



Problématique liée à la présence des perturbateurs endocriniens dans les milieux aquatiques

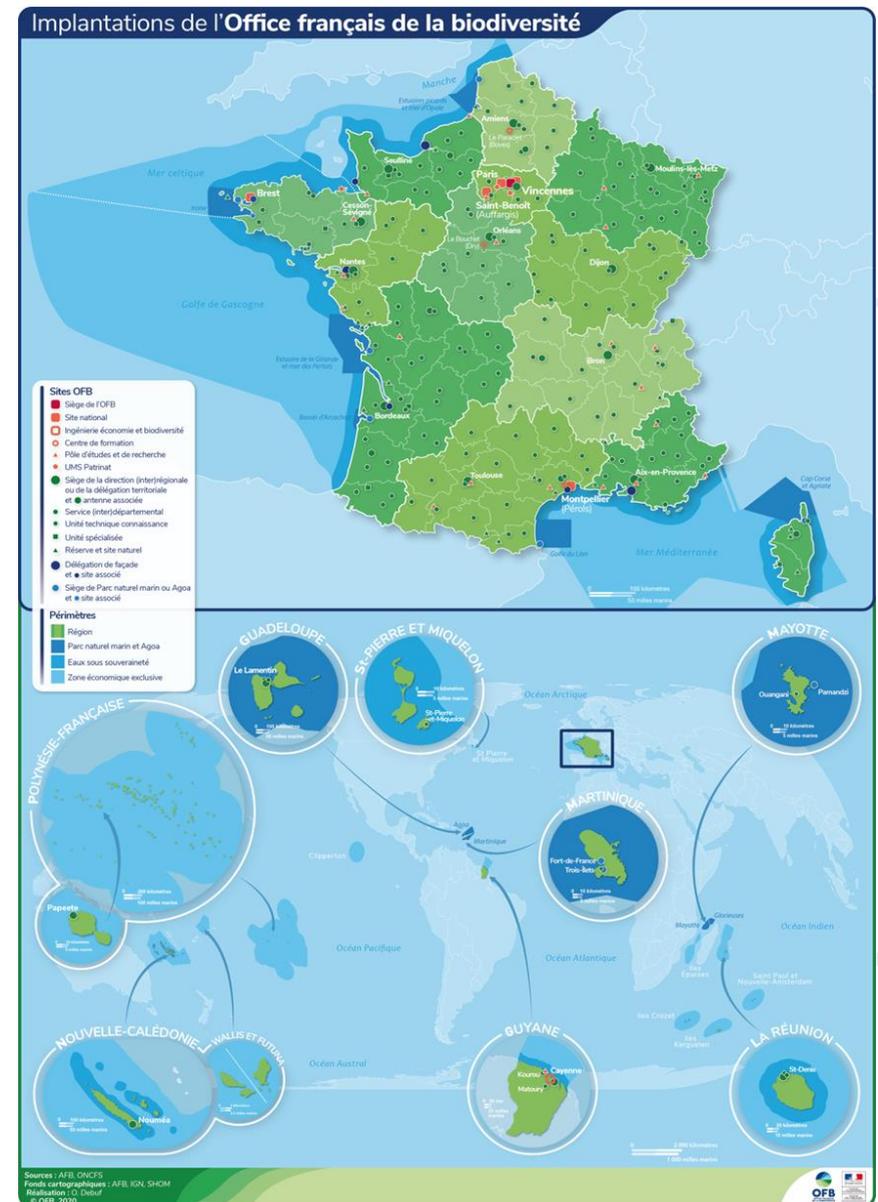
Olivier Perceval (OFB/DRAS/SMR)

olivier.perceval@ofb.gouv.fr

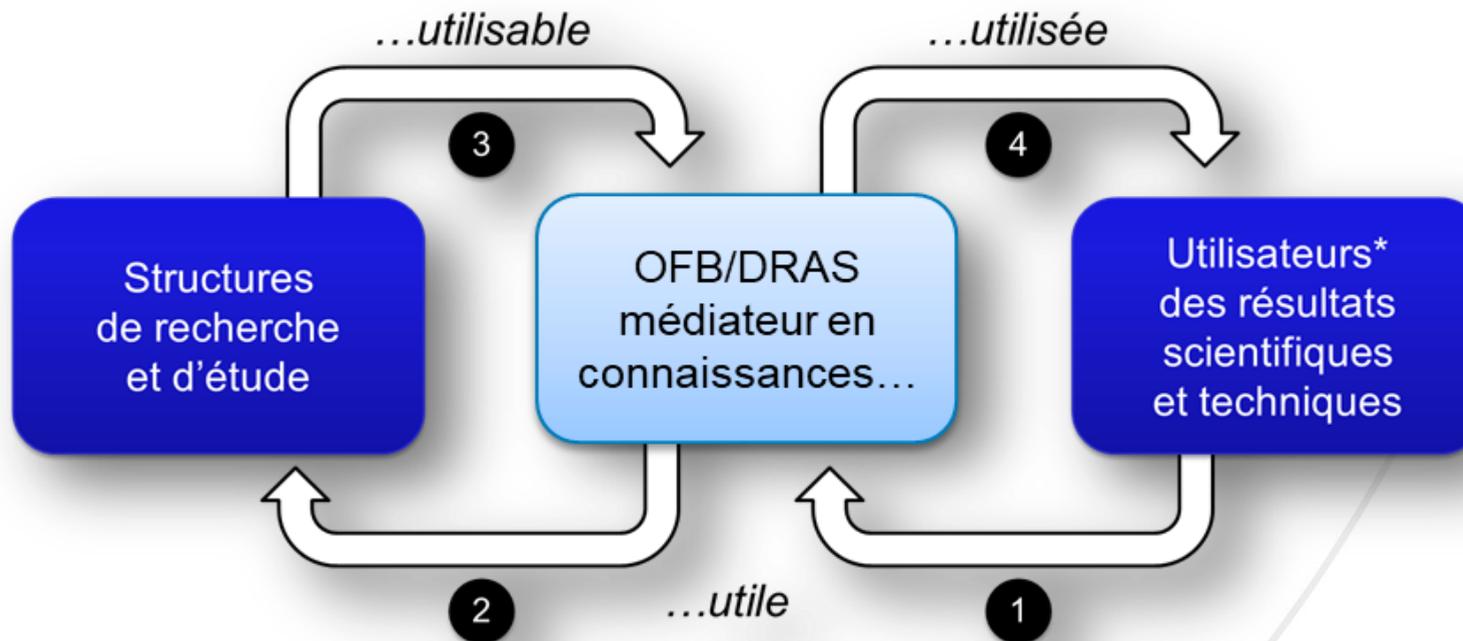


L'OFB et quelques chiffres

- Créé au 1^{er} janvier 2020, placé sous la tutelle du MTES et MAA
- Principales missions
 - > connaissance, recherche et expertise sur les espèces, les milieux et leurs usages
 - > police de l'environnement et police sanitaire de la faune sauvage
 - > appui à la mise en œuvre des politiques publiques
 - > gestion et appui au gestionnaires d'espaces naturels
 - > appui aux acteurs et mobilisation de la société
- Les forces de l'OFB
 - > 2 800 agents (dont 1 900 dans les entités territoriales)
 - > Directions nationales et régionales et leurs services territoriaux
 - > 9 parcs naturels marins
 - > 1 sanctuaire de mammifères marins
 - > 26 réserves naturelles



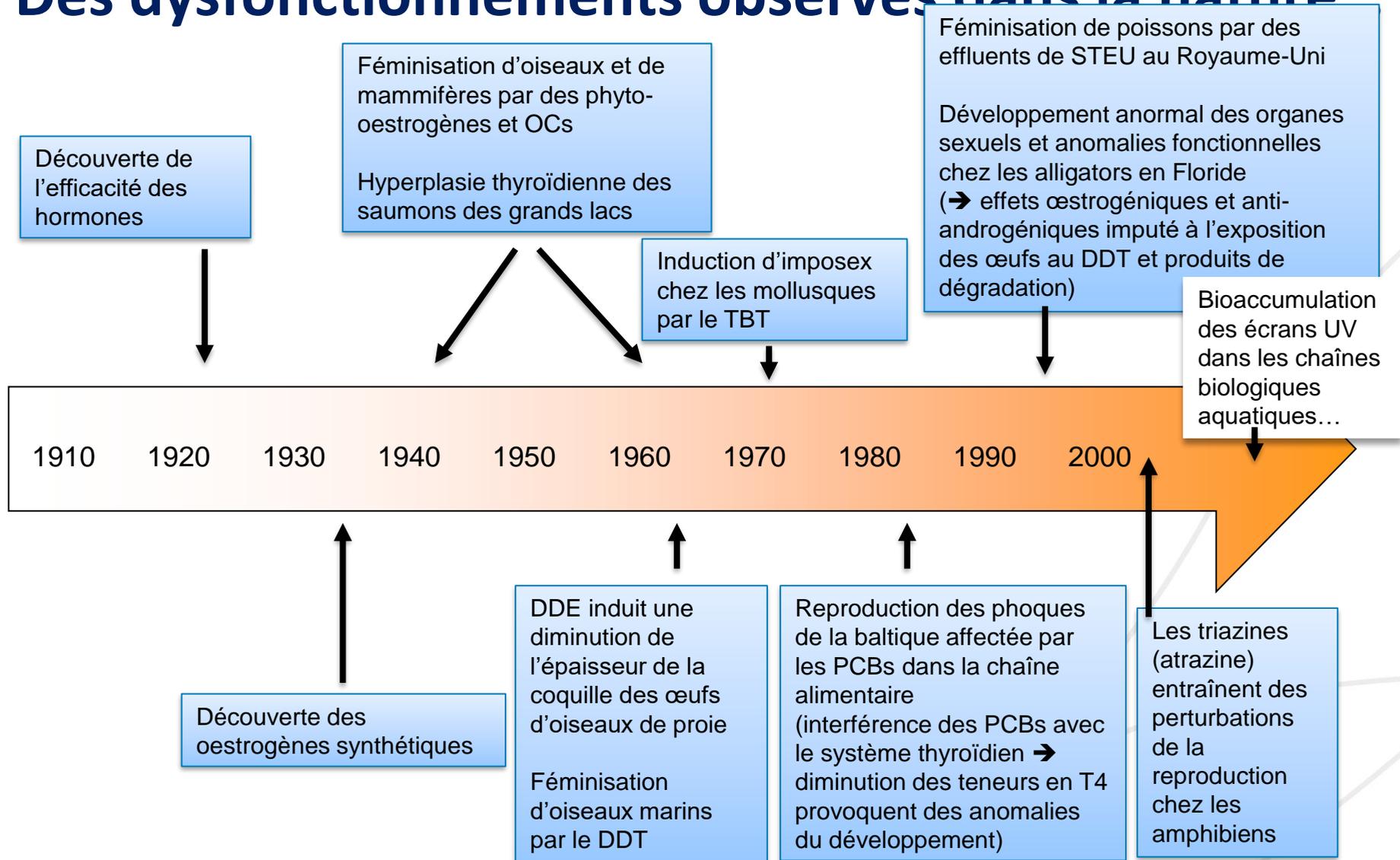
Direction recherche et appui scientifique



