ACADÉMIE DES TECHNOLOGIES
POUR UN PROGRÈS RAISONNÉ, CHOISI ET PARTAGÉ

ENVIRONNEMENT, CHANGEMENT CLIMATIQUE ET SANTÉ : QUEL APPORT DE LA MÉTROLOGIE ?

Thomas Grenon et Valérie Masson-Delmotte
Membres de l'Académie des technologies

Séance du 27 mars 2024

Résumé

La métrologie est appelée à jouer un rôle crucial dans différents domaines touchant au changement climatique, à l'environnement et à la santé.

Depuis le début de la révolution industrielle, plus du quart des émissions de dioxyde de carbone générées par les activités humaines a été absorbé par les océans, entraînant un processus complexe et long d'acidification. La qualité des données recueillies sur ce phénomène doit permettre d'évaluer des tendances à long terme avec un haut niveau de confiance.

Dans un contexte réglementaire de plus en plus contraignant sur la qualité de l'eau, l'exigence de connaissance et d'information en temps réel nécessite de recourir à des outils innovants de mesure de la pollution chimique, microbiologique ou biologique. De nombreux obstacles doivent cependant être levés, comme le manque de validation, de certification, de normes et d'outils de contrôle qualité de ces nouveaux outils, ainsi qu'un niveau de fiabilité perçu comme a priori moins bon.

L'initiative One Health promeut une approche intégrée de la santé publique, animale et environnementale, aux échelles locales, nationales et planétaire, et dans une démarche collaborative et pluridisciplinaire, dans laquelle la métrologie doit trouver toute sa place. C'est dans cet esprit que le LNE s'intéresse à la mesure, chez l'homme aussi bien que dans l'environnement, de perturbateurs endocriniens pouvant avoir un impact sur l'ensemble de l'écosystème et sur la santé humaine, tels que les hormones stéroïdiennes.

Intervenants

Paola Fisicaro
Directrice de recherche au LNE

Nathalie Guigues
Chef de projet au LNE

Amandine Bœuf
Chef de projet au LNE

Sommaire

Introduction **2**
Les défis métrologiques de l'acidification de l'océan **3**
Quelle métrologie pour les outils innovants de surveillance de la qualité de l'eau ? **5**
Hormones stéroïdiennes et métrologie au cœur du concept *One Health* **7**
Débats **9**

Introduction

Thomas Grenon
et Valérie Masson-Delmotte

Thomas Grenon

Après une première séance autour du système international d'unités et une deuxième portant sur le numérique, cette troisième séance consacrée à la métrologie va concerner principalement la chimie, avec des applications à l'environnement, au changement climatique et à la santé. Par exemple, dans le domaine de la santé, plus on pourra mesurer de façon précise l'apparition de la protéine Tau, qui est l'un des marqueurs de la maladie d'Alzheimer, mieux on pourra traiter la maladie, avec des enjeux à la fois médicaux et économiques. Je laisse la parole à Valérie Masson-Delmotte qui, avant d'animer les débats, va commencer par évoquer l'apport et les enjeux de la métrologie dans la lutte contre le réchauffement climatique.

Valérie Masson-Delmotte

En 2022, l'Organisation météorologique mondiale et le Bureau international des poids et mesures ont organisé un atelier sur le rôle de la métrologie dans l'action climatique. Ils ont identifié deux grands enjeux : les observations du système Terre, qu'il s'agisse de données physiques ou chimiques de l'atmosphère et de l'hydrosphère, ou du bilan d'énergie de la terre, de la biosphère et de la cryosphère ; les systèmes opérationnels permettant le suivi des puits de gaz à effet de serre, notamment ceux des océans, qui absorbent environ un quart des émissions de CO_2. Cet atelier a mis en évidence le besoin de travailler sur la qualité des mesures, leur homogénéité, la capacité à construire des séries de long terme malgré l'évolution des systèmes de mesure au cours du temps, le besoin d'inter-comparaisons de réseaux standardisés assurant la traçabilité de la manière dont la mesure est construite et l'évaluation de l'incertitude au cours du temps.

Dans cette démarche, de nouveaux défis apparaissent, comme l'intégration de différentes sources de mesure, le développement, à coût moindre, de capteurs dont la précision individuelle est plus faible mais qui peuvent être déployés plus largement, ou encore l'apparition de techniques d'analyse non standard, de type *machine learning*, ainsi que leur intégration à la chaîne de traitement.

La métrologie peut également être sollicitée pour des besoins judiciaires. En cas d'inondations entraînant une contamination des cours d'eau pouvant affecter des activités économiques comme l'ostréiculture, par exemple, il est nécessaire de discerner l'origine de la contamination (un système d'assainissement géré par une collectivité, etc.).

