

UNIVERSITE MONTPELLIER 1

Unité de Formation et de Recherche Pharmaceutiques

LES BIOMARQUEURS CHEZ L'ANGUILLE EUROPÉENNE EN CAGE : application à la biosurveillance des eaux superficielles.

Thèse présentée pour obtenir le grade de :

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE MONTPELLIER 1

Ecole doctorale : **Géosciences**

Formation doctorale : Hydrologie (Sciences de l'Eau et Aménagement)

Groupe des disciplines pharmaceutiques du CNU 40e section

Sciences du **Médicament (Hygiène - Environnement)**

par

Hélène FENET

Soutenue le 13 janvier 1997 :

Après avis de

M. Marc LAFABRIE, Maître de conférences, Université de Nice

Mme Paule VASSEUR, Professeur, Université de Metz

Rapporteur

Rapporteur

Devant le jury formé de

M. Jean BONToux, Professeur, Université de Montpellier 1

Mme Claude CASELLAS, Maître de conférences, Université de Montpellier 1

M. Bernard DELAY, Directeur de recherche CNRS, Université de Montpellier II

M. Marc LAFABRIE, Maître de conférences, Université de Nice

M. Luc PEREIRA-RAMOS, Agence de l'eau Seine-Normandie

Président

Directeur de thèse

Examineur

Rapporteur

Invité

TABLE DES MATIÈRES

2019

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	7
1-1 Les marqueurs biologiques	7
1-2 Les enzymes de biotransformation	9
1-2-1 La biotransformation	9
1-2-2 Le cytochrome P450	10
1-2-2-1 Les monooxygénases à cytochrome P450	10
1-2-2-2 Induction du cytochrome P4501A	12
1-2-2-3 Facteurs de variation	17
1-2-2-4 Conclusion	21
1-2-3 Glutathion-S-Transferase	21
1-2-4 Conclusion	23
1-3 Les marqueurs de doses internes	24
1-3-1 Les métaux et métallothionéines	24
1-3-2 Mesure des PCB dans la chair des poissons	26
1-3-3 Les composés aromatiques fluorescents	27
1-4 Les enzymes sériques	28
1-5 L'activité acétylcholinestérasique	30
1-6 La technique de mise en cage des poissons	31
1-7 L'anguille européenne, <i>anguilla anguilla</i>	34
1-8 Conclusion	37
CHAPITRE 2 : MATÉRIELS ET MÉTHODES	39
2-1 Conditions expérimentales	39
2-1-1 Les poissons	39
2-1-2 Expositions expérimentales	39
2-1-3 Exposition dans le milieu	40

2-2 Prélèvements et conservation des tissus et liquides biologiques	40
2-2-1 Prélèvement et conservation du foie	40
2-2-2 Prélèvement des autres tissus et liquides biologiques.	42
2-2-3 Préparations des fractions subcellulaires	43
2-3 Analyses biochimiques	43
2-3-1 Mesure de l'activité éthoxyrésorufine O-dééthylase (EROD)	43
2-3-1-1 Principe.	43
2-3-1-2 Caractérisation de l'enzyme	43
2-3-1-3 Conditions réactionnelles retenues	46
2-3-2 Mesure de l'activité Glutathion-S-Transférase GST	47
2-3-2-1 Principe	47
2-3-2-2 Caractérisation de l'enzyme	47
2-3-2-3 Conditions réactionnelles retenues.	50
2-3-3 Mesure de l'activité AChE	50
2-3-3-1 Principe	50
2-3-3-2 Conditions réactionnelles	50
2-3-4 Mesures des enzymes sériques	51
2-4 Western blot	52
2-5 Dosage des xénobiotiques	52
2-5-1 Dosage des PCB dans la chair des poissons	52
2-5-2 Dosage des composés aromatiques fluorescents (FAC).	55
2-5-3 Dosage des métaux	58
2-6 Calcul des différents paramètres	58

