bassin versant du Ritord. Rapport IRSN/DEI/SECRE-08-40
- AP07a **Gilbin R** (2007). Acquisition expérimentale et exploitation des relations dose-effets applicable au contexte des rejets de centrales électronucléaires en fonctionnement normal Cas des écosystèmes d'eau douce. Rapport IRSN/DEI/SECRE-07-2

- AP06a Adam-Guillermin C, Beaugelin-Seiller K, Gariel JC, Garnier-Laplace J, **Gilbin R**, Henner P, Simon O (2006). Radioprotection de l'environnement // Synthèse et perspectives. Édition du 1er juillet 2006. doc-référence collection doctrine et synthèse éditions IRSN.
- AP06b Garnier-Laplace J, **Gilbin R** (eds.) Agüero A, Alonzo F, Björk M, Ciffroy Ph, Copplestone D, Garnier-Laplace J, Gilbin R, Gilek M, Hertel-Aas T, Jaworska A, Larsson C-M, Oughton D, Zinger I (2006). Derivation of Predicted-No-Effect-Dose-Rate values for ecosystems (and their sub-organisational levels) exposed to radioactive substances. ERICA (Contract Number: FI6R-CT-2004-508847) deliverable 5 28-02-2006. 88p + 2 annex.
- AP06c **Gilbin R** (2006). Acquisition expérimentale et exploitation des relations doses-effets applicable au contexte des rejets de centrales électronucléaires en fonctionnement normal. Cas des écosystèmes d'eau douce. Rapport IRSN/DEI/SECRE-05-55
- AP06d Avila R, Thiry Y, **Gilbin R**, Agüero A, Thorne M, Sheppard M, Tamponnet C, Ikonen A, Xu S (2006). Recommendations for improving predictions of the long-term environmental behaviour of ¹⁴C, ³⁶Cl, ⁹⁹Tc, ²³⁷Np and ²³⁸U. IUR Report 6, IUR Publications, 87pp.
- AP06e **Gilbin R** (2006). DGT Diffusive Gradient in thin films. Théorie et applications pour la mesure des concentrations de la spéciation chimique et de la biodisponibilité potentielle des radionucléides dans les eaux. Rapport IRSN/DEI/SECRE-04-58
- AP04a Garnier-Laplace J, Adam C, **Gilbin R** (2004). Guidelines for the design and statistical analysis of experiments planned within ERICA. Rapport IRSN/DEI/SECRE-04-31
- AP04b Garnier-Laplace J, Della-Vedova C, **Gilbin R** (2004) Analyse des données décrivant les effets des rayonnements ionisants sur les organismes non humains (base de données FRED). Distribution statistique de la radiosensibilité des espèces en eau douce. Rapport IRSN/DEI/SECRE-04-54