Les défis métrologiques de l'acidification de l'océan

Paola Fisicaro

L'objectif de limiter l'augmentation de la température mondiale à moins d'1,5 °C suppose de réduire de 45% les émissions directes de GES (gaz à effet de serre) d'ici 2030, mais aussi d'augmenter les capacités de stockage du carbone, y compris celles des forêts et des océans. Pour vérifier si tel est le cas, il est nécessaire de mesurer ces capacités. L'Accord de Paris de 2015 souligne le rôle que doit jouer la métrologie dans cette démarche : « *Les Parties devraient intensifier leur coopération* […] *notamment afin* […] *d'améliorer les connaissances scientifiques sur le climat, y compris la recherche, l'observation systématique du système climatique et les systèmes d'alerte précoce, d'une manière qui soutienne les services climatiques et appuie la prise de décisions.* »

Les variables climatiques essentielles

Le GCOS (*Global Climate Observing System*) a établi une liste de 55 variables climatiques essentielles (VCE), qui peuvent être physiques, chimiques ou biologiques, et sont regroupées en variables atmosphériques, terrestres et océaniques. Ces variables ont été choisies selon trois critères, leur représentativité, l'applicabilité de méthodes scientifiquement reconnues et leur rapport coût/efficacité. Elles sont intégrées à des modèles climatiques permettant aux experts du GIEC (Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat), par exemple, de formuler des recommandations pour les pouvoirs publics.

La liste des VCE est régulièrement mise à jour par le GCOS, qui impose des exigences très strictes en termes de traçabilité métrologique par rapport au système international de mesure ainsi que de caractérisation de l'incertitude associée aux observations et à la modélisation estimée selon le GUM (*Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*).

Les laboratoires de mesure nationaux se sont réunis au sein d'Euramet, réseau européen de métrologie pour l'observation du climat et des océans. Créé en 2019, ce réseau vise à recenser, collecter et coordonner les activités de recherche de ses 26 membres sur les VCE. Actuellement, 14 projets portant sur des variables atmosphériques, océaniques et, dans une moindre mesure, terrestres, sont financés par Euramet et la Commission européenne. Le LNE (Laboratoire national de métrologie et d'essais) est chargé de la section concernant les océans.

Le phénomène de l'acidification

L'océan couvre 70% de la surface de la planète, représente une ressource socio-économique très importante (pêche, transport, tourisme, énergies renouvelables…) et abrite une très grande biodiversité. Capable d'absorber 90% de l'excès de chaleur et un quart des émissions de GES, il joue un rôle majeur dans l'atténuation du changement climatique.

L'absorption du CO_2 a cependant pour effet d'altérer l'équilibre du système des carbonates, c'est-à-dire des ions et de l'acide carbonique naturellement présents dans l'eau de mer, en raison d'une augmentation de la concentration des protons et d'une diminution de celle des ions carbonates, qui s'accompagne d'une diminution du pH, paramètre utilisé pour mesurer l'acidité d'une solution. Depuis les années 1980, le pH des océans a diminué de 0,01 à 0,02 unités par décennie. Cette acidification a un effet très néfaste sur les organismes vivants tels que les crustacés ou les coraux, qui ont besoin des ions carbonates pour construire leur structure.

L'acidification des océans n'a pas été prise en compte lors de la COP 21 qui a donné lieu à l'Accord de Paris. En revanche, une large place lui a été accordée dans les indicateurs climatiques de l'OMM (Organisation météorologique mondiale), dans les objectifs du développement durable des Nations Unies, ou encore dans le rapport du GIEC sur l'océan et la biosphère.

Quatre variables permettent de caractériser la VCE carbone inorganique : le pH, l'alcalinité totale, la pression partielle du dioxyde carbone (pCO_2) et le carbone inorganique dissous (DIC). En théorie, il est possible de calculer deux variables à partir de la connaissance des deux autres mais, en pratique, des écarts importants sont constatés selon que les variables sont mesurées ou calculées.

Le LNE travaille depuis plusieurs années sur la mesure du pH. Plus récemment, il s'est intéressé à la mesure de l'alcalinité totale et va bientôt s'atteler à la mesure du carbone inorganique dissous.

La mesure du pH

La COI (Commission océanographique intergouvernementale) de l'UNESCO a créé le GOA-ON (*Global Ocean Acidification Observing Network*) afin de fournir une méthodologie et des recommandations pour la réalisation des mesures et leur bancarisation. Celui-ci a établi un critère de qualité climatique visant à mesurer et à comparer des données sur le long terme avec une incertitude suffisamment faible. Pour le pH, le critère de qualité de l'incertitude est de 0,003. C'est très ambitieux car il s'agit de la meilleure incertitude obtenue dans les laboratoires nationaux de métrologie, et il sera difficile de la transposer aux mesures effectuées sur le terrain.