CHAPITRE 3 : APPLICATION DU MODÈLE “ETUDE DE BIOMARQUEURS CHEZ L'ANGUILLE EUROPÉENNE EN CAGE” À UN COURS D'EAU	61
3-1 Introduction	61
3-2 Présentation du site d'étude	62
3-2-1 Le canal de la Robine, point Rb	62
3-2-1-1 La situation géographique	62
3-2-1-2 Les sources de pollution	63
3-2-1-3 Etude de la pollution	64

3-2-2 L'Aude, point Au	64
3-2-2-1 La situation géographique	64
3-2-2-2 Evaluation de la pollution	64
3-2-3 Comparaison des deux points	67
3-3 Les modalités de mise en cage.....	69
3-3-1 La durée d'exposition	69
3-3-2 La variabilité entre lots	71
3-4 Etude sur 2 ans des enzymes de biotransformation	72
3-4-1 Variabilité du niveau de base	72
3-4-2 Campagnes de terrain	73
3-4-2-1 Etude du site de référence	74
3-4-2-2 Suivi sur deux ans.	74
3-4-3 L'activité GST	78
3-5 Etude de la réversibilité	79
3-6 Comparaison des anguilles sauvages (S) et des anguilles d'élevage (E)	82
3-7 Comparaison des anguilles européennes et des truites arc-en-ciel.	84
3-8 Conclusion.....	86

CHAPITRE 4 : ETUDE DES ACTIVITÉS EROD ET GST, EXPOSITION EXPERIMENTALE	87
4-1 Introduction.....	87
4-2 Etudes préalables.....	88
4-2-1 Acclimatation en laboratoire	88
4-2-2 Etude dose-réponse	89
4-3 Comparaison des anguilles sauvages (S) et des anguilles d'élevage (E).....	91
4-3-1 Objectif	91
4-3-2 Matériels et méthodes	92
4-3-3 Résultats et discussion	93
4-3-4 Conclusion	96
4-4 Comparaison des anguilles européennes et des truites arc-en-ciel,....	96
4-4-1 Objectif	96
4-4-2 Matériels et méthodes	97

3-2-2 L'Aude, point Au	64
3-2-2-1 La situation géographique	64
3-2-2-2 Evaluation de la pollution	64
3-2-3 Comparaison des deux points	67
3-3 Les modalités de mise en cage.....	69
3-3-1 La durée d'exposition	69
3-3-2 La variabilité entre lots	71
3-4 Etude sur 2 ans des enzymes de biotransformation	72
3-4-1 Variabilité du niveau de base	72
3-4-2 Campagnes de terrain	73
3-4-2-1 Etude du site de référence	74
3-4-2-2 Suivi sur deux ans.....	74
3-4-3 L'activité GST	78
3-5 Etude de la réversibilité	79
3-6 Comparaison des anguilles sauvages (S) et des anguilles d'élevage (E)	82
3-7 Comparaison des anguilles européennes et des truites arc-en-ciel.	84
3-8 Conclusion	86

CHAPITRE 4 : ETUDE DES ACTIVITÉS EROD ET GST, EXPOSITION EXPERIMENTALE	87
4-1 Introduction.....	87
4-2 Etudes préalables	88
4-2-1 Acclimatation en laboratoire	88
4-2-2 Etude dose-réponse	89
4-3 Comparaison des anguilles sauvages (S) et des anguilles d'élevage (E).....	91
4-3-1 Objectif	91
4-3-2 Matériels et méthodes	92
4-3-3 Résultats et discussion	93
4-3-4 Conclusion	96
4-4 Comparaison des anguilles européennes et des truites arc-en-ciel....	96
4-4-1 Objectif	96
4-4-2 Matériels et méthodes	97

