

Ecotoxicologie des nanomatériaux : vers toujours plus de réalisme environnemental

Camille LARUE | camille.larue@ensat.fr

CNRS, Ecolab, Toulouse

Mots clés : **Ecotoxicité, environnement, faible dose, génération, nanoparticules**

L'étude de la dissémination et des effets des nanoparticules (NPs) dans l'environnement a débuté depuis un peu plus de 10 ans. Et même si ce domaine de recherche est apparu après le début de l'utilisation commerciale des NPs, les progrès effectués depuis lors sont relativement rapides. Ainsi, les recherches sont passées de l'exposition d'un seul organisme, à de très fortes concentrations pendant de courtes périodes, et dans un milieu simplifié à des modes d'expositions plus complexes. Ainsi, par exemple, pour le milieu terrestre on a évolué d'une exposition en hydroponie* à des expositions sur sol, avec de plus en plus d'études portant sur des systèmes de type mésocosmes* qui prend en compte les relations trophiques (cf note du BVS 32).

Cette note se focalise sur le milieu aquatique avec des concentrations d'exposition aussi faible que 4 µg/L en se rapprochant toujours plus des concentrations estimées dans l'environnement (1,5 ng/L pour les NPs d'Ag dans ce cas, Sun et al., 2016).

Le premier article choisi pour cette note, relate une étude prenant place *in situ* dans un lac de la Région des Lacs Expérimentaux (REL) au Canada. Le deuxième article sélectionné, quant à lui, s'intéresse aux effets des NPs sur plusieurs générations d'individus, avec des effets observés à plus long terme.

Effets de NPs d'Ag sur le phytoplancton et le zooplancton d'un lac naturel : ajouts séquentiels vs. ajout global

VINCENT JL. et al. (2017). Chronic and pulse exposure effects of silver nanoparticles on natural lake phytoplankton and zooplankton. *Ecotoxicology*, 26 : p.502-15.

Résumé

Les NPs d'Ag sont parmi les plus utilisées avec de nombreuses applications en tant qu'agent antibactérien (action contre les procaryotes*). Dans cette étude, les auteurs ont mis en place des enceintes d'exposition dans des lacs expérimentaux au Canada. Chaque enceinte contient de l'eau du lac, des sédiments naturels ainsi que les micro-organismes (phytoplanctons et zooplanctons, à majorité eucaryote* donc a priori organismes non ciblés par le traitement aux NPs d'Ag) y résidant. Ils ont testé l'effet de concentrations croissantes en NPs (0, 4, 16, 64 µg/L), l'influence de l'agent enrobant (PVP* ou citrate) et enfin l'influence du mode d'exposition : ajout d'une faible dose tous les jours pendant 6 semaines ou ajout d'une forte dose en une seule fois (80 µg/L). Les conclusions montrent que l'Ag s'accumule dans le phytoplancton mais n'altère pas la structure de la communauté ou sa biomasse. A l'inverse, le zooplancton est plus sensible à la présence des NPs avec un changement des communautés en présence : la diversité est passée d'environ 10-12 espèces par unité expérimentale à 4 en fin d'exposition. En parallèle, aux plus fortes concentrations en Ag, l'abondance (nombre d'individus) du zooplancton a augmenté et la biomasse (poids) a diminuée avec un changement profond des espèces présentes. L'exposition aux NPs d'Ag en une seule dose a eu des effets plus profonds avec une

diminution de la chlorophylle *a* chez le phytoplancton et une diminution de la richesse en espèces, de l'abondance et de la biomasse du zooplancton. Aucune influence de l'agent enrobant n'a pu être mise en évidence.