Il existe plusieurs définitions du pH. Selon l'UPAC (Union internationale pour la chimie pure et appliquée), $pH = -log\ a(H^+)$. Toutefois, cette définition n'est valable que pour des solutions de forces ioniques inférieures à 0,1 mol par kg, or, la force ionique de l'eau de mer est d'environ 0,7 mol. De plus, en général, les océanographes ne mesurent pas le pH en soi mais le pH total : $pH_T = -log\ [H^+]_T$. Or ces deux grandeurs, dont l'une est mesurée par potentiométrie et l'autre par spectrophotométrie, sont très différentes. Pour une eau de mer présentant les mêmes conditions de salinité, de température et de pression partielle du CO_2, on obtient un résultat de 8,33 ou de 8,09 en fonction de l'échelle et de la méthode utilisée.

Le LNE s'efforce d'améliorer la deuxième méthode, qui se base sur l'ajout, dans l'eau à mesurer, d'un indicateur coloré dont l'absorbance change avec le pH_T. Cette méthode est répétable mais ne permet pas d'atteindre l'objectif de 3 millièmes d'incertitude lorsque l'ensemble des sources pouvant influencer le résultat final est pris en compte. C'est pourquoi le LNE travaille, en collaboration avec d'autres laboratoires nationaux dans le cadre du projet SapHTies, à caractériser des « solutions tampons » permettant de définir un étalon primaire qui puisse s'appliquer à la fois à la mesure du pH et à celle du pH total, et à caractériser l'indicateur coloré pour qu'il puisse servir d'étalon de transfert afin d'assurer la traçabilité des mesures réalisées sur le terrain.

Nous avons dû, pour cela, nous atteler à la fabrication d'un matériau de référence, auparavant fabriqué par un seul laboratoire au monde, l'institut de recherche SCRIPPS, situé en Californie, qui connaît des problèmes de production depuis la crise du COVID-19. Les océanographes ont lancé un appel aux laboratoires de métrologie pour qu'ils reprennent la production de ces matériaux de référence, et le LNE et le NIST (*National Institute of Standards and Technology*) font partie des quelques laboratoires à avoir répondu à cet appel.

L'estimation de l'incertitude

Avec le département des sciences des données du LNE, nous travaillons également sur l'identification de tous les paramètres susceptibles d'influencer l'incertitude de la méthode spectrophotométrique, et nos collègues développent un logiciel qui permettra aux océanographes de saisir les paramètres de mesure et d'en déduire une incertitude. Pour l'instant, l'incertitude moyenne est de l'ordre du 0,02 pH_T, mais nous avons bon espoir de l'améliorer.

Comparaisons inter laboratoires

En partenariat avec l'IFREMER (Institut français de recherche pour l'exploitation de la mer), nous avons produit un matériau de référence pour organiser une comparaison interlaboratoires du réseau Somlit (Service d'observation en milieu littoral). Les résultats de la comparaison ont montré que la différence entre les mesures obtenues par potentiométrie et celles obtenues par spectrophotométrie est inférieure à 2 millièmes. En revanche, la dispersion des résultats d'un laboratoire à l'autre est encore trop importante. Nous nous efforçons de comprendre les origines de ces phénomènes.

Campagnes de mesures en mer

Notre doctorante, Gaëlle Capitaine, a déjà participé à deux campagnes de mesures en mer qui lui ont permis d'échanger avec les océanographes et de leur communiquer des informations sur la façon d'améliorer les mesures. Inversement, les observations qu'elle a réalisées sur les pratiques de terrain nous permettent de mieux comprendre les besoins concrets des océanographes et d'adapter nos développements métrologiques en fonction de ces besoins. Une troisième campagne est prévue prochainement.

Quelle métrologie pour les outils innovants de surveillance de la qualité de l'eau ?

Nathalie Guigues

La règlementation sur la qualité de l'eau est édictée par la Commission européenne et par le ministère de la Transition écologique. La mise en œuvre de cette règlementation est assurée par l'OFB (Office français de la biodiversité) et par les agences de l'eau, qui définissent des programmes de surveillance sur l'état chimique et écologique des masses d'eau. Les méthodologies et les référentiels techniques leur sont fournis par le consortium Aquaref, composé de cinq établissements : le BRGM (Bureau de recherches géologiques et minières), l'IFREMER, l'INERIS (Institut national de l'environnement industriel et des risques), l'INRAE (Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement) et le LNE.

Le besoin de nouveaux outils

La règlementation sur la surveillance de l'eau est en pleine évolution : la directive sur l'eau potable a été révisée en 2020 et devait être transposée par les pays membres avant 2023 ; la directive-cadre sur l'eau est en cours de révision ; il en va de même de la directive sur le traitement des eaux résiduaires urbaines. Ces évolutions vont engendrer de nouveaux besoins en métrologie pour contrôler, par exemple, la présence de PFAS (*Per and polyfluoroalkyl substances*), de glyphosate, de bisphénol A, ou encore de certains antidouleurs et antibiotiques.