4-4-3 Résultats et discussion	98
4-4-3- 1 Exposition expérimentale à la 13-M;.	98
4-4-3-2 Exposition expérimentale à l'Aroclor 1254	104
4-5 Étude du cytochrome P4501A1 des anguilles européennes	109
4-5-1 Objectif.....	109
4-5-2 Matériels et méthodes.....	110
4-5-3 Résultats et discussion	111
4-6 Conclusion	114
CHAPITRE 5 : MARQUEURS COMPLÉMENTAIRES A L'ÉTUDE DE L'ACTIVITÉ EROD.....	117
5-1 Dose interne des contaminants de type HAP, PCB	117
5-1-1 Introduction.....	117
5-1-2 Matériels et méthodes.....	117
5-1-3 Résultats	118
5-1-4 Discussion	119
5-2 Étude de l'accumulation des métaux	121
5-2-1 Introduction.....	121
5-2-2 Matériels et méthodes.....	122
5-2-3 Résultats	122
5-2-4 Discussion	126
5-3 Etude de paramètres cliniques	127
5-3-1 Introduction.....	127
5-3-2 Matériels et méthodes.....	128
5-3-3 Résultats	128
5-3-4 Discussion	131
5-4 L'acétylcholinestérase.....	132
5-4- 1 Introduction	132
5-4-2 Matériels et méthodes	133
5-4-3 Resultats	133
5-4-4 Discussion	134
5-5 Interrelation entre les biomarqueurs	135

CONCLUSION 137

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES..... 141

ANNEXES

Annexe 1 : Tableaux de résultats

Annexe 2 . “Hepatic enzymatic activities of the **European** eel *Anguilla anguilla* as a tool for biomonitoring freshwater stream : laboratory and field caging studies”. H. **Fenet**, C. Casellas, J. **Bontoux**. (1996). Water Science and Technology. **33,6**: 321-329.

Annexe 3 : “Laboratory and **field** caging studies on hepatic enzymatic activities in the liver of **European** eel and rainbow trout for biomonitoring freshwater stream”. H. **Fenet**, C. Casellas, J. **Bontoux**. Accepte (Nov. 1996). Ecotoxicology and Environmental Safety.

INTRODUCTION

L'**évaluation** du risque écologique résultant de la contamination du milieu aquatique est aujourd'hui à la fois une **nécessité** et un enjeu majeur.

Le risque **écologique résulte** de l'exposition des Ccosystèmes à des stress chimiques, physiques ou biologiques ; son évaluation consiste, non seulement en la **détermination** de l'exposition des Ccosystèmes aux toxiques, mais également en la recherche de perturbations potentielles de la structure et du fonctionnement des Ccosystèmes naturels **résultant** de cette exposition, elle-même associée le plus souvent à d'autres sources de stress comme les changements de l'habitat ou les modifications des ressources alimentaires.

L'action des polluants dans le milieu naturel commence aux niveaux **inférieurs** de l'organisation (cellules, tissus) pour se répercuter ensuite aux niveaux supérieurs : individu, population, communauté et Ccosystème (Fig. 1). Pour qu'une pollution cause des effets nocifs à un écosystème, il faut d'abord qu'une des populations qui compose cet écosystème ait été affectée. Auparavant, il faut que les individus qui composent cette population soient touchés, donc que le polluant ait **altéré** leurs comportements ou l'un de leurs organes.

La **variété** de sources de stress naturelles et anthropiques rend difficile l'**évaluation** de l'impact spécifique des polluants sur les organismes aquatiques. La variabilité des facteurs environnementaux combinée à leurs interactions synergiques et cumulatives dans l'écosystème aquatique complique l'interprétation et l'évaluation des **réponses** liées aux stress des organismes aux contaminants. De plus, s'ajoutent à ces facteurs les **aléas** dus aux processus de transport et de transformation de ces contaminants dans le milieu **récepteur** plus ou moins **vulnérable**.