Sommaire

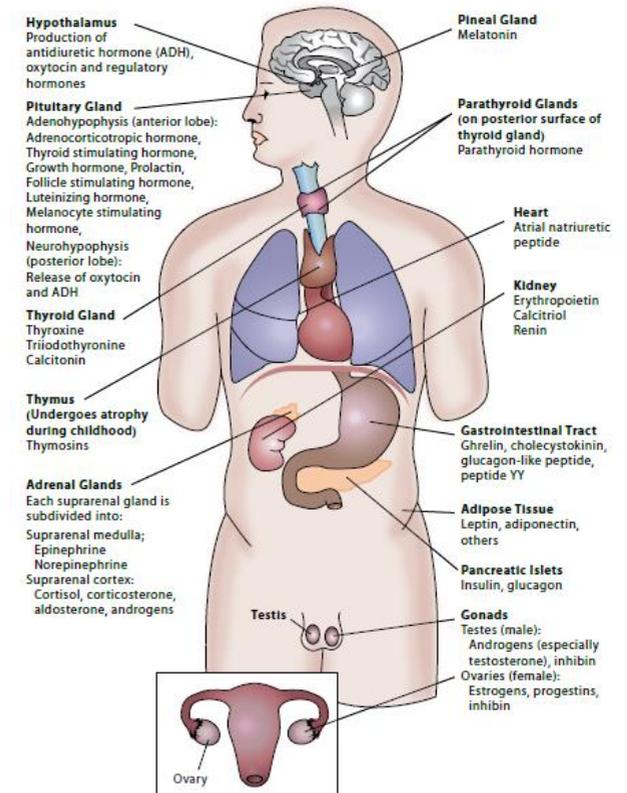
- **Généralités sur les perturbateurs endocriniens (PE), réglementation UE**
- **Action des pouvoirs publics : la nouvelle stratégie nationale sur les PE (SNPE2)**
- **Activités de l'OFB en lien avec la problématique des PE**
 - > caractérisation du niveau de présence des substances PE dans les milieux aquatiques et de leurs effets sur les espèces sauvages
 - > développement d'approches bio-analytiques pour identifier les sources de PE à l'échelle d'un territoire
- **Quelles lacunes sur les connaissances environnementales et les effets des PE sur la faune sauvage ?**

Des dysfonctionnements observés dans la nature



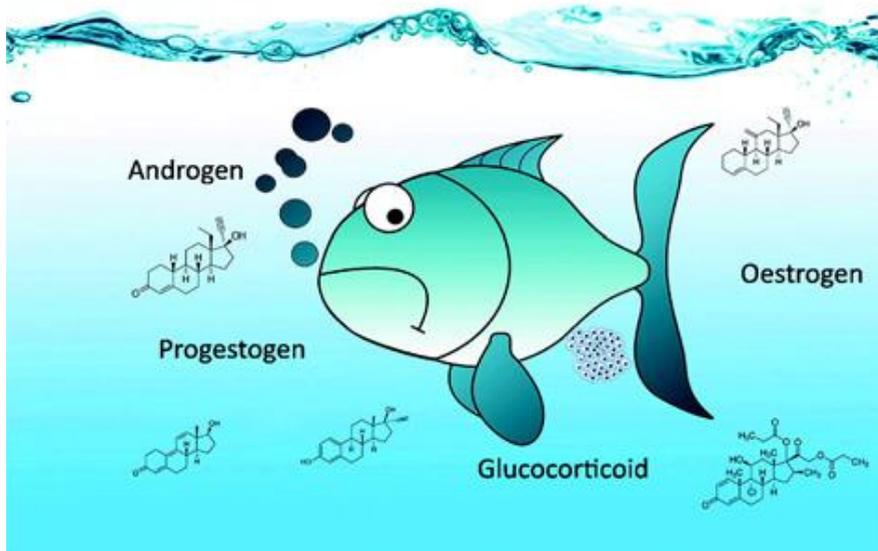
Les perturbateurs endocriniens, c'est quoi ?

- « Substance exogène ou mélange de substances exogènes altérant 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 » (OMS 2002)
- Interfère avec de nombreuses fonctions physiologiques (reproduction, croissance et métabolisme, réponse au stress, développement sexuel et neurologique,...)
 - > en mimant l'action des hormones
 - > en bloquant les récepteurs cellulaires
 - > en agissant sur la synthèse, le transport, le métabolisme et l'élimination des hormones
- Complexité de l'évaluation du risque
 - > effets à de faibles doses
 - > relations dose-réponse non-monotones
 - > existence de fenêtres critiques d'exposition
 - > effets trans-générationnels

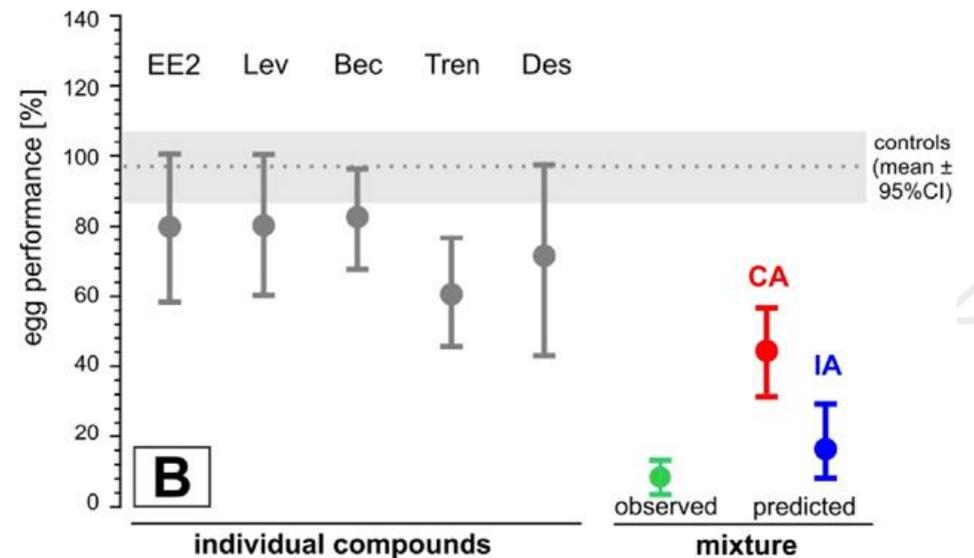
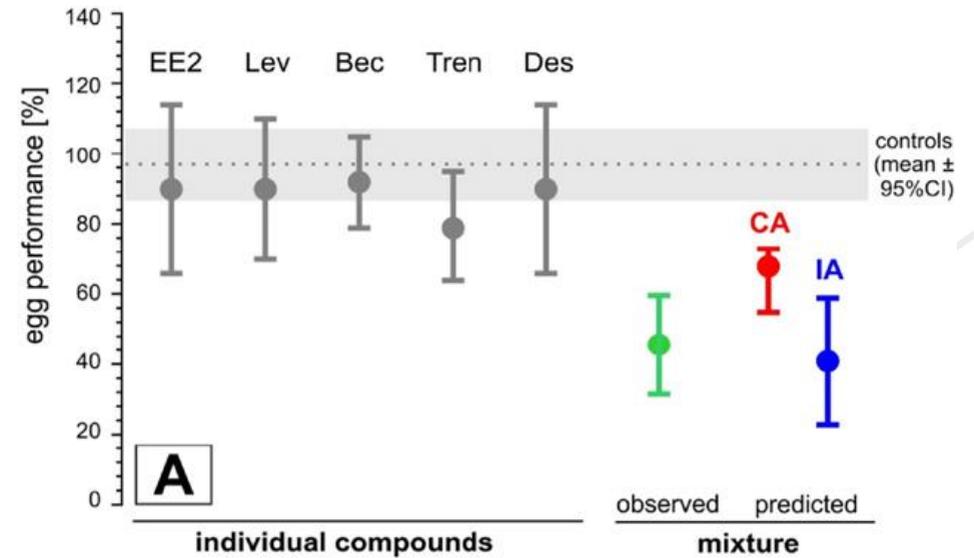


Source: UNEP/WHO (2012). State of the science of endocrine disrupting chemicals, edited by edited by Ake Bergman, Jerrold J. Heindel, Susan Jobling, Karen A. Kidd and R. Thomas Zoeller.

Problématique des mélanges (« effet cocktail »)



Source: Thrupp *et al.* (2018). The consequences of exposure to mixtures of chemicals: Something from nothing and “a lot from a little” when fish are exposed to steroid hormones. *Science of the Total Environment* 619-620: 1482-1492



Principales voies d'entrée dans les milieux aquatiques



> Effluents industriels, usines de pâtes à papier (Munkittrick *et al.* 1998; Jenkins *et al.* 2003; Ellis *et al.* 2003)



> Produits vétérinaires utilisés dans l'élevage du bétail, hormones sexuelles (Lange *et al.* 2002; Orlando *et al.* 2004; Johnson *et al.* 2006)



> Rejets de stations de traitement des eaux usées (Sumpter et Jobling 1995; Jobling *et al.* 1998; Kolpin *et al.* 2002)

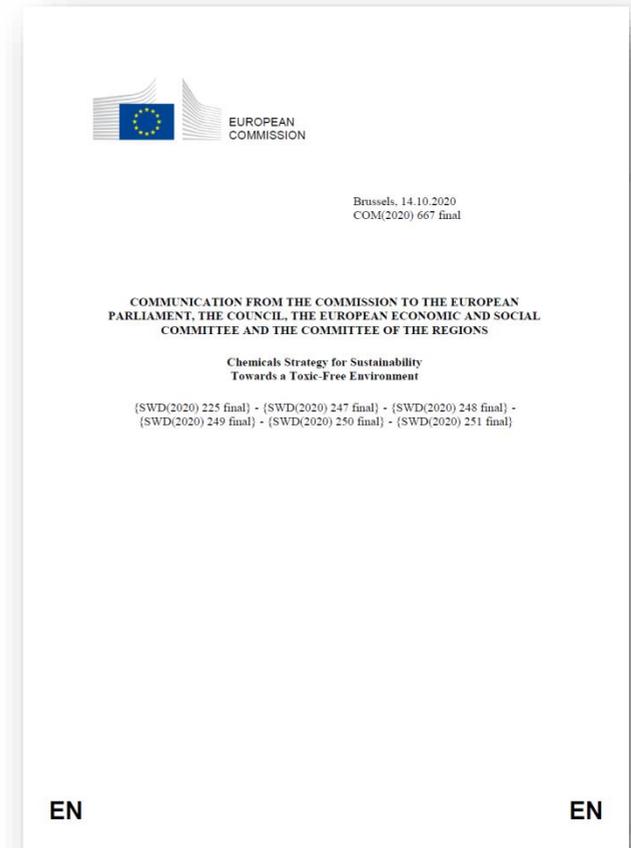


> Ruissellement de pesticides appliqués sur les cultures (Hayes *et al.* 2006)
> Boues de STEU utilisées en agriculture (Yang *et al.* 2012)