Il existe plusieurs stratégies de surveillance de la qualité de l'eau. La plus classique est le recueil d'échantillons ponctuels et leur analyse en laboratoire. On peut aussi procéder à des mesures en continu, ou mobiliser des échantillonneurs intégratifs qui permettent d'estimer une concentration moyenne sur une période afin de pallier le manque de représentativité de l'échantillonnage ponctuel. Il existe aussi des systèmes d'alerte biologique et des biocapteurs.

La directive sur l'eau potable ouvre la possibilité de recourir à des échantillonnages avec analyse en laboratoire, ou à une mesure en continu, ou à une combinaison des deux. Pour la microbiologie, elle permet d'utiliser des méthodes alternatives au comptage, à condition que celles-ci offrent la même efficacité que la méthode de référence. De son côté, la directive-cadre sur l'eau autorise le recours aux *Effect Based Methods* (EBM) pour suivre les composés œstrogéniques. Dernier exemple, la directive sur le traitement des eaux résiduaires urbaines interdit, désormais, de recourir à la DCO (demande chimique en oxygène), l'une des méthodes les plus utilisées pour évaluer la charge globale en polluants organiques, car celle-ci mobilise des réactifs toxiques, notamment des sels de chrome.

En France, l'arrêté de surveillance de l'état des eaux du 26 avril 2022 demande que, d'ici trois ans, le 17-ß-Estradiol soit mesuré par bioessais. Cet arrêté rend également possible le recours aux échantillonneurs intégratifs.

Les freins à l'emploi des nouveaux outils

Le recours à ces nouveaux outils se heurte, depuis quinze ans, à de nombreux freins : l'absence de règlementation ; le manque de validation, de certification, de normes et d'outils de contrôle qualité ; un niveau de fiabilité perçu comme a priori moins bon. Le premier est en train d'être levé grâce à l'émergence d'une règlementation et les autres pourront l'être grâce aux travaux de normalisation en cours et à l'évaluation des performances de ces nouveaux outils et des incertitudes de mesure.

Un autre genre de difficulté vient du niveau d'information sur les conditions et protocoles d'utilisation, jugé insuffisant, ainsi que du manque d'expertise sur l'interprétation des résultats biologiques, ou encore sur l'interprétation des grandes masses de données produites par la mesure en continu. Pour y répondre, le LNE et l'OFB ont émis, en 2017, des recommandations pour la mise en place d'une procédure d'évaluation indépendante des performances ainsi que de validation des nouveaux outils de surveillance. Puis, pendant la période 2018-2023, nous avons développé les référentiels de validation nécessaires pour des paramètres physicochimiques, écotoxicologiques et adaptés à la méthode ADNe (ADN environnemental).

L'analyse critique des référentiels techniques nous a permis de proposer, en 2019, une procédure d'évaluation en cinq étapes. Un prérequis est la justification du besoin et de la pertinence de l'outil pour l'application visée. La première étape est la description de l'outil innovant. La deuxième est l'évaluation des performances intra-laboratoire. Les deux suivantes, associées, sont la transférabilité et la comparaison inter-laboratoires. La dernière est la démonstration de l'équivalence des résultats.

L'application à la mesure en continu

Les mesures ont continu offrent une bonne représentativité, une grande réactivité et permettent de se dispenser de gérer des échantillons. En revanche, cette méthode impose d'évaluer les performances en conditions réelles et non en laboratoire.

Les normes NF EN 17075+A1 (2023) et FD T90-076 (2021) décrivent les modes opératoires d'essais de performance pour les équipements de surveillance de l'eau, en particulier les dispositifs de mesure en continu. Les performances sont d'abord évaluées individuellement en laboratoire, puis combinées. Outre les performances métrologiques (répétabilité, biais, écart au modèle linéaire, limite de quantification), sont testées les performances intrinsèques (physiques, biologiques ou chimiques, ou encore le temps de réponse) et d'autres performances plus environnementales telles que la température, le débit, la pression du fluide à mesurer, la dérive à court terme, le préchauffage pour les dispositifs portables, la variation de la tension d'alimentation en cas d'utilisation d'une batterie, ou encore l'impédance de sortie. Ces différentes évaluations permettent de calculer l'incertitude de mesure.

Une deuxième évaluation a ensuite lieu sur site, pour démontrer que les performances sont maintenues en conditions réelles et représentatives de l'application visée, au cours d'un essai durant au moins trois mois. La norme demande d'estimer l'erreur de mesure par comparaison avec une méthode de référence (appareil portable étalonné, méthode analytique sur un échantillon prélevé, etc.). Au moins 24 paires de mesures doivent être réparties sur la période de trois mois. La sensibilité et le temps de réponse doivent être évalués au début et à la fin de l'essai afin de détecter une éventuelle perte de performance, par exemple si le système d'autonettoyage n'a pas fonctionné. Enfin, il faut vérifier le taux de fonctionnement (absence de pannes).