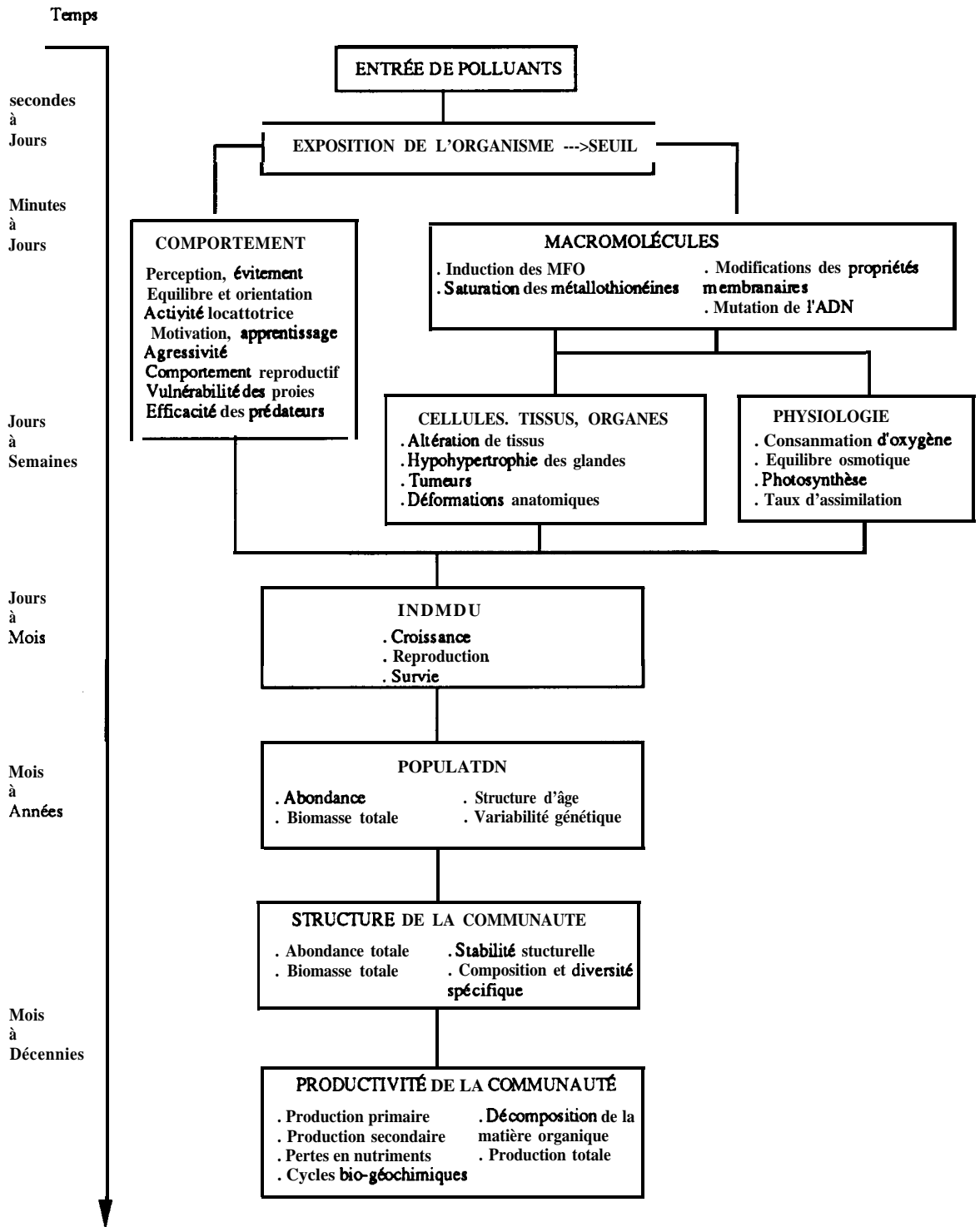


Figure 1 : Progression de l'effet des polluants sur le milieu (traduite et adaptée de Sheehan et *al.*, 1984).

Dans ce contexte, nous avons cherché au cours de ce travail, à développer un outil de biosurveillance des eaux superficielles permettant une évaluation simple et rapide de la contamination.

Le besoin de méthodes sensibles et fiables pour évaluer l'impact d'une pollution chimique sur l'environnement aquatique a suscité un **intérêt considérable** pour les biomarqueurs. Ceux-ci sont **définis** comme des "changements biochimiques, physiologiques et histologiques mesurables dans les organismes et permettant **d'évaluer** aussi bien l'exposition aux polluants que les effets **résultant** de cette exposition" (Huggett et al., 1992). Les biomarqueurs sont utilisés non seulement pour **détecter** l'exposition des organismes aux contaminants environnementaux, mais aussi pour établir un rapport entre leur **réponse** et des effets néfastes sur ces organismes. Idéalement, cette **réponse** doit être **prédictive** des effets à un niveau **supérieur** de l'organisation biologique.