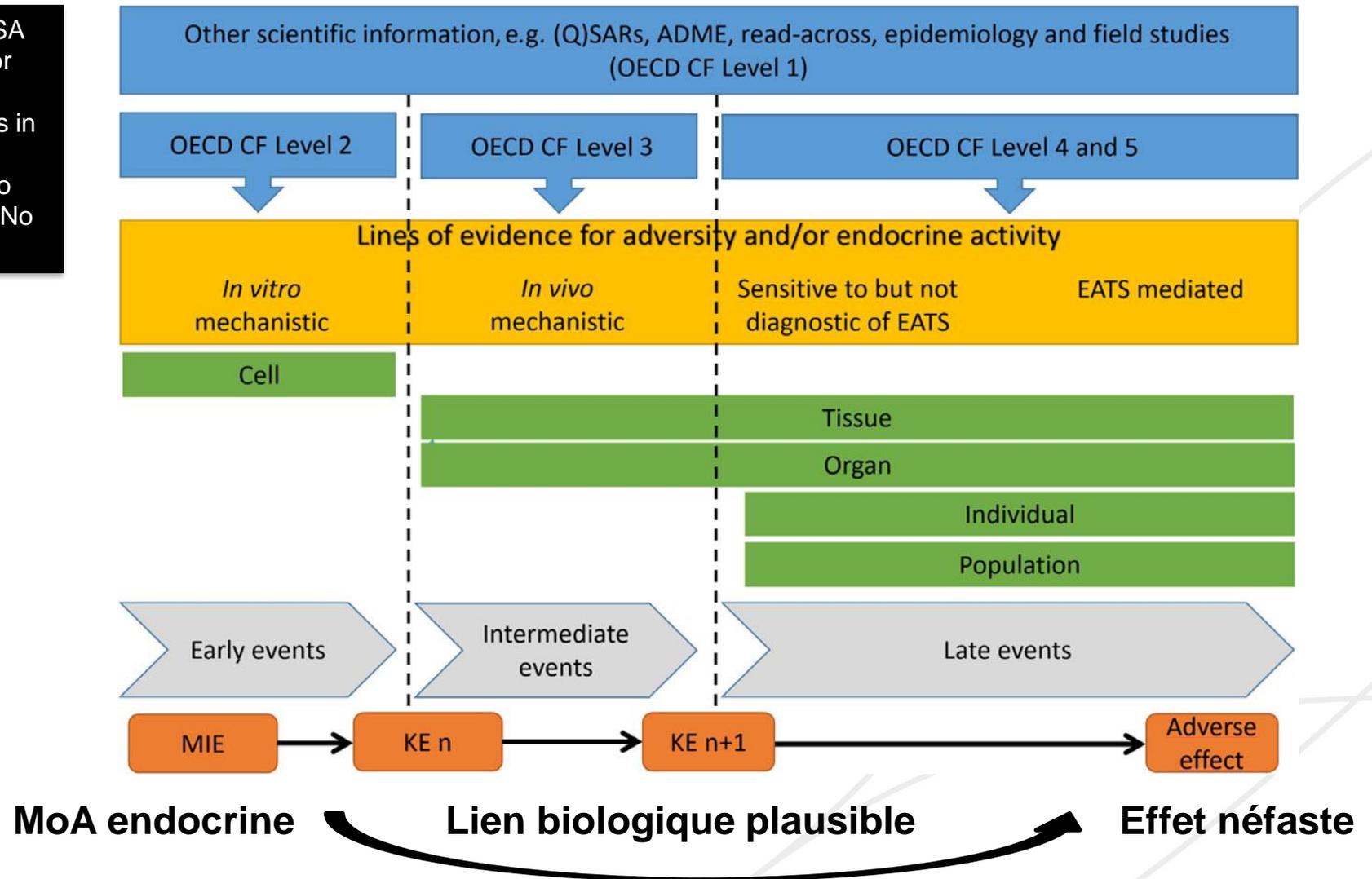
Réglementation UE sur les PE

- Utilisation des produits contenant des PE représente une menace croissante envers la santé de l'Homme et de la faune
 - > exposition durant des périodes critiques du développement conduisant à des effets irréversibles, effets sur la croissance et le développement du cerveau
 - > impact économique lié aux effets sanitaires évalué à 150 milliards/an en Europe
- Réglementation encore trop fragmentée
 - > REACH (« SVHC »), réglementations sur les produits biocides et phytopharmaceutiques : identification des propriétés PE des substances avant leur mise sur le marché
 - > directive-cadre sur l'eau : classement des substances en SDP (élimination des émissions, rejets et pertes), application d'un facteur de sécurité supplémentaire pour les NQE
 - > révision de la directive eau potable : suivi des PE
- Besoin de mettre en cohérence et rapprocher les cadres d'évaluation des substances



Critères scientifiques pour identifier les PE

Source: ECHA/EFSA (2018). Guidance for the identification of endocrine disruptors in the context of Regulations (EU) No 528/2012 and (EC) No 1107/2009



Sommaire

- Généralités sur les perturbateurs endocriniens (PE), réglementation UE
- **Action des pouvoirs publics : la nouvelle stratégie nationale sur les PE (SNPE2)**
- Activités de l'OFB en lien avec la problématique des PE
 - > caractérisation du niveau de présence des substances PE dans les milieux aquatiques et de leurs effets sur les espèces sauvages
 - > développement d'approches bio-analytiques pour identifier les sources de PE à l'échelle d'un territoire
- Quelles lacunes sur les connaissances environnementales et les effets des PE sur la faune sauvage ?

La deuxième stratégie nationale sur les PE (1)

- Composante du plan « *Mon environnement, Ma santé* » (PNSE4)
 - > copiloté par le MTES et le ministère des Solidarités et de la Santé
 - > agir dans une logique de prévention en réduisant les pollutions à la source
 - > protéger la biodiversité, la santé des écosystèmes et la santé humaine (One health)
- Axe 1 « Former et informer »
 - > liste de PE publique et partagée
 - > site d'information grand public sur les risques liés à certains produits chimiques
 - > former les professionnels de santé et les agents des collectivités territoriales



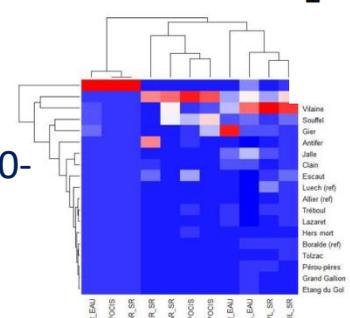
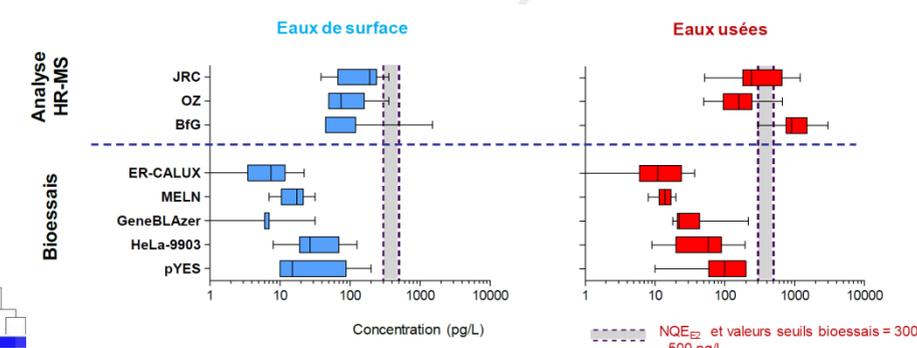
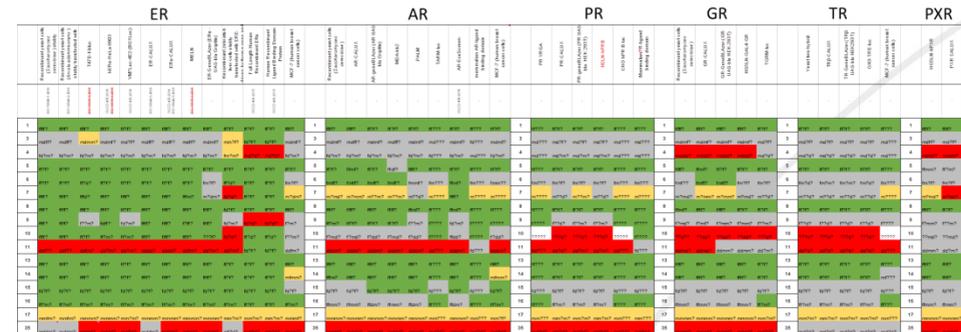
La deuxième stratégie nationale sur les PE (2)

- Axe 2 « Protéger l'environnement et la population »
 - > collecter les données d'imprégnation des différents milieux (air, eau, sol) par les PE et les centraliser
 - > améliorer les connaissances sur les effets des PE sur la faune
 - > mobiliser industriels et distributeurs pour substituer
 - > défendre la prise en compte spécifique des PE dans toutes les réglementations UE sur les substances chimiques
- Axe 3 « Améliorer les connaissances »
 - > accélérer la recherche pour adapter la gestion des risques
 - > développer une recherche appliquée en santé pour prévenir, prendre en charge et traiter les effets des PE
 - > élargir la surveillance des populations à d'autres pathologies que celles de la reproduction



Développer et promouvoir la surveillance de l'activité PE dans les milieux et les rejets

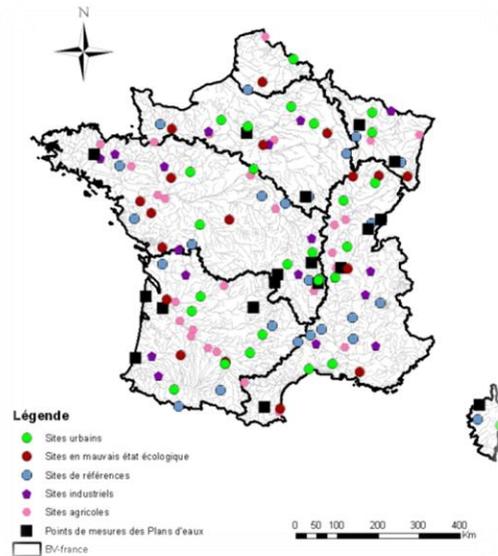
- Contexte : réexamen de la DCE
 - > inventaire des méthodes biologiques existantes (bioessais *in vitro* et *in vivo*) et application de critères de validation scientifiques et technico-économiques
 - > évaluation des performances relatives des outils biologiques
 - > mise en place de démonstrateurs
- Réseau de surveillance prospective (RSP)
 - > apport des bioessais pour l'évaluation de la qualité chimique des milieux aquatiques
- Appel à projets « micropolluants urbains »
 - > rédaction de guides inter-projets (2020-2021)



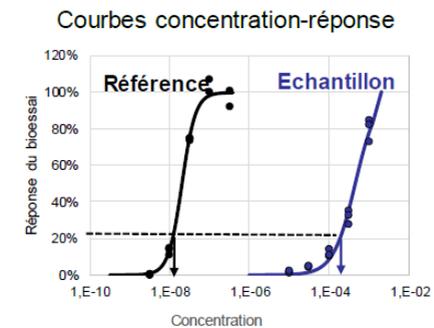
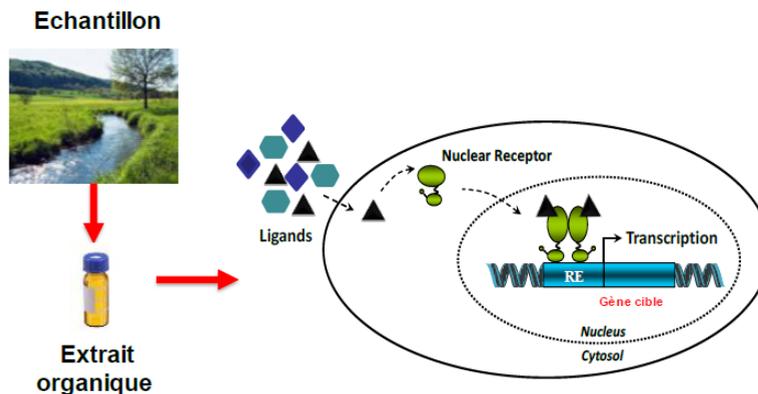
Sommaire

- Généralités sur les perturbateurs endocriniens (PE), réglementation UE
- Action des pouvoirs publics : la nouvelle stratégie nationale sur les PE (SNPE2)
- **Activités de l'OFB en lien avec la problématique des PE**
 - > caractérisation du niveau de présence des substances PE dans les milieux aquatiques et de leurs effets sur les espèces sauvages
 - > développement d'approches bio-analytiques pour identifier les sources de PE à l'échelle d'un territoire
- Quelles lacunes sur les connaissances environnementales et les effets des PE sur la faune sauvage ?