Un exemple : la turbidité de l'eau potable

Pour la mesure de turbidité de l'eau potable, nous avons décidé d'évaluer le capteur de turbidité de la sonde EXO2. Selon la directive sur l'eau potable, la turbidité doit être comprise entre 1 et 2 FNU (*Formazin Nephelometric Units*). Les spécifications techniques du capteur indiquent une exactitude de 0,3 FNU ou ±2%. Nous avons utilisé deux méthodes de référence, l'étalon formazine et l'étalon SDVB (copolymère de styrene divinylbenzene), une alternative non toxique à la formazine, approuvée par l'*U.S. Environmental Protection Agency*. Nous avons constaté que l'incertitude de mesure est, en réalité, de 5,3% pour la première méthode et de 6,6% pour la seconde. Nous avons ensuite cherché à reproduire une application réelle en utilisant de l'eau du robinet dopée avec des billes de SDVB, puis dopée avec des matières en suspension prélevées dans une eau de rivière. L'incertitude de mesure est alors passée à 12% pour l'eau dopée aux billes de SDVB, qui sont bien calibrées, et à 41% pour l'eau dopée aux matières en suspension, dont les tailles et formes sont très diverses.

Cet exemple soulève la question de la stratégie d'évaluation. Le fabricant peut difficilement annoncer une incertitude de 41% en application réelle, sans quoi il ne vendra pas son appareil. Mais si nous nous contentons de vérifier l'exactitude de ses spécifications, l'utilisateur en application réelle aura le sentiment que l'appareil ne fonctionne pas. Nous devons donc procéder à une double évaluation, côté fabricant et côté utilisateur.

L'application aux bioessais

Les méthodes biologiques, ou basées sur les effets, permettent d'identifier un effet biologique plus ou moins spécifique d'un ou plusieurs contaminants chimiques chez un organisme vivant. Les bioessais peuvent s'effectuer *in vitro*, *in vivo* ou *in situ*. La méthode peut être qualitative ou quantitative. On peut également utiliser des organismes biologiques en qualité de bio-accumulateurs d'une ou plusieurs substances chimiques.

Comme déjà mentionné, d'ici trois ans, en France, le 17-ß-Estradiol devra être mesuré par bioessais. Il sera possible de recourir aux méthodes YES, A-Yes ou ER-Calux, qui ont été normalisées sur la base d'essais inter laboratoires réalisés avec des eaux de rivières dopées ou non et des eaux usées dopées. Il existe également des méthodes non normalisées.

Dans le cadre du projet européen EDC-WFD, coordonné par le LNE, nous avons utilisé les méthodes A-Yes et era-Calux sur cinq œstrogènes, avec un plan d'expérience conforme à la norme européenne. La caractérisation des performances s'opérait sur la base de six matrices enrichies en œstrogènes à trois niveaux de concentration différents. Pour ce faire, nous avons produit des kits d'eau minérale additionnée de carbone organique dissous, de matières en suspension et d'œstrogènes, avec des solutions de contrôle. Avec la méthode A-Yes, les performances sont très bonnes pour de fortes concentrations (incertitude relative de 16 à 17%) et beaucoup moins pour les faibles teneurs (110%). Avec la méthode era-Calux, l'incertitude est de 60 à 70% quelle que soit la concentration. Au total, la méthode era-Calux est meilleure pour les faibles teneurs et la méthode A-Yes pour les fortes teneurs.

Conclusion

Les outils innovants présentent un intérêt indéniable pour la surveillance de la qualité de l'eau, car ils apportent des informations complémentaires et souvent plus représentatives que les mesures ponctuelles avec analyse en laboratoire. Ils bénéficient d'un contexte règlementaire favorable et du développement de différentes normes françaises et européennes (AFNOR, CEN, ISO) depuis une dizaine d'années. Le LNE a développé une procédure générale en cinq étapes pour la validation de ces outils, avec des déclinaisons pour la mesure en continu, les bioessais, mais aussi l'ADN environnemental, dont je n'ai pas eu le temps de parler. Enfin, il existe des guides pour la mise en œuvre de certains de ces outils, notamment ceux d'Aquaref pour les échantillonneurs intégratifs et celui, en cours, du groupe de travail ASTEE pour les bioessais.