Cette approche dépend de l'existence de procédures de mesures de biomarqueurs fiables et reproductibles. Les biomarqueurs comme les activités des monooxygénases à fonction mixte, les métallothionéines, les enzymes à glutathion, l'inhibition des activités cholinestérasiques ont été employés dans des études de terrain pour détecter la présence et l'impact sur les organismes de contaminants.

Ces études peuvent être réalisées à l'aide de **différentes** espèces faunistiques, voire floristiques, choisies comme capteurs de pollution toxique. Leur faible mobilité, **associée** à leur capacité remarquable de concentration, a fait des mollusques **filtreurs** un support expérimental d'intérêt prioritaire, que ce soit en eau marine ou en eau douce. Le compartiment "poissons" **représente** un autre niveau dans l'organisation d'un écosystème, avec l'avantage d'être constitué par des vertébrés. Parce qu'ils sont une source potentielle de toxiques pour les humains et à cause de leur importance économique, les poissons ont fait l'objet de nombreuses études sur l'accumulation des toxiques. De ce fait, l'utilisation du poisson comme **modèle** de contamination est courant.

Le modèle ici proposé est "***l'étude de biomarqueurs chez l'anguille européenne en cage pour la biosurveillance du milieu aquatique***". La matrice définie par l'EPA¹ (Fig. 2), permet de situer les variables d'une étude sur l'ensemble des données intervenant dans l'évaluation du risque écologique. Ce modèle consiste à étudier la réponse biologique (biomarqueurs) chez un organisme aquatique (l'anguille européenne) lors d'exposition à des stress notamment chimiques (hydrocarbures aromatiques polycycliques, pesticides...).

¹ EPA : Environmental Protection Agency, United States

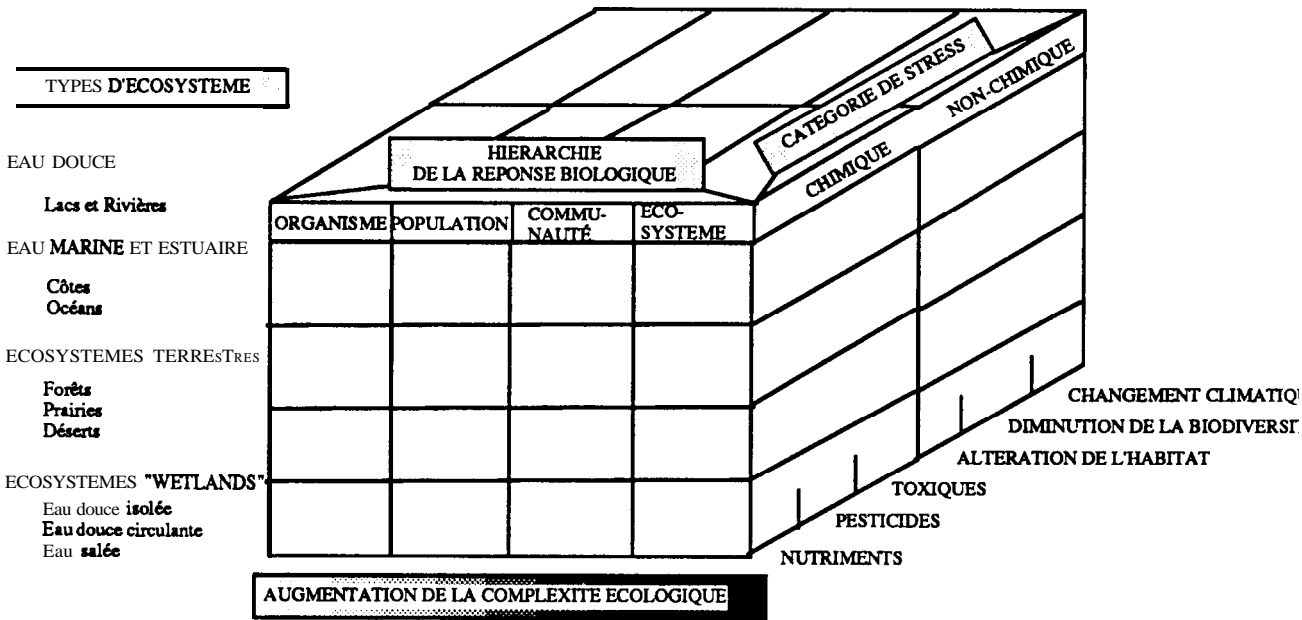


Figure 2 : Matrice tridimensionnelle des principes d'organisation de l'évaluation du risque écologique (traduite et adaptée de Report on Ecological Risk Assessment, EPA, 1992).