Niveaux d'imprégnation des milieux aquatiques par les PE



- Etude prospective 2012
- 115 sites en rivière, 18 sites lacustres avec des pressions contrastées (intensité et typologie - référence, agricole, urbain, industriel)
 - > 350 échantillons d'eau prélevés à trois occasions (printemps, été, automne)
 - > 130 échantillons de sédiments prélevés à l'automne

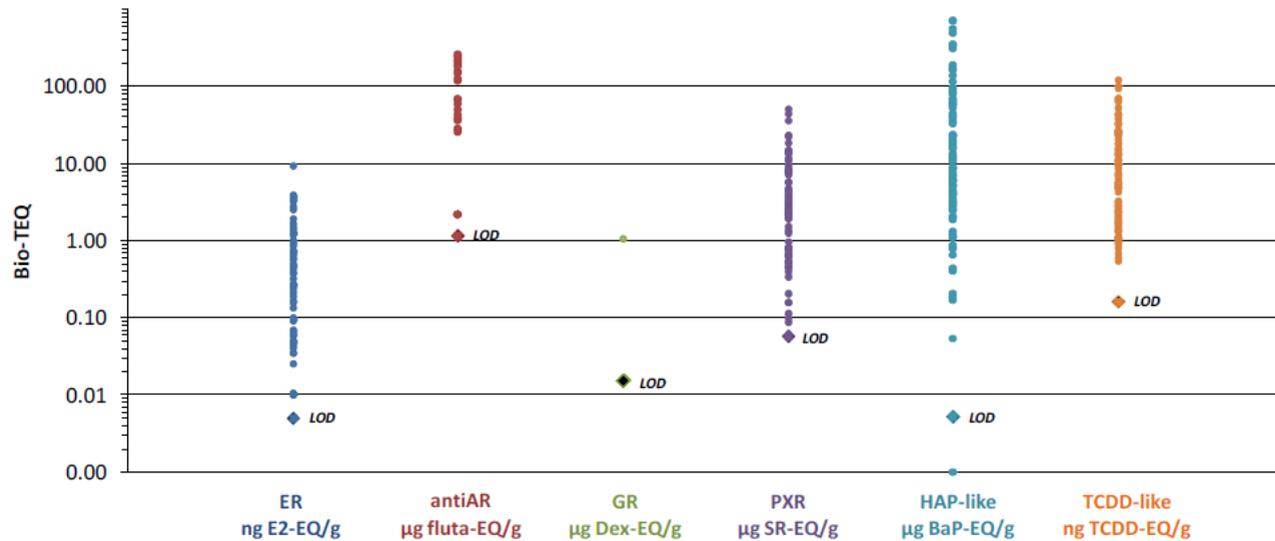


Quantification d'équivalents toxiques (TEQ) par quantité d'échantillon

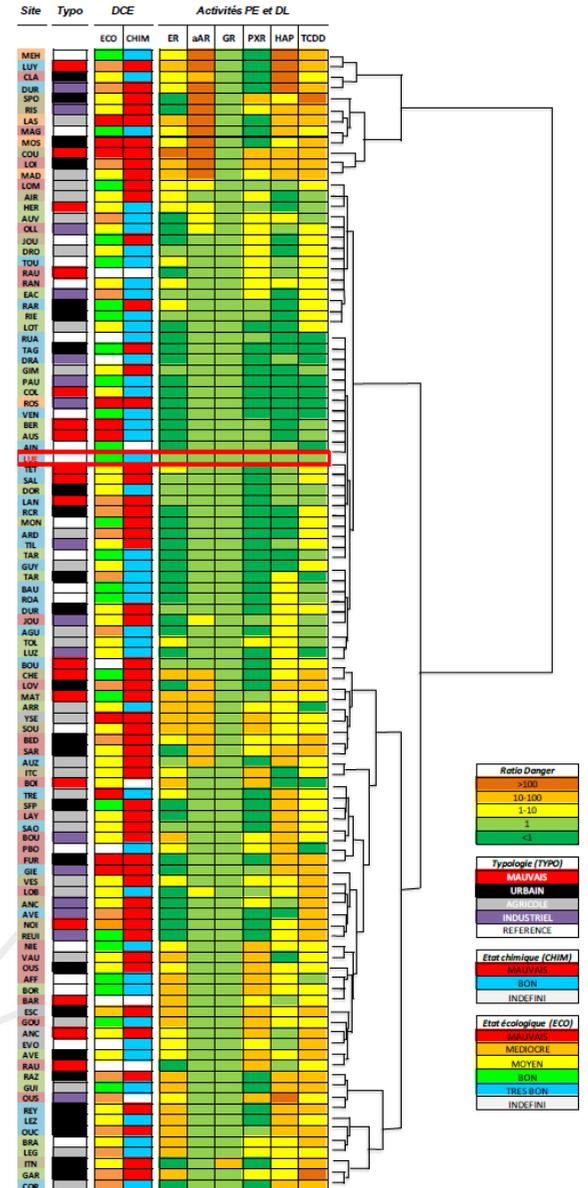
$$TEQ = \frac{EC20 \text{ du composé de référence}}{EC20 \text{ de l'extrait environnemental}}$$

Source: Aït-Aïssa S, Chardon C, Brion F (2019).
Surveillance prospective : Apport des bioessais pour l'évaluation de la qualité chimique des milieux aquatiques.
Rapport AQUAREF DRC-20-172902-02808A – 41 p .

Niveaux d'imprégnation des milieux aquatiques par les PE



- > contamination générale des sédiments de rivière par des substances de type PE et dioxin-like
- > niveaux d'activité comparables à ceux rapportés dans la littérature pour des sédiments en Europe

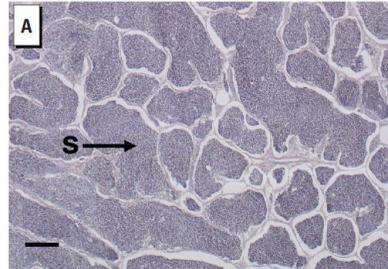


Source: Aït-Aïssa S, *et al.* (2015). Démarche bio-analytique pour l'identification de polluants émergents dans les milieux aquatiques – Application aux sédiments de l'étude prospective . Rapport Ineris DRC-15-136859-12228A

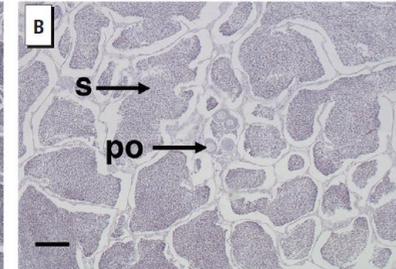
L'intersexualité c'est quoi, pourquoi l'étudier ?

- > anomalies du tissu reproducteur, présence de cellules sexuelles femelles dans les gonades mâles (ovotestis)

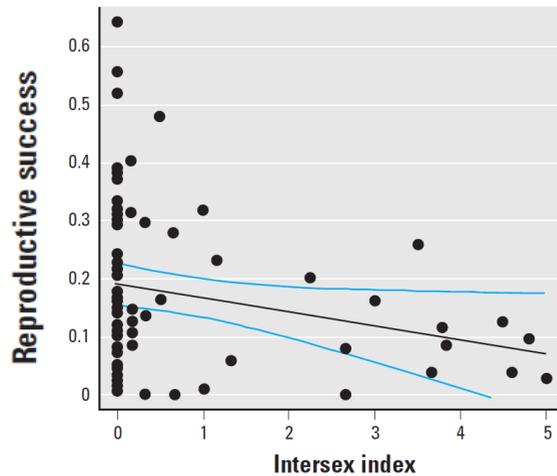
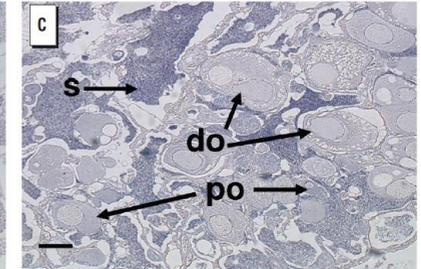
OSI = 0



OSI = 0,33



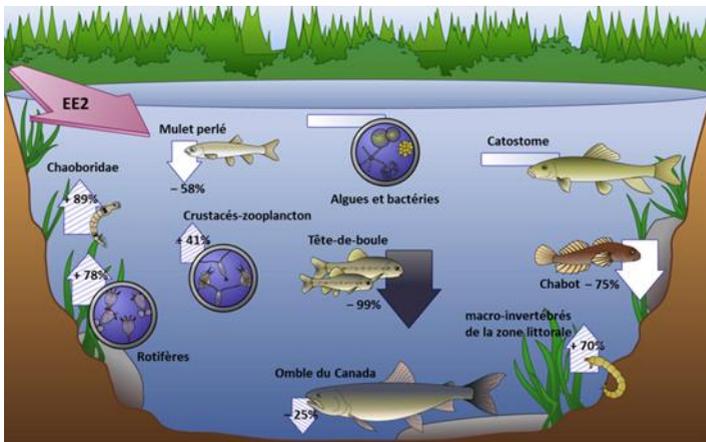
OSI = 4,8



- > diminution de la fertilité (Jobling et al., 2002) et du succès reproducteur (nb de descendants par géniteur) chez certaines espèces de poisson sauvages (Harris et al., 2011)