Hormones stéroïdiennes et métrologie au cœur du concept *One Health*

Amandine Bœuf

Le concept *One Health* (« une seule santé ») est particulièrement mis en avant dans les années 2000, marquées par la recrudescence des maladies infectieuses ainsi que par la prise de conscience que 60 % de ces maladies ont une origine animale et que l'activité humaine joue un rôle majeur dans leur dissémination, que ce soit à travers l'accroissement de la population, la mondialisation des échanges, la dégradation de l'environnement ou encore le changement climatique. En réponse à ce phénomène, l'initiative *One Health* promeut une approche intégrée de la santé publique, animale et environnementale, aux échelles locales, nationales et planétaire, et dans une démarche collaborative et pluridisciplinaire, associant la médecine, l'épidémiologie, l'immunologie, l'endocrinologie, les sciences vétérinaires, la microbiologie, la chimie, la physique, l'écotoxicologie, l'anthropologie, l'éducation, l'économie, la digitalisation, etc.

C'est dans cet esprit qu'a été signé, en 2010, un accord tripartite entre l'Organisation mondiale de la santé, l'Organisation mondiale de la santé animale et l'Organisation des Nations Unies pour l'agriculture et l'alimentation pour faire face aux risques sanitaires à l'interface animal-humain-écosystèmes.

En France, l'ANSES (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) a lancé un programme européen, *EJP One Health*, et l'INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale), les projets *DIM 1* et *2 One Health 2.0*. Le quatrième Plan national santé environnement (PNSE4) est, lui aussi, fondé sur une approche intégrée de la santé humaine, animale et environnementale.

Quelle place pour la métrologie?

Jusqu'à récemment, la métrologie était quasiment absente de ces programmes multidisciplinaires. Le LNE s'efforce désormais de participer à des projets d'envergure nationale et internationale. Il contribue, notamment, à une initiative européenne relevant de l'approche *One Health*, le partenariat PARC (Partenariat européen pour l'évaluation des risques liés aux substances chimiques), qui vise à concevoir une évaluation des risques des substances chimiques de nouvelle génération afin de mieux protéger la santé et l'environnement.

Le LNE a également initié des travaux à l'interface santé et environnement pour la mesure d'hormones stéroïdiennes, un exemple de perturbateurs endocriniens reconnus.

Détecter les hormones stéroïdiennes chez l'homme et dans l'environnement

Selon la définition de l'OMS en 2012, « *Un perturbateur endocrinien est une substance ou un mélange de substances qui altère les fonctions du système endocrinien et, de ce fait, induit des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants ou de sous-populations* ». Un perturbateur endocrinien présent dans l'environnement peut avoir un impact sur l'ensemble de l'écosystème, et également sur la santé humaine. C'est le cas, par exemple, des hormones stéroïdiennes qui peuvent, chez l'homme, provoquer des cancers, des troubles métaboliques, du diabète, des troubles de la reproduction, de l'obésité et, dans l'environnement, une féminisation des poissons, des troubles métaboliques, des troubles de la reproduction et du développement, constituant ainsi une menace pour la biodiversité.

Le LNE s'est particulièrement intéressé au défi que représente la possibilité de garantir, pour ces composés, des mesures quantitatives fiables à des niveaux de concentration pertinents. Dans le domaine de la santé humaine, ces niveaux sont définis par les seuils de diagnostic clinique, de l'ordre du nanogramme par millilitre, ce qui correspond à peu près à une pilule contraceptive dissoute dans une piscine olympique. À ceci s'ajoute la nécessité de travailler sur des matrices complexes (sérum, plasma, urine) et de suivre des cohortes d'individus. Dans le domaine de la santé environnementale, les concentrations pertinentes, pilotées par la règlementation, sont de l'ordre du picogramme par litre. Les matrices peuvent être des eaux de surface, des eaux marines, des eaux usées, mais aussi des matrices plus solides comme les sédiments. Les analyses doivent porter sur de nombreuses molécules, endogènes ou synthétiques.

À l'heure actuelle, pour les matrices biologiques, il existe 16 matériaux de référence certifiés permettant de détecter les hormones stéroïdiennes, mais à des niveaux de concentration relativement élevés (à partir de 31 picogrammes par millilitre) par rapport aux concentrations pour lesquelles des problèmes de justesse et de variabilité sont observés, ainsi que 29 méthodes de référence, mais celles-ci ne couvrent que 10 hormones stéroïdiennes. L'une de ces méthodes seulement permet de cibler plusieurs composants en même temps. Pour les matrices environnementales, il n'existe aucun matériau ni méthode de référence. Il est donc urgent d'améliorer la qualité et la disponibilité des étalons internationaux, mais aussi d'accroître la disponibilité des méthodes de référence, en particulier de méthodes ciblant plusieurs composés.