L'anguille européenne a été choisie en raison de son ubiquité, de sa sensibilité aux polluants et de sa résistance aux facteurs suivants : immersion temporaire et fluctuations de température, de salinité, d'oxygène dissous et de nourriture.

Pour les études de biosurveillance, la méthode la plus couramment employée est la collecte de poissons sauvages. Or, des facteurs comme la migration ou les changements d'habitat provoqués par des contaminants peuvent perturber l'interprétation de ces études. C'est pourquoi la technique de mise en cage des poissons a été employée afin de mieux contrôler le temps d'exposition aux toxiques présents dans le site à étudier.

Les activités dépendantes du cytochrome P450A1 comme la mesure de l'activité EROD sont en outre induites par des composés de type hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), polychlorobiphényles (PCB). Or les HAP et les PCB ainsi que d'autres composés organiques halogénés comme les pesticides et les herbicides sont connus pour être des polluants du milieu aquatique (Goksøyr et Förlin, 1992). L'intérêt et les limites de la mesure de l'activité EROD comme outil de biosurveillance du milieu aquatique ont été étudiés chez l'anguille européenne mise en cage dans un site pollué. Dans la mesure où l'association de différents biomarqueurs d'exposition et d'effet permet de mieux appréhender l'impact des polluants sur les organismes aquatiques, nous avons également étudié l'intérêt de la mesure d'autres marqueurs comme la dose interne des contaminants qui peuvent avoir un impact sur l'activité EROD (métaux, PCB, métabolites des HAP), la mesure de l'activité de la glutathion S-transférase, de l'activité acétylcholinestérasique et des transaminases sériques.

L'ensemble de ce document est organisé comme suit :

- une première partie bibliographique rappelle les principales **caractéristiques** des biomarqueurs étudiés au cours de cette étude ; une attention particulière est portée sur les activités dépendantes du cytochrome **P4501A1** ;
- le chapitre 2 regroupe l'ensemble des **matériels** et **méthodes** utilisés au cours de ce travail avec une **présentation** de la mise au point de ces méthodes ;
- l'application sur un site du modèle "mesure de l'**activité** EROD chez l'anguille européenne en cage comme outil de biosurveillance du milieu aquatique" est **présentée** dans le chapitre 3 ;
- le chapitre 4 décrit les études en laboratoire faites pour mieux comprendre les **réponses** de l'**activité** EROD associée à la mesure de l'activité GST **après** exposition expérimentale à des xénobiotiques : la B-naphtoflavone et l'**Aroclor** 1254 ;
- la recherche d'autres indicateurs destinés à **compléter** ou à comprendre les informations obtenues sur les effets de la pollution du site étudié sur l'anguille européenne en cage est exposée dans le chapitre 5.

CONCLUSION

Une biosurveillance efficace du milieu aquatique nécessite d'élaborer des outils simples, peu coûteux, apportant dans les meilleurs **délais** une information sur la qualité du milieu. Cette biosurveillance consiste non seulement à évaluer l'importance de la pollution d'un site mais également son impact sur les organismes, les populations et les **écosystèmes**.

C'est un outil que nous proposons ici pour l'évaluation de l'exposition des poissons à des polluants **présents** dans des eaux superficielles.

Nos travaux ont eu pour objectif d'établir si la mesure de biomarqueurs chez l'anguille européenne en cage est adaptée à la biosurveillance.

La mesure de l'activité EROD chez l'anguille **européenne** en cage est un outil sensible, simple, peu coûteux et aux résultats reproductibles, permettant de déterminer la qualité de cours d'eau. C'est un biomarqueur **précoce** de la pollution :

L'induction de l'**activité** EROD est rapide puisqu'elle apparaît dans les 7 jours **après** la mise en place des poissons dans le milieu. Cependant, c'est un **phénomène** de courte **durée** : 7 jours après transfert des poissons d'un site pollué dans un site de **référence**, l'activité EROD est proche de l'**activité** initiale.