Commentaire

Au-delà des résultats scientifiques, l'intérêt de cet article réside en particulier dans le fait que l'étude ait été réalisée dans la région des lacs expérimentaux du Canada (RLE). Le Canada est doté d'un grand nombre de lacs et a décidé d'en consacrer quelques-uns à l'étude des changements environnementaux et à l'impact de certains polluants. Si ces études *in situ* peuvent interroger sur l'idée de contaminer notre environnement à dessein, les résultats obtenus sont hautement pertinents du point de vue environnemental. Cela permet de prendre en compte des facteurs tels que la disponibilité des nutriments, la qualité de l'eau ou encore la pression de prédation qui ne sont généralement pas intégrés dans les études de laboratoire classiques. Ainsi, les résultats obtenus dans le cadre de cette étude font apparaître des différences avec ceux obtenus en laboratoire puisque dans la plupart des études en milieu contrôlé, une forte toxicité des NPs d'Ag a été mise en évidence à la fois pour le phytoplancton et le zooplancton (Bondarenko *et al.*, 2013) et une toxicité différente selon l'agent enrobant (Angel *et al.*, 2013). De même, la modalité d'exposition la plus courante en laboratoire est l'ajout d'une dose de contaminant en début d'expérience, or ici les auteurs montrent que les effets diffèrent selon le type d'exposition avec l'ajout d'une dose unique étant visiblement la modalité la plus toxique.

Enfin cette étude a été faite en prenant la totalité d'une communauté en compte ce qui a permis de mettre en évidence des changements de structure de ces communautés

avec des dynamiques de compensation : disparition des espèces littorales et forte expansion des espèces pélagiques. Ces effets seraient difficilement identifiables dans une étude en conditions contrôlées avec peu d'espèces.

Les expériences en laboratoire en milieu contrôlé et celles *in situ* sont donc complémentaires et permettent d'appréhender différents phénomènes à différentes échelles (mécanismes de toxicité vs. effets sur les communautés).

Effets chroniques sur une mouche (*Chironomus riparius*) de sédiments contaminés aux fullerènes: réponses dans la première et la seconde génération

WAISSI GC. et al. (2017). The chronic effects of fullerene C₆₀ associated sediments in the midge *Chironomus riparius* – Responses in the first and the second generation. Environ. Pollut., vol.229: p.423-30.

Résumé

Les fullerènes (C₆₀) sont des NPs carbonées, utilisées en pharmaceutique, cosmétique ou encore dans des applications électroniques ou photovoltaïques. Ces NPs vont s'accumuler dans l'environnement et en particulier dans les sédiments. Pour étudier, leurs effets à travers deux générations d'individus, les auteurs ont choisi d'exposer des chironomes, organismes possédant 2 stades de développement : un stade larvaire au contact des sédiments et un stade insecte volant. Ils ont mis en place un plan expérimental croisé : la première génération d'individus a été exposée à 0, 0,5, 10 et 40 mg/kg, et la seconde génération soit à la condition d'exposition initiale soit à un milieu non contaminé. Pour la première génération, des signes de toxicité sont visibles sur la reproduction avec en particulier un retard à l'éclosion des femelles (16 jours à 0,5 mg/kg contre 8 jours en condition témoin) et une diminution du nombre d'œufs fertilisés par femelle (0,17 à 0,5 mg/kg contre 0,94 en condition témoin). Pour la seconde génération, des signes de récupération ont été constatés puisque les nouvelles larves provenant des conditions contaminées avaient une croissance plus efficace (larves plus longues, mensurations de la capsule céphalique plus importantes) que les larves dont la génération précédente était en condition non contaminée. Enfin, la concentration ayant le plus d'impacts était la plus faible (0,5 mg/kg) alors que la plus élevée (40 mg/kg) donnait régulièrement des résultats similaires aux témoins.