Le projet EDC-WFD

Le LNE a coordonné le projet européen EDC-WFD (*Metrology for monitoring endocrine disrupting compounds under the Water Framework Directive*), déjà mentionné par Nathalie Guigues, qui a mobilisé huit instituts de métrologie et instituts académiques européens et s'est terminé en 2023. Destiné à développer des outils fiables pour la détection des œstrogènes dans l'eau, il a effectivement permis de mettre au point et de valider des méthodes de surveillance par analyses chimiques et biochimiques, et d'assurer la traçabilité au SI (Système international d'unités) grâce au développement de matériaux de référence (étalons primaires) en cours de certification. Il a également permis de formuler des recommandations en vue de la révision de la norme ISO 5667-3 sur la mesure par spectrométrie de masse, et en vue de la révision de la série de normes ISO 19040 sur les bioessais. Enfin, ce projet a abouti à la création d'un groupe de travail sur l'élaboration d'une future norme basée sur la quantification d'œstrogènes dans l'eau par spectrométrie de masse.

Méthode de quantification d'hormones stéroïdiennes

Le LNE a également porté un projet de thèse, mené par Élodie Mirmont, sur le développement de méthodes de quantification par spectrométrie de masse d'hormones stéroïdiennes et de composés apparentés dans des matrices environnementales et biologiques. Pour ce projet, nous avons sélectionné 21 molécules appartenant à quatre familles d'hormones stéroïdiennes (androgènes, estrogènes, glucocorticoïdes et progestatifs) présentant des structures similaires mais des propriétés physico-chimiques assez différentes, ce qui fait de la mesure analytique de ces composés un vrai défi.

N'ayant pas réussi à élaborer une méthode permettant de mesurer toutes ces molécules conjointement, nous avons dû mesurer séparément les œstrogènes et les autres hormones stéroïdiennes. Pour les matrices environnementales, nous avons extrait et purifié les différentes molécules puis les avons concentrées avec un facteur de 5 000 afin de pouvoir les analyser au niveau de concentration visé. Puis nous avons testé les performances initiales de la méthode selon la norme NF T90-210 sur sept matrices représentatives différentes, avec chaque fois quatre niveau de concentration, afin d'évaluer la fonction d'étalonnage, l'exactitude, la limite de quantification, les incertitudes de mesure. Nous avons obtenu des performances satisfaisantes pour l'exactitude et les limites de quantification. En revanche, les niveaux d'incertitude peuvent paraître assez élevés. Ces performances sont néanmoins jugées satisfaisantes par rapport à ce qui existe actuellement pour ces faibles niveaux de concentration et les besoins dans le domaine.

Pour les échantillons biologiques, après les développements de la préparation d'échantillons incluant également une extraction et une concentration des différentes molécules, nous avons évalué les performances initiales de la méthode selon les recommandations de la norme ICH Q2 (R2). La matrice utilisée pour la préparation des étalons et des échantillons de contrôle à trois ou quatre niveaux de concentration était du sérum déstéroïdé. Les essais ont été menés avec les mêmes objectifs d'évaluation que pour les échantillons environnementaux. Cette fois, les incertitudes de mesure qui, pour les niveaux de concentration élevés, sont de 11 % au maximum et, pour les limites de quantification, de 48 % au maximum, n'apparaissent pas adaptées au besoin. L'approche GUM (Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure) permet d'identifier quelle est la source d'incertitude majoritaire et d'évaluer comment la réduire. Dans le cas de la testostérone, il s'agit du modèle d'étalonnage. En réduisant notre gamme de concentration, nous avons réussi à réduire le taux d'incertitude de mesure de 45 à 23 %. Nous avons cependant encore besoin d'améliorer les limites de quantification, de diminuer les incertitudes de mesure à basse concentration et de simplifier les étapes de préparation des échantillons.

Un autre projet de thèse, mené par Chloé Duret, est en cours et vise à développer une méthode et un matériau de référence pour trois hormones stéroïdiennes dans les applications en santé humaine (Testostérone, 17-ß-Estradiol et Aldostérone). Les recherches sont en cours, l'objectif étant de porter les limites de quantification à 10 picogrammes par millilitre pour la première et à 5 pour les deux autres, et de réduire l'incertitude de mesure à 10%, avec une méthode de préparation d'échantillons plus spécifique.

Débats

La mesure du CO_2 capté par l'océan

Dans les océans, quelle est l'importance relative du CO_2 qui réagit chimiquement et du CO_2 dissous physiquement dans l'eau ?

Paola Fisicaro : Le carbone est effectivement présent sous différentes formes, organiques et inorganiques. C'est pourquoi la mesure du pH n'est que l'un des paramètres mesurés, en fonction de ce que l'on veut mettre en évidence.

Le pH est-il homogène d'un océan à l'autre, et quelle que soit la profondeur ?

Paola Fisicaro : Il existe des variations en fonction des zones et de la profondeur, et les campagnes de prélèvement d'échantillons en tiennent compte. Les différences ne sont parfois que de quelques millièmes ou centièmes, mais il est essentiel d'être très précis si l'on veut percevoir les évolutions au fil du temps.