Parmi les autres biomarqueurs **étudiés**, la mesure de la fluorescence biliaire apporte une information **complémentaire** sur l'exposition des anguilles en cages à des polluants de type HAP :

La fluorescence biliaire augmente dans le site pollué. Il s'agit également d'un phénomène de courte durée, puisque 14 jours **après** transfert des poissons dans un milieu peu pollué la fluorescence **décroit** aux niveaux initiaux.

L'utilisation conjointe de la fluorescence biliaire et de l'activité EROD est **conseillée** dans des études de biosurveillance. Afin de valider l'utilisation de l'activité EROD et de la fluorescence biliaire pour une biosurveillance, une relation entre les **degrés** d'induction dans le foie et dans la bile des anguilles et le niveau de contamination dans le site où elles sont mises en cage doit être établie. Pour caler la réponse de ces paramètres en fonction des différents teneurs en polluants, une multiplication des études de terrain sur des sites variés sera nécessaire. Il faut rappeler en effet que notre **expérimentation** n'a pu être **développée** que sur un site unique.

En cas de pollution par des rejets industriels ou urbains, la mise en place de poissons en cage peut permettre la détection de la pollution, mais aussi de mettre en évidence une modification de l'intensité des rejets.

Les rejets polluants peuvent contenir un grand nombre de substances chimiques connues ou inconnues et la composition des rejets industriels peut varier normalement même au sein d'une même activité. La décharge de telles mixtures de produits chimiques peut entraîner des types variés d'effets néfastes. L'impact sur l'environnement est souvent spécifique et **dépend** à la fois de la composition de l'effluent, des volumes déversés, de la dilution, de leur persistance et des caractéristiques du milieu récepteur. L'utilisation de biomarqueurs d'exposition permet d'intégrer la pollution **présente** dans le site.

L'anguille est une espèce de manipulation facile qui supporte des transports sans **oxygénation** importante et qui **résiste** facilement à la mise en cage dans le milieu. C'est une espèce adaptée à des études de biosurveillance de cours d'eau à grande échelle.

Nos travaux ont mis en **évidence** une nécessaire adaptation du protocole sur certains points :

1- La **durée** d'implantation des cages dans le milieu doit être adaptée à la nature des biomarqueurs et des caractéristiques de la source de pollution :

- En cas de pollution accidentelle, la durée d'implantation des cages doit être définie avec attention. En effet, l'induction de l'activité EROD est un **phénomène** de courte **durée** ; c'est pourquoi, il est conseillé dans l'utilisation de cette technique pour **détecter** des pollutions occasionnelles, de placer plusieurs cages sur le site et de les prélever **à** des pas de temps réguliers, de l'ordre de 7 jours.

- Pour une utilisation de la mesure des **métaux** et des PCB dans les tissus des anguilles en cage comme indicateur de la pollution du milieu, des temps d'exposition plus longs sont **nécessaires**. La mesure de ces indicateurs n'a apporté aucune information complémentaire concernant l'exposition des anguilles en cage **à** ces polluants. Une exposition de 14 jours ne provoque pas d'augmentation de la teneur tissulaire en ces composés. Des études avec des temps d'exposition plus longs seront nécessaires pour **déterminer** si la mesure des métaux ou des PCB dans les tissus d'anguilles **européennes** en cage peut refléter la contamination du milieu. Cependant, en cas de mesure associée de l'**activité** EROD chez ces poissons en cage, il ne faut pas oublier que les métaux peuvent interagir avec la réponse de l'**activité** EROD aux micropolluants organiques.