Commentaire

Cet article est particulièrement intéressant car il met en évidence pour la seconde génération (exposée ou non) une atténuation des effets toxiques des NPs constatés sur la première génération exposée. Néanmoins, les auteurs ont constaté un changement dans la structure de la surface de l'intestin qui pourrait éventuellement mener à des modifications de la nutrition chez ces mouches et peut être de leur croissance. Il serait donc pertinent de prolonger cette étude sur un plus grand nombre de générations. Un autre type de mouche (*Drosophila*) a ainsi été exposé à des NPs d'Ag pendant 8 générations : une altération de leur reproduction a été mise en évidence pendant les 3 premières générations. Cet effet a ensuite disparu et les mouches jusqu'à la 8^{ème} génération avaient une reproduction semblable à celles des mouches témoins (Panacek et al., 2011). Il semble donc que ces organismes soient capables de s'adapter, dans une

certaine mesure, à une contamination en NPs. La prochaine étape serait donc de savoir quels sont les mécanismes mis en jeu pour une telle adaptation (adaptation génétique vs. plasticité phénotypique*).

Un autre paramètre qui aurait mérité d'être étudié est le transfert des NPs de la première génération à la seconde. Dans un autre organisme-test (riz), les auteurs ont constaté un transfert à la seconde génération (via la graine) de fullerènes C₇₀ (Lin et al. 2009).

Enfin, un autre point intéressant concerne les concentrations d'exposition : dans cette étude, les faibles concentrations (0,5 mg/kg), qui sont les plus proches de celles observées dans l'environnement, sont plus préoccupantes que les fortes concentrations, le plus souvent testées en laboratoire.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les résultats parus durant cette période de veille permettent de prendre du recul sur les résultats d'écotoxicologie des NPs acquis jusqu'à présent en conditions de laboratoire « simples ». Il semblerait que ces résultats ne soient pas forcément transférables tels quels à une contamination de l'environnement. En effet, les milieux d'exposition plus complexes (présence de matière organique, relations trophiques) mitigent grandement les effets des NPs constatés dans des milieux plus simples (ce qui est aussi le cas pour d'autres types de contaminants). Du point de vue de l'évaluation des risques, c'est plutôt une bonne nouvelle puisqu'on aurait jusqu'ici sur-évalué les risques, même si des études sur le long terme restent nécessaires pour pouvoir conclure. Néanmoins, une des études met aussi en avant une toxicité différente entre les faibles (< 10 mg/L) et fortes concentrations. Or jusqu'à présent la plupart des études était conduite à des concentrations beaucoup plus élevées que celles attendues dans l'environnement. Il se pourrait donc que sur ce paramètre, la toxicité ait été sous-évaluée. Un autre fait intéressant découvert grâce à des études multi-générationnelles est la possibilité d'une adaptation des populations à ce type de contamination. Cela pose évidemment d'autres questions et interroge sur le type de mécanismes mis en jeu lors de cette adaptation ? Ou encore si cette adaptation est compatible avec une survie de l'espèce à long terme ?

Il reste donc encore un long chemin à parcourir avant d'être capable d'essayer de prédire les effets des NPs sur l'environnement et notamment la prise en compte du fait que les NPs disséminées dans l'environnement seront certainement (très) différentes des NPs prêtes que l'on étudie majoritairement aujourd'hui (vieillesse et transformation). Mais cette dernière période de veille a été riche en progrès fait pour s'approcher toujours plus de la réalité environnementale et ouvrir de nouvelles perspectives de recherche pour le futur.

GENERAL CONCLUSION

The results published over the last months permit to step back from all the previously acquired results in nanoparticle ecotoxicology in "classical" laboratory conditions. It seems that those results could not easily be transferred to environmental conditions. Indeed, more complex exposure media (presence of organic matter, different trophic levels) mitigate a lot the effects obtained first in laboratory simple conditions (which has also been seen for other types of contaminants before). From a risk assessment point of view, this is a rather good news; it means that so far we have been over estimating NP risks, even if long-term studies would be needed to really conclude. But, in one of those last studies authors highlighted the fact that low (<10 mg/L), environmentally more relevant, concentrations have more toxic effects on biological organisms than high concentrations that have mainly been used so far in ecotoxicity studies. This would mean, that based on this parameter toxicity have been under-estimated...

Another interesting fact discovered through multi-generation studies is the possibility of organism/population adaptation to NP contamination. This, in turn, opens up new questions such as which mechanisms are underlying or is it a sustainable strategy at the community level after long term exposure?