Les mesures sur site

Valérie Masson-Delmotte : En ce qui concerne les analyses de l'eau, la période de trois mois retenue pour les mesures en continu sur site est-elle suffisante pour tenir compte des variations de température, d'étiage ou de concentration que l'on peut rencontrer tout au long de l'année ?

Nathalie Guigues : En milieu littoral, un mois est suffisant car, avec les effets de marée, les concentrations varient énormément et l'encrassement biologique des instruments est très rapide. Ailleurs, nous nous assurons que les variations sont suffisamment importantes pendant la période de trois mois. Ainsi, un essai sur du chlore qui devait durer trois mois a été prolongé jusqu'à sept mois, ce qui nous a permis d'enregistrer des variations de température de 10 à 25 °C. Cet essai était mené en usine, ce qui a rendu possible la réalisation d'un banc en boucle fermée avec différents dopages. En milieu naturel, c'est souvent plus difficile.

Les techniciens chargés de réaliser les mesures sur site sont-ils correctement formés ?

Nathalie Guigues : Le rôle d'Aquaref est précisément de fiabiliser les méthodes de prélèvement et d'analyse. Pour l'étape clé de l'échantillonnage, par exemple, nous avons beaucoup travaillé sur les protocoles avec nos collègues de l'INERIS. Nous avons, notamment, réalisé des doubles échantillonnages pour évaluer la dispersion des préleveurs. Nous les avons accompagnés sur le terrain pour observer leurs pratiques et répondre à leurs questions, et avons constaté à cette occasion que leurs pratiques se sont nettement améliorées, ce qui est certainement lié à l'accréditation échantillonnage mise en place il y a quelques années.

Des incertitudes très fortes

Peut-on se satisfaire d'une incertitude de 70% sur la mesure des œstrogènes ?

Thomas Grenon : Il s'agit de mesurer des traces dans des matrices complexes, d'où des incertitudes qui doivent nous rendre très humbles sur les décisions que nous prenons…

Valérie Masson-Delmotte : Certains de mes collègues participent à un projet de l'ANR (Agence nationale de la recherche) visant à analyser de la vase d'égout à Paris. Ce type de matrice peut-il servir de bio-accumulateur et être analysé par des échantillonneurs intégratifs ?

Nathalie Guigues : Il est possible d'utiliser des échantillonneurs sur du biofilm, qui accumule les polluants, mais, dans ce cas, on ne peut mesurer que l'absence ou la présence du polluant.

Ne pas oublier les pesticides…

Vous avez donné beaucoup d'importance aux hormones stéroïdiennes, et beaucoup moins aux pesticides, qui peuvent pourtant, eux aussi, impacter la santé végétale et animale (y compris à travers le changement de sexe des poissons), aussi bien qu'humaine.

Amandine Bœuf : Le LNE a fait le choix de s'intéresser particulièrement aux hormones stéroïdiennes mais, effectivement, elles sont loin d'être les seuls perturbateurs endocriniens. Dans le cadre du projet PARC, nous allons également travailler sur les PFAS.

Vers des simulations numériques?

Compte tenu du nombre de substances à rechercher et du nombre d'étalons à définir, la voie que vous suivez n'est-elle pas sans issue ? Ne faudrait-il pas recourir à la simulation numérique ?

Amandine Bœuf : Il est certain que nous ne pourrons pas couvrir une palette infinie de molécules. C'est pourquoi nous mettons également en avant, à côté des méthodes de référence, des méthodes de quantification, c'est-à-dire des sortes de « cartes de contrôle » qui permettront de comparer des résultats au cours du temps.

Mots-clés : acidification des océans, étalonnage, hormones stéroïdiennes, mesures sur site, métrologie, *One Health*, perturbateurs endocriniens, qualité de l'eau.

Citation :Thomas Grenon, Valérie Masson-Delmotte, Paola Fisicaro, Nathalie Guigues & Amandine Bœuf. (2024). *Environnement, changement climatique et santé : quel apport de la métrologie ?* Les séances thématiques de l'Académie des technologies. @

Retrouvez les autres parutions des séances thématiques de l'Académie des technologies sur notre site

Académie des technologies. Le Ponant, 19 rue Leblanc, 75015 Paris. 01 53 85 44 44. academie-technologies.fr
Production du comité des travaux. Directeur de la publication : Patrick Pélata. Rédacteur en chef de la série : Hélène Louvel. Auteur : Élisabeth Bourguinat. n° ISSN : 2826-6196.

Les propos retranscrits ici ne constituent pas une position de l'Académie des technologies et ils ne relèvent pas, à sa connaissance, de liens d'intérêts. Chaque intervenant a validé la transcription de sa contribution, les autres participants (questions posées) ne sont pas cités nominativement pour favoriser la liberté des échanges.