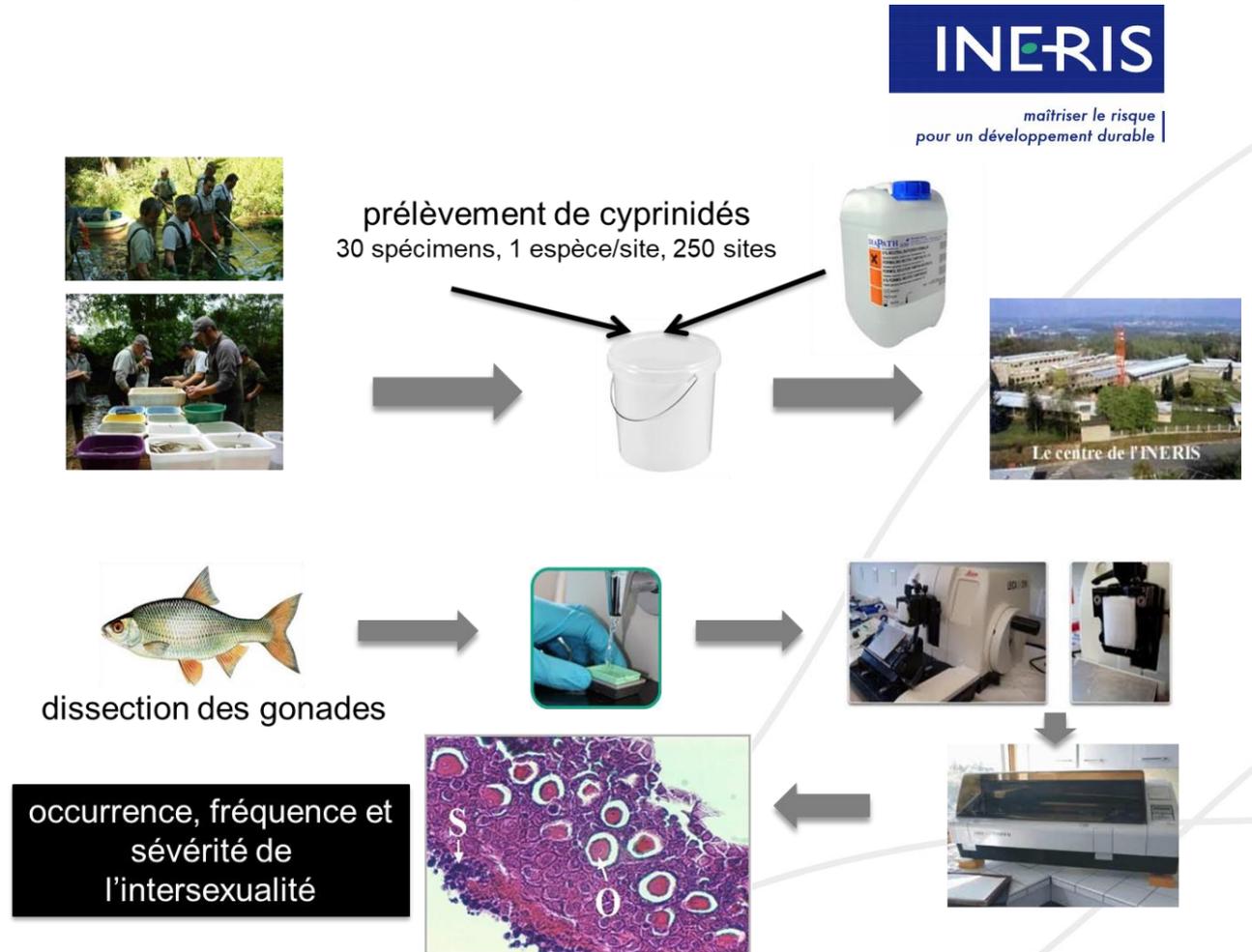
- > intersexualité: phénomène résultant de l'action combinée des œstrogènes stéroïdiens (dans les rejets de STEU) et des anti-androgènes (Jobling et al., 2009)

- > intersexe = biomarqueur de perturbation endocrine prédictif d'effets au niveau populationnel (i.e. extinction de certaines populations de cyprinidés suite à une exposition prolongée à l'EE2 à des concentrations réalistes d'un point de vue environnemental, Kidd et al., 2007)

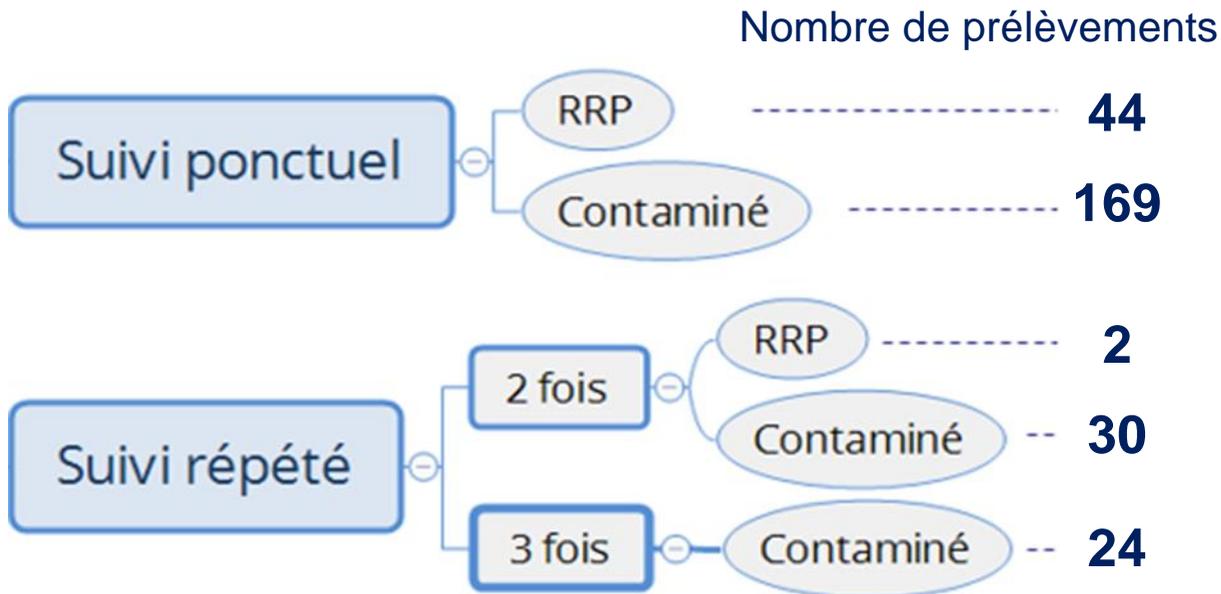


Cartographie nationale de l'intersexualité des cyprinidés dans les rivières de métropole

- > partenariat OFB-Ineris
- > prélèvements opportunistes lors des pêches RCS réalisées pour caractériser l'état écologique des CE
- > déployer un protocole relativement « léger » avec l'appui des DR et SD (effet démultiplicateur)
- > pas de pêches spécifiques, peu d'impact sur la durée des opérations de pêche électrique



Plan d'échantillonnage, prélèvements réalisés



RRP = stations du réseau de référence pérenne

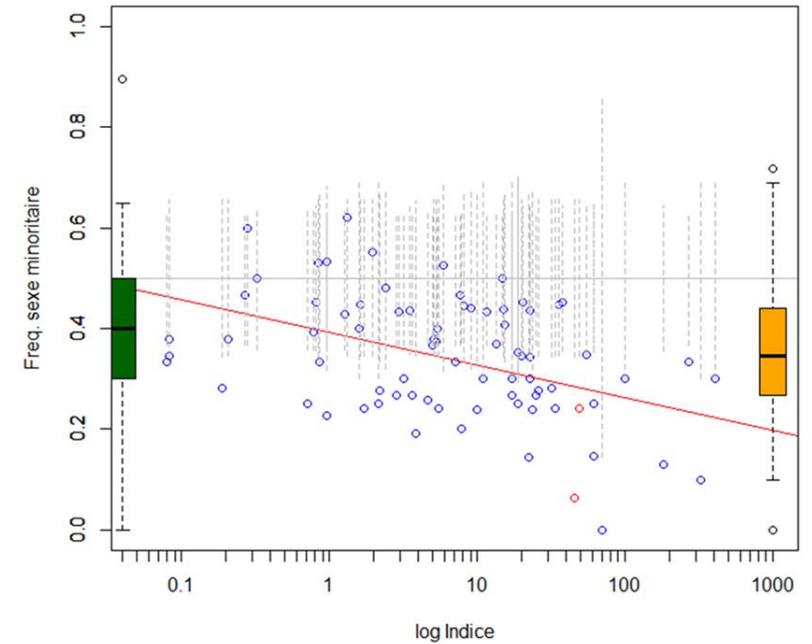
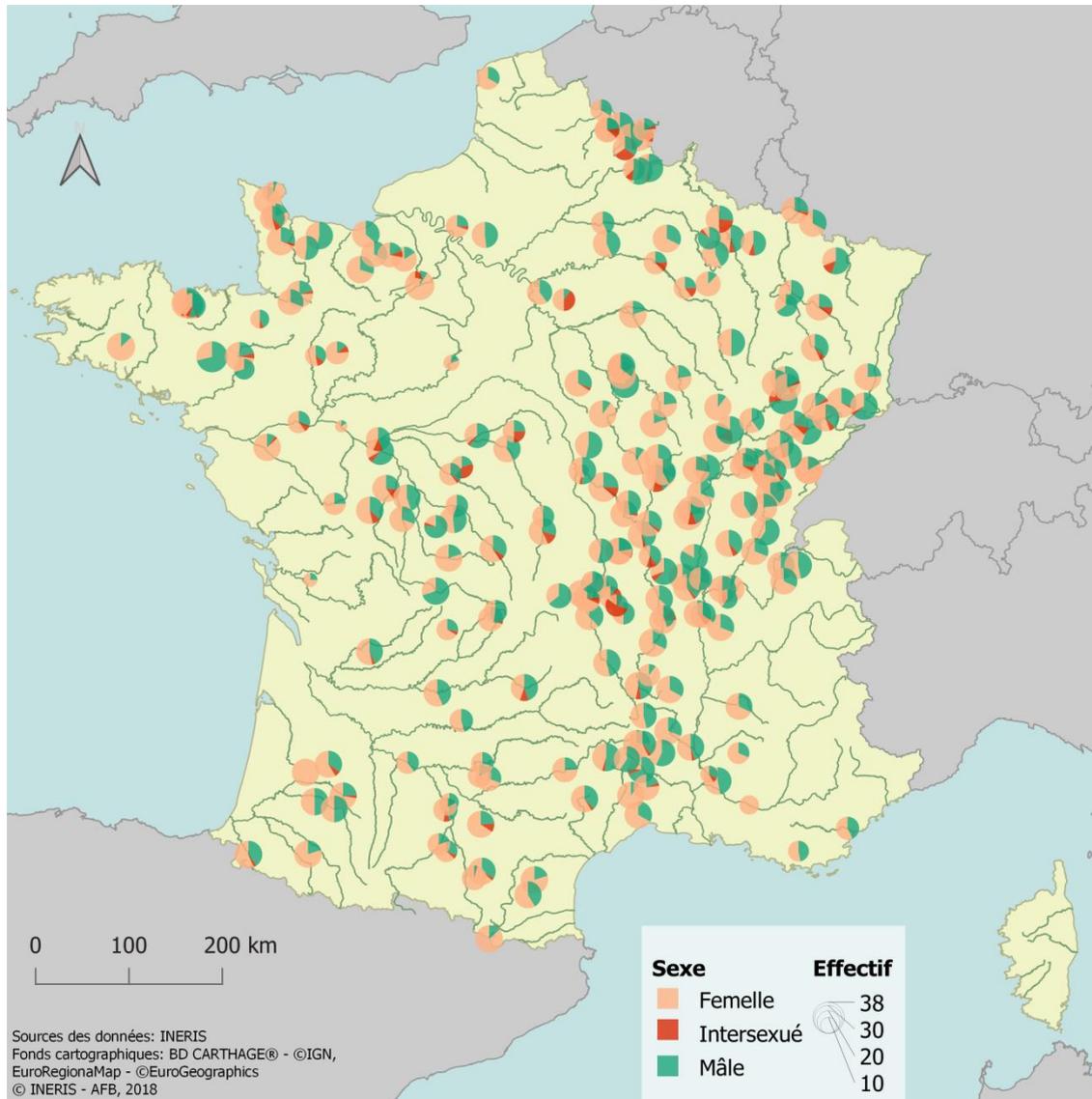
Contaminé = sites où l'exposition à des PE est potentiellement élevée