There is still a long way to go to reach reliable risk assessment of NPs in the environment, in particular starting to study the fate of NPs as they are found in the environment (presence of a matrix, aging) rather than the fate of pristine NPs as we are mainly doing so far. But those last months have been rich in progresses to get always closer to environment reality and are paving the way to future research axis.

Lexique

Eucaryote : désigne l'ensemble des organismes, unicellulaires ou pluricellulaires, qui se caractérisent par la présence d'un noyau et généralement de mitochondries dans leurs cellules. S'oppose à procaryote.

Hydroponie : culture hors-sol, les plantes acquièrent les nutriments d'une solution nutritive.

Mésocosme : dispositif expérimental clos, de taille moyenne, destiné aux études écologiques.

Plasticité phénotypique : capacité d'un organisme à exprimer différents phénotypes (ensemble des traits observables d'un individu) à partir d'un génotype (information génétique d'un individu) donné selon les conditions environnementales.

PVP : poly-vinyl pyrrolidone, polymère organique.

Procaryote : être vivant (unicellulaire) dont la structure cellulaire ne comporte pas de noyau (s'apparente aux bactéries). S'oppose à eucaryote.

Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt

Publications de référence

1. Sun TY. et al. (2016). Dynamic probabilistic modeling of environmental emissions of engineered nanomaterials. Environ. Sci. Technol, 50 : p.4701–11.
2. Panacek A. et al. (2011). Acute and chronic toxicity effects of silver nanoparticles (NPs) on *Drosophila melanogaster*. Environ. Sci. Technol, vol.45 : p.4974–79.
3. Lin S. et al. (2009). Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. Small, 5 : p.1128–32.
4. Bondarenko O. et al. (2013). Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review. Arch Toxicol, 87 : p.1181–1200.
5. Angel BM. et al. (2013). The impact of size on the fate and toxicity of nanoparticulate silver in aquatic systems. Chemosphere, 93 (2) : p.359-65.
6. Sheng Jiang H. et al. (2017). The effect of chronic silver nanoparticles on aquatic system in microcosms. Environ. Pollut., 223 : p.395-402.
7. Zhao X. et al. (2017). Distribution, bioaccumulation, trophic transfer, and influences of CeO₂ nanoparticles in a constructed aquatic food web. Environ. Sci. Technol., 51 (9) : p. 5205–5214.
8. Conine AL. et al. (2017). Variable silver nanoparticle toxicity to *Daphnia* in boreal lakes. Aquat. Toxicol., 192 : p.1-6.
9. Manfra L. et al. (2017). Comparative ecotoxicity of polystyrene nanoparticles in natural seawater and reconstituted seawater using the rotifer *Brachionus plicatilis*. Ecotoxicol Environ Saf., 145 : p. 557-63.
10. Ševců A. et al. (2017). Zero-valent iron particles for PCB degradation and an evaluation of their effects on bacteria, plants, and soil organisms. Environ Sci Pollut Res Int., 24(26) : p.21191-21202;

Revue de la littérature

1. Amde M. et al (2017). Transformation and bioavailability of metal oxide nanoparticles in aquatic and terrestrial environments. A review. Environ Pollut. 230 : p.250-267.
2. Montes A. et al. (2017). Uptake and transformations of engineered nanomaterials: Critical responses observed in terrestrial plants and the model plant *Arabidopsis thaliana*. Sci Total Environ. 2017, 607-608 : p.1497-1516.
3. Mottier A. et al. (2017). Environmental impact of engineered carbon nanoparticles: from releases to effects on the aquatic biota. Curr Opin Biotechnol. 2017, 46 : p.1-6.
4. Cerrillo C. et al. (2017) Key challenges for nanotechnology: Standardization of ecotoxicity testing. J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev, 35(2) : p. 104-126.
5. Markus AA. et al. (2017) Modelling the release, transport and fate of engineered nanoparticles in the aquatic environment - A review. Rev Environ Contam Toxicol. 2017, 243 : p.53-87