Choix de sites de référence

-En cas de pollution diffuse, le choix d'un point de **référence** est primordial. Les études de terrain avec mise en cage des poissons dans le milieu nécessitent la recherche d'un point de référence **présentant** des **caractéristiques** proches des sites à étudier, mais exempt de la pollution recherchée. En cas de pollution diffuse, la recherche d'un tel point peut être difficile ; il est alors conseillé de ne pas utiliser un seul mais plusieurs points de **référence**. Des poissons en laboratoire peuvent être utilisés comme poissons de **référence** cependant il ne faut pas oublier de tenir compte des multiples facteurs qui peuvent affecter l'activité EROD comme le stress **lié** à la mise en cage des poissons, la température ou la photopériode.

3- En hiver, les anguilles sauvages sont moins disponibles, des anguilles **d'élevage** peuvent être proposées durant cette saison.

La réponse de l'activité EROD chez les anguilles sauvages et les anguilles **d'élevage** n'est pas significativement différente. Toutefois, le coût est nettement **supérieur** (x 10).

Par ailleurs, l'utilisation de la technique de mise en cage s'accompagne d'un certain nombre de limites :

1- L'espèce de poisson choisie pour la mise en cage ne **présente** pas forcément la même sensibilité que les poissons autochtones. La comparaison de l'anguille européenne avec la truite arc-en-ciel met en **évidence** cette **différence** de sensibilité entre **espèces** :

- dans le milieu **étudié**, l'amplitude de la **réponse** de l'**activité** EROD est plus importante chez la truite arc-en-ciel que chez l'anguille européenne ;
- après exposition à une faible dose de **β -NF (1mg/kg)**, l'amplitude de **réponse** de l'activité EROD est également plus importante chez la truite que chez l'anguille ;
- après exposition à l'**Aroclor 1254**, l'activité EROD est induite chez la truite arc-en-ciel alors qu'elle n'est pas affectée chez l'anguille **européenne**, signalant une différence de sensibilité aux PCB entre ces deux espèces.

2- Cette technique n'est pas adaptée à la recherche d'effets **néfastes** des polluants sur les organismes.

Dans notre **modèle** de mises en cages des anguilles dans un site pollué, il apparaît que les biomarqueurs EROD et fluorescence biliaire **témoignent** d'une exposition à des micropolluants organiques et notamment de type **HAP**. Ces marqueurs ne permettent pas

d'évaluer l'impact sur la santé des individus. En effet, rien ne permet de dire qu'une augmentation de l'**activité** EROD chez les anguilles en cage s'accompagne d'une **altération** de la santé des poissons.

Les temps d'implantation des cages dans le milieu sont relativement courts. L'association de biomarqueurs d'effet serait intéressante pour évaluer l'impact de la pollution sur la santé des organismes **présents**. Cependant, ces effets sont souvent longs à apparaître et la technique de mise en cage des poissons dans les sites n'est plus **adaptée**. Une des limites importantes des études avec mise en place de cages dans le milieu est le risque de leur disparition accidentelle ou non, de plus l'apport de nourriture est à assurer.

Sur un plan plus **général**, l'attrait de l'utilisation des biomarqueurs en écotoxicologie réside dans leur pouvoir de détection **précoce** de perturbations biologiques ; cependant, des problèmes subsistent dans l'application et dans l'**interprétation** des biomarqueurs dans la biosurveillance. Les réponses des marqueurs biochimiques sont difficilement extrapolables à des échelons biologiques supérieurs en raison de **mécanismes** compensatoires ou d'adaptation qui augmentent avec la complexité des systèmes biologiques ; il existe une incertitude importante dans la prédiction de l'impact écologique à partir de réponses biochimiques. Il faut donc, en fonction des biomarqueurs étudiés, tenir compte de ces **considérations**. Dans cette étude, les biomarqueurs EROD et fluorescence biliaire sont **définis** comme indicateurs d'exposition.

Dans le contexte écologique, l'exposition se réfère le plus souvent à la concentration, à l'amplitude ou à la persistance du contaminant dans l'environnement. Il est également important de tenir compte de la remobilisation et l'exportation des composés chimiques dans l'**écosystème**. Les biomarqueurs d'exposition permettent d'intégrer cette pollution. Cependant, la caractérisation de l'exposition d'un écosystème est difficile ; les populations et **espèces** qui le composent sont très nombreuses et leur capacité à accumuler les xénobiotiques n'est pas toujours connue.