- > aval de STEU
- > agriculture et élevage
- > proximité site BASOL (PCB)

	2011	2012	2013	2014	2015	2016	Total
Chevaine (<i>Leuciscus cephalus</i>)	21		83	144	333		581
Gardon (<i>Rutilus rutilus</i>)	49	39	140	83	274		585
Goujon (<i>Gobio gobio</i>)	111	541	652	760	1009		3073
Vairon (<i>Phoxinus phoxinus</i>)	139	300	650	537	1199	24	2849
Total	320	880	1525	1524	2815	24	7088

Source: Porcher J-M, *et al.* (2019). Étude nationale de l'intersexualité des cyprinidés dans les cours d'eau de métropole. Rapport Ineris DRC-18-158728-09402B

Sexe-ratio des populations

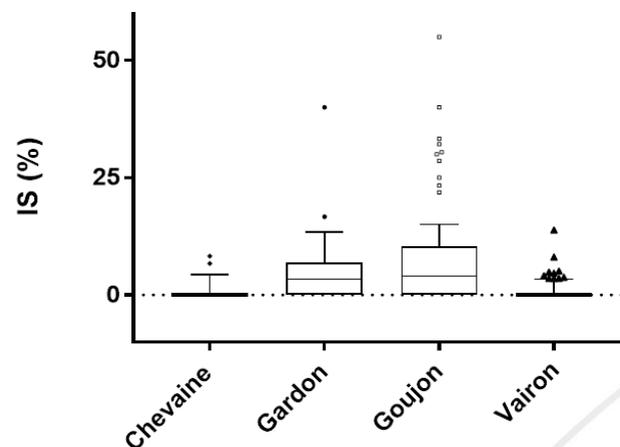


- > tendance vers une féminisation des populations
- > interrogations sur le sexe-ratio naturel des populations de cyprinidés

Prévalence de l'intersexualité

Fréquence plus élevée d'intersexualité chez les goujons et les gardons

- > sensibilité de l'espèce
- > mode de vie conduisant à des expositions plus élevées?



$$IS (\%) = \frac{\text{Nombre de poissons intersexués}}{\text{Nombre de poissons capturés}} \times 100$$

Sites de référence

Espèce	N	Sexe-ratio	Intersexe (%)		
			moyenne	Minimum	Maximum
CHE	1	0.46	0.00	0	0
GAR	3	0.51	14.44	0	40
GOU	8	0.48	9.02	0	25
VAI	34	0.76	0.75	0	4.76

- > Pour les 4 espèces étudiées, le pourcentage d'intersexualité ne semble pas en rapport avec le statut du site

Autres sites

Espèce	N	Sexe-ratio	Intersexe (%)		
			moyenne	Minimum	Maximum
CHE	25	0.64	0.74	0	8.3
GAR	21	1.02	4.04	0	16.7
GOU	109	0.92	7.20	0	55
VAI	68	0.63	0.66	0	13.8

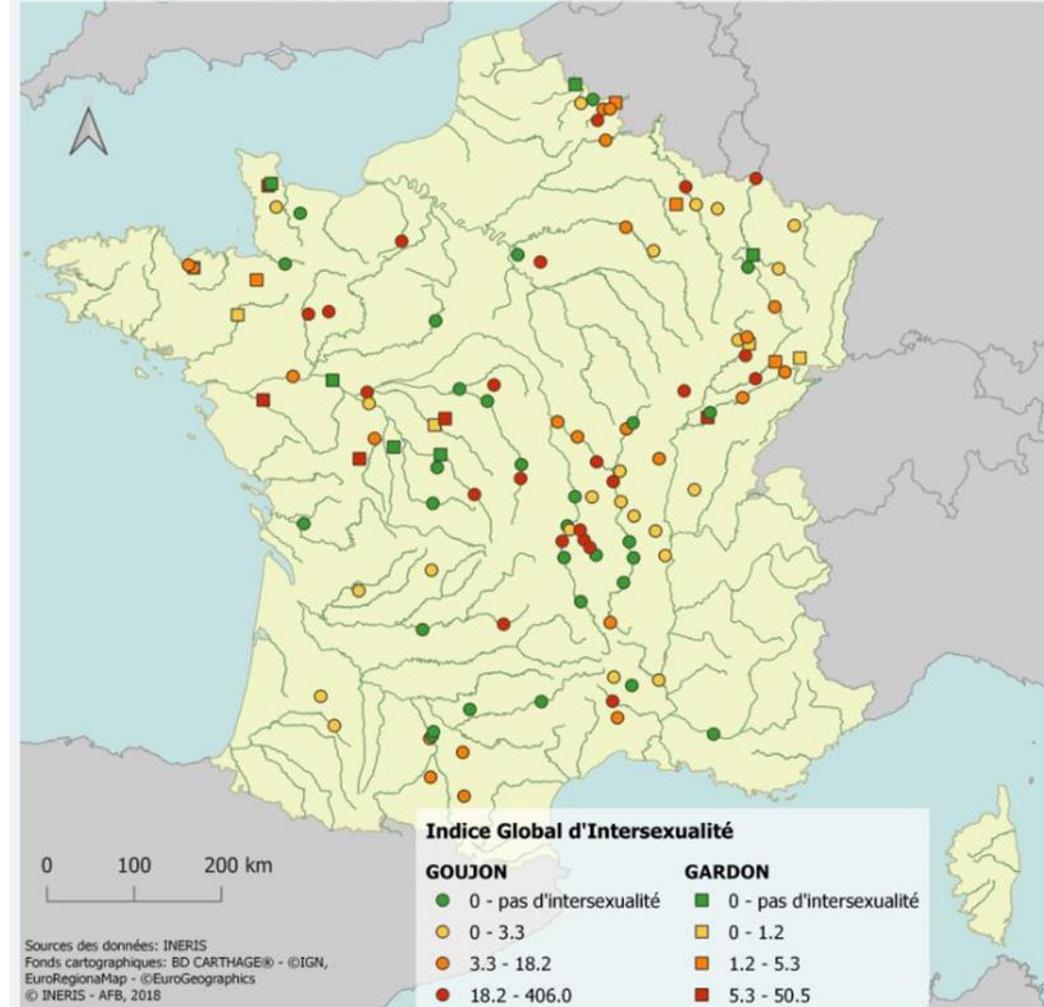
- > Certains sites sont exempts d'intersexualité et ce pour chacune des espèces

Cartographie

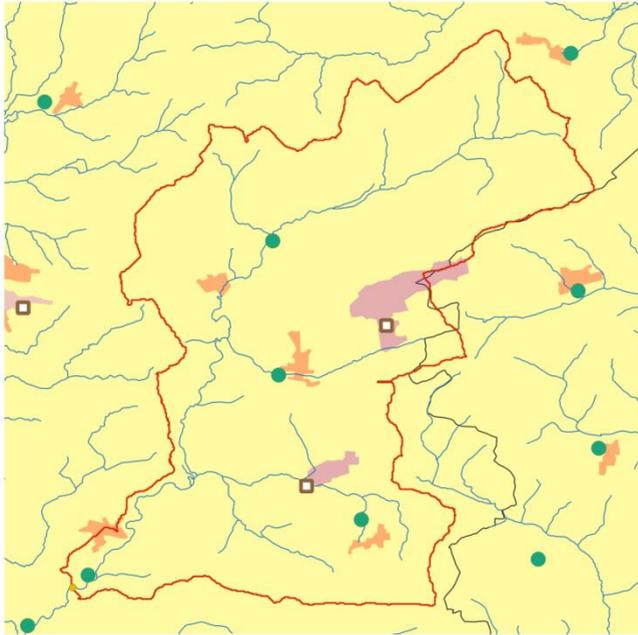
CHEVAINE - VAIRON
Indice Global d'Intersexualité



GOUJON et GARDON
Indice Global d'Intersexualité

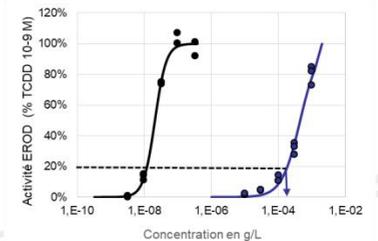
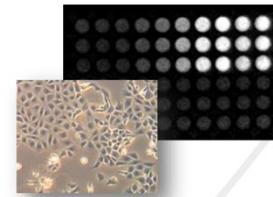


Perspectives



- Tester les relations (statistiques) entre pressions et réponses du biomarqueur (*land-use regression models*, LRM)
 - > densité de population sur le BV
 - > distance à des rejets de STEU
 - > rejets industriels
 - > % terres agricoles, % surfaces artificialisées
 - > présence d'élevage sur le BV
- Lien avec l'évolution dans le temps des populations de goujon (abondance, densité, structure en taille)

- Investigations complémentaires sur les sites présentant un IGI élevé à l'aide d'approches bio-analytiques combinant bioessais *in vitro* et analyses chimiques dirigées par les effets
- Identifier les principales sources d'émission responsables de l'intersexualité



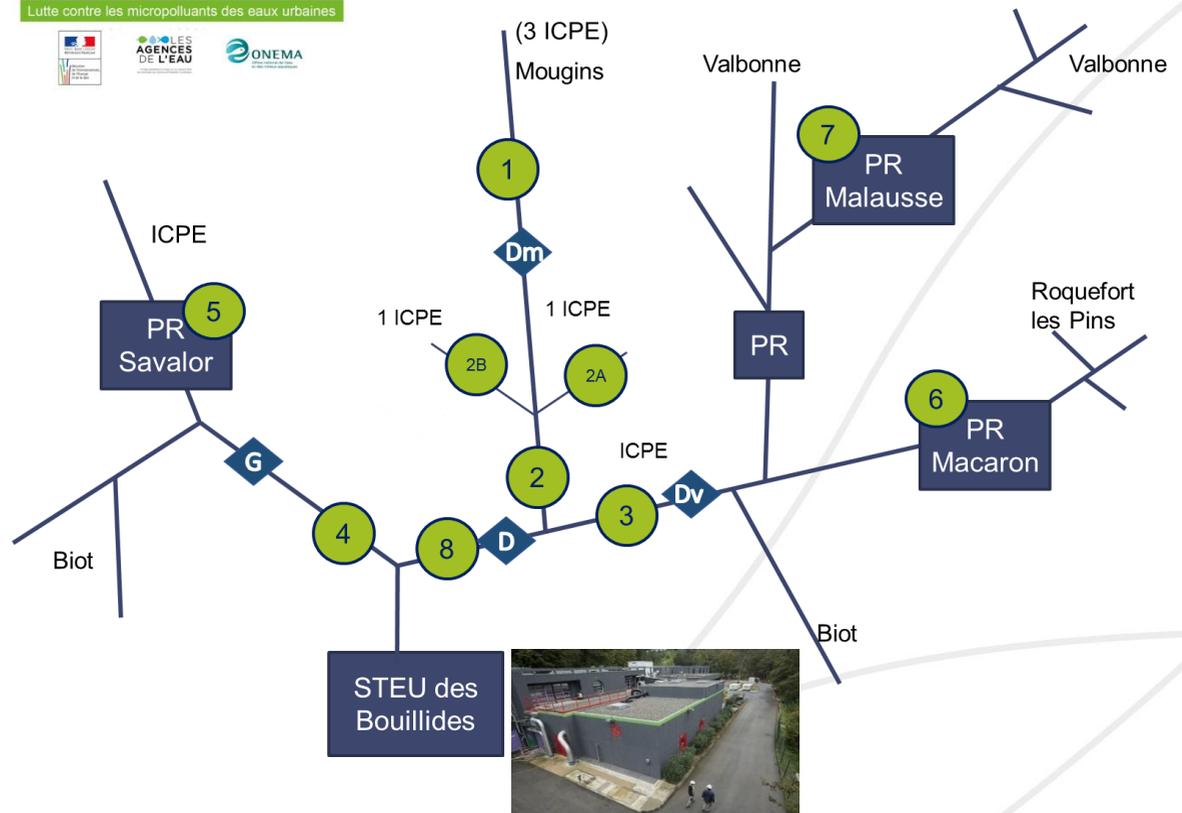
$$TEQ = \frac{EC20 \text{ du composé de référence}}{EC20 \text{ de l'extrait environnemental}}$$

Identification des sources de PE à l'échelle d'un territoire à l'aide de la bio-analyse

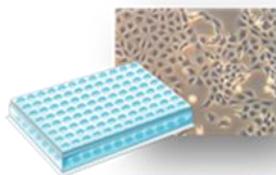
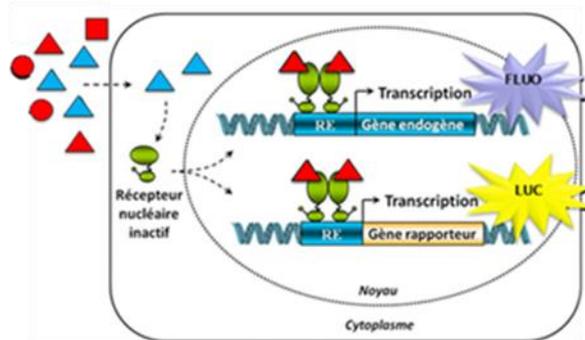
Projet MICROPOLIS indicateurs

Application des bioessais à la caractérisation des eaux usées de Sophia Antipolis

- cartographie de la toxicité des eaux usées
- identifier dans le réseau des **points sources de contamination** (« hotspots »)
- guider l'identification de micropolluants problématiques dans le réseau



Utilisation d'une batterie de bioessais



Activités
« Perturbateurs endocriniens »

*ER, AR, GR, PR, MR,
AhR, PXR*

Génotoxicité

SOS Chromotest

Cytotoxicité

Mortalité de cellules en culture

Toxicité aiguë

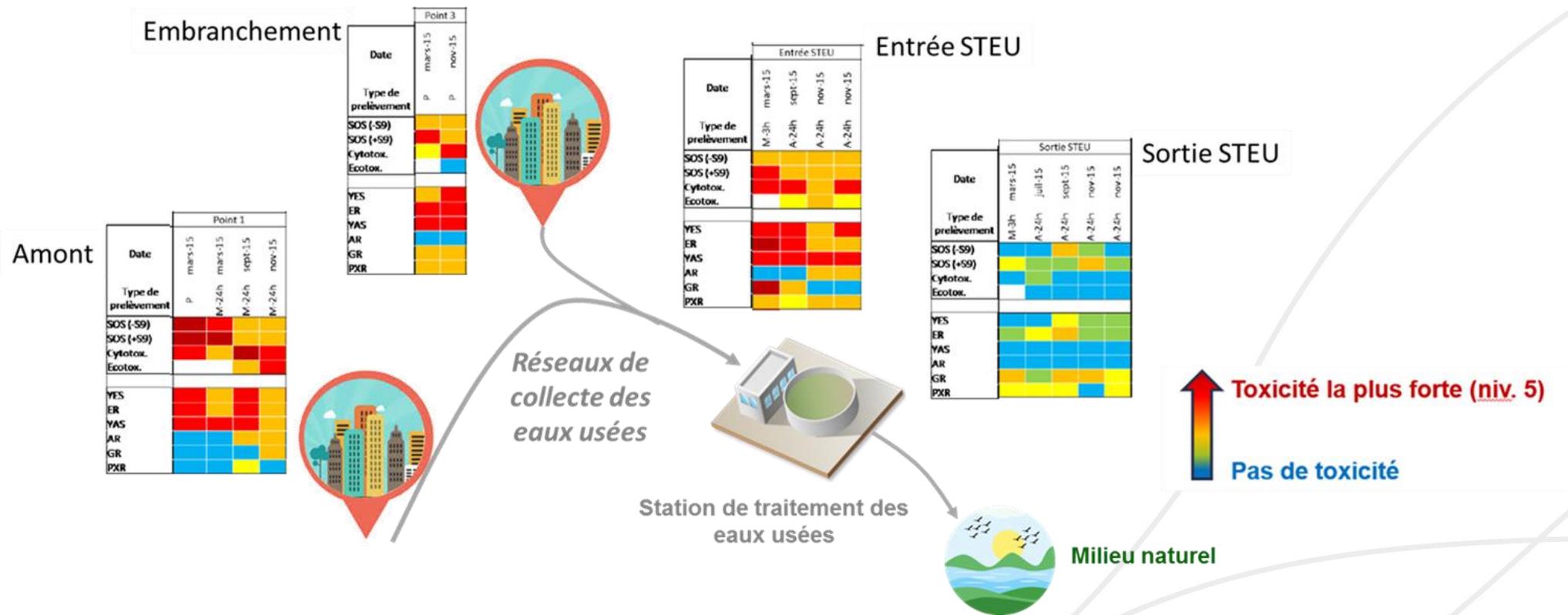
Immobilisation des daphnies



INERIS



Recherche de l'identité des contaminants actifs



Principes de la démarche EDA: analyses chimiques orientées par les effets

Simplification



100% ACN

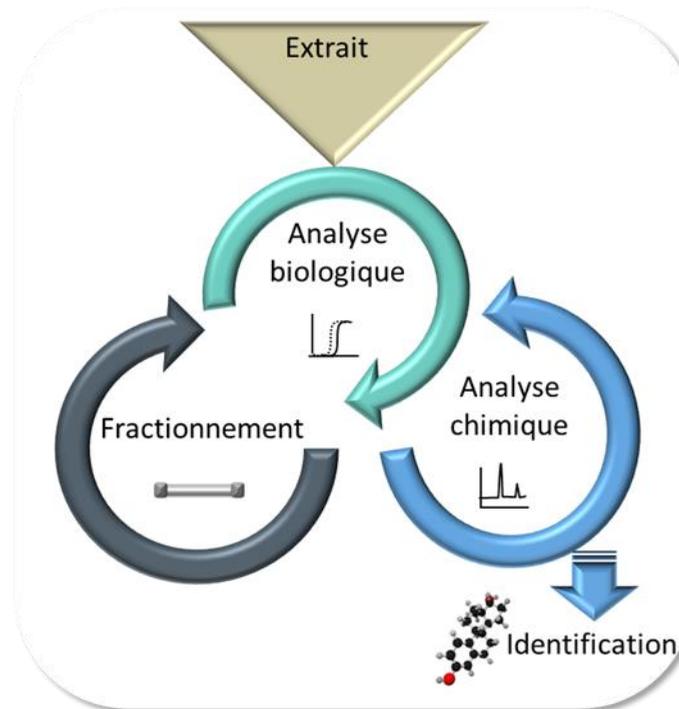
20% ACN

polarité

RP-HPLC (C18)

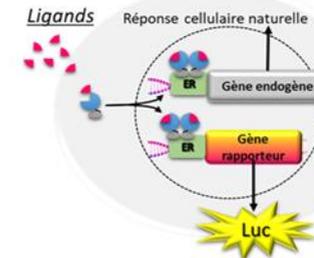
96	95	94	93	92	91	90	89	88	87	86	85
73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
72	71	70	69	68	67	66	65	64	63	62	61
49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
48	47	46	45	44	43	42	41	40	39	38	37
25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
24	23	22	21	20	19	18	17	16	15	14	13
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

96 fractions collectées



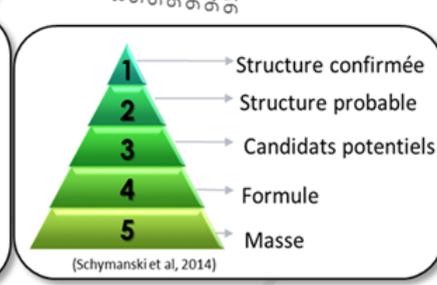
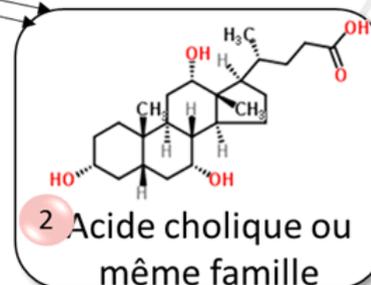
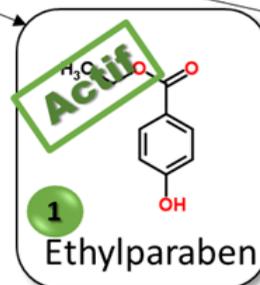
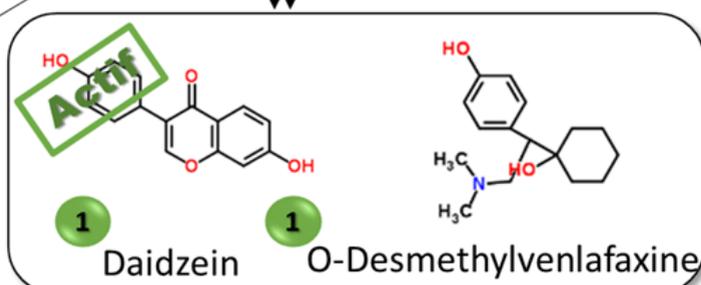
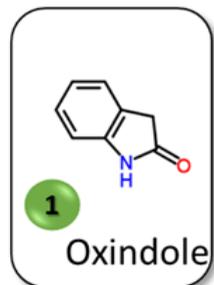
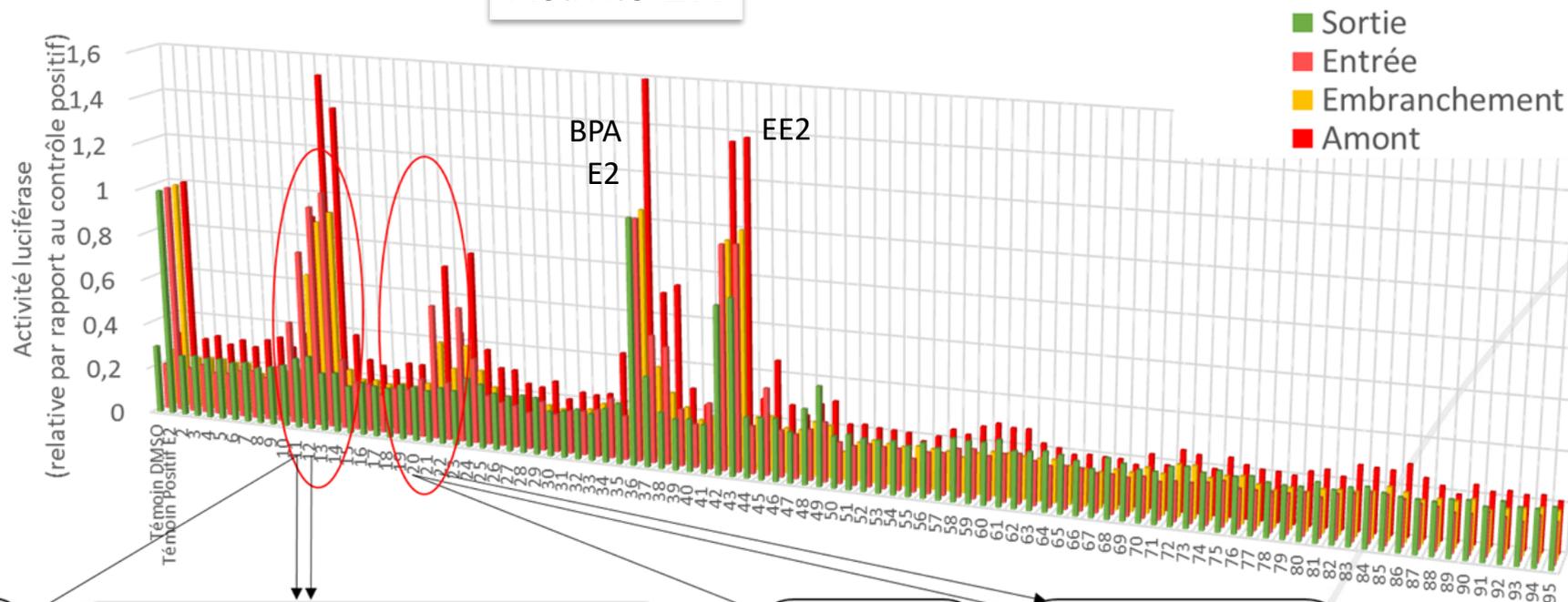
Dirigé

- ✓ Criblage haut débit sur les tests *in vitro* ER, AR/GR



Recherche de l'identité des contaminants actifs

Activité ER



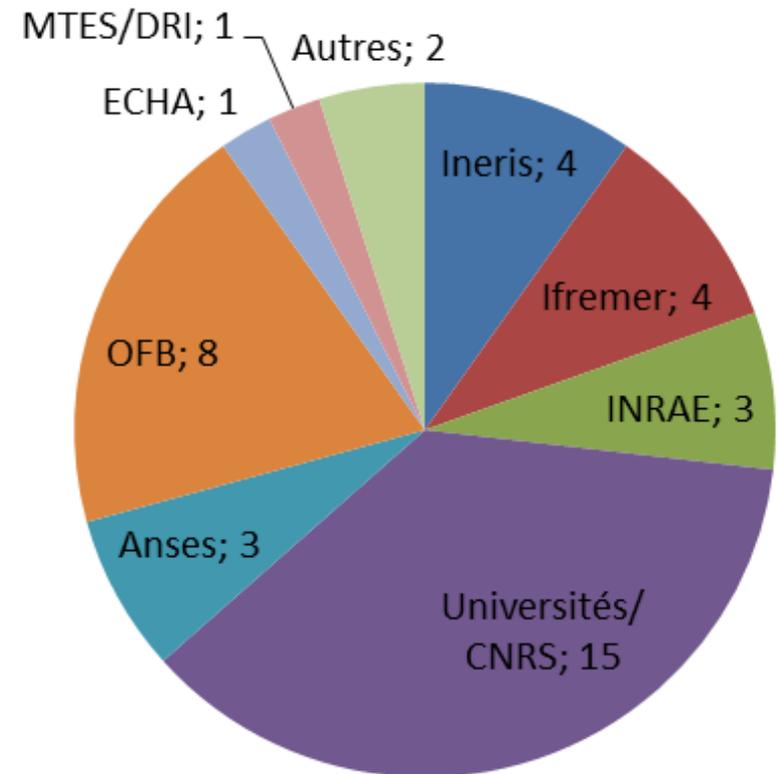
Source: Gardia-Parège *et al.* (2018). Recherche de l'identité des contaminants actifs dans les échantillons par l'analyse dirigée par l'effet. Projet MICROPOLIS, appel à projets « Micropolluants dans les eaux urbaines »

Sommaire

- Généralités sur les perturbateurs endocriniens (PE), réglementation UE
- Action des pouvoirs publics : la nouvelle stratégie nationale sur les PE (SNPE2)
- Activités de l'OFB en lien avec la problématique des PE
 - > caractérisation du niveau de présence des substances PE dans les milieux aquatiques et de leurs effets sur les espèces sauvages
 - > développement d'approches bio-analytiques pour identifier les sources de PE à l'échelle d'un territoire
- **Quelles lacunes sur les connaissances environnementales et les effets des PE sur la faune sauvage ?**

Méthodologie

- Entretiens semi-directifs réalisés entre janvier et mars 2021
 - > chercheurs spécialistes de la perturbation endocrinienne chez certaines espèces
 - > écotoxicologues et écologues de l'OFB
 - > experts de l'évaluation réglementaire du risque
- Principaux enjeux abordés (recherche fondamentale, appliquée, enjeux de gestion)
 - > compréhension des mécanismes de perturbation endocrinienne
 - > connaissance des effets sur les espèces sauvages (à différents niveaux d'organisation biologique)
 - > connaissance de l'exposition de la faune à des substances PE (éco-exposome)
 - > bio-surveillance des milieux et des espèces
 - > méthodes d'évaluation des propriétés PE des substances chimiques



Principales lacunes identifiées (1)

Mécanismes de perturbation endocrinienne et effets à différentes échelles d'organisation biologique

1. Peu d'études menées sur des espèces représentatives de la FS en conditions réalistes

- > surreprésentation des modèles mammifères (souris, rat), poissons (*Danio rerio*) et amphibiens (*Xenopus laevis*)
- > même chez les vertébrés pour lesquels les mécanismes endocriniens sont assez bien conservés on observe des différences de sensibilité entre espèces (variabilité dans la séquence de récepteurs hormonaux, capacité à bio-transformer les contaminants, particularités du cycle biologique, etc.)
- > espèces de laboratoire subissent un processus de sélection (faible variabilité génétique) avec des réponses biologiques pouvant différer de celles des espèces sauvages
- > conditions de laboratoire optimales (température, absence de prédation, compétition pour la nourriture) très éloignées des conditions du milieu naturel



2. Peu de connaissances sur les invertébrés et les vertébrés terrestres

- > endocrinologie de base peu connue (hors arthropodes)
- > ensemble moins homogène que celui des vertébrés, forte disparité dans les systèmes hormonaux
- > recherche se limitant à l'identification chez les invertébrés de mécanismes connus chez les vertébrés
- > connaissances très limitées chez les oiseaux et les amphibiens, inexistantes chez les reptiles (voies de contamination moins bien caractérisées pour les espèces terrestres, conditions d'exposition difficiles à reproduire en labo)

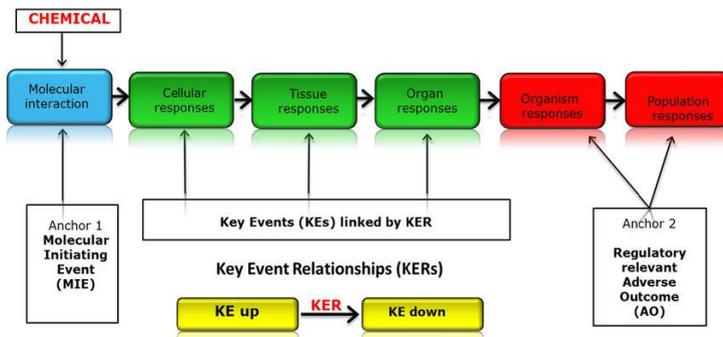


Principales lacunes identifiées (2)

Mécanismes de perturbation endocrinienne et effets à différentes échelles d'organisation biologique

3. Mécanismes bien décrits pour quelques voies hormonales seulement...

- > utilisation de lignées cellulaires humaines et de poisson zèbre
- > voies œstrogénique et androgénique les plus étudiées (notamment chez le poisson) et souvent en lien avec les effets sur la reproduction >> perturbations de la voie thyroïdienne en lien avec les effets sur la métamorphose des amphibiens
- > axes corticotrope (hypophyse → surrénales) et neuroendocrinien peu étudiés
- > au niveau moléculaire, peu de connaissances sur les interactions entre des molécules exogènes et les récepteurs stéroïdiens hors récepteurs ER et AR (par ex. GR, MR, PR), et les récepteurs nucléaires non-stéroïdiens (RXR)
- > peu de connaissances des effets sur le métabolisme, le comportement ou encore l'immunité
- > absence de modèles suffisamment bien décrits d'un point de vue physiologique pour les invertébrés = frein à la connaissance des mécanismes



Principales lacunes identifiées (3)

Mécanismes de perturbation endocrinienne et effets à différentes échelles d'organisation biologique

4. Peu d'études de terrain ciblant le niveau populationnel particulièrement pour la faune terrestre

- > mise en œuvre difficile (variabilité inhérente au milieu naturel et aux populations sauvages, nombreux facteurs de confusion, complexité de l'éco-exposome), requière des populations bien caractérisées suivies dans le temps, souvent des approches corrélatives
- > intérêt d'étudier les effets des PE en conditions naturelles → certains mécanismes hormonaux permettent aux organismes de s'adapter aux contraintes environnementales (axe thyroïdien activé en réponse au froid, axe surrénalien en réponse à une pénurie des ressources alimentaires)
- > pour la faune vertébrée terrestre on s'intéresse encore principalement à la recherche de la cause d'effets létaux (toxicité aiguë)
- > pour la faune terrestre (mammifères et oiseaux) difficulté d'accès aux organismes pour la réalisation de prélèvements invasifs, mesures sur des animaux retrouvés morts potentiellement biaisées
- > très peu d'études sur les processus micro-évolutifs susceptibles de sélectionner des phénotypes ou profils physiologiques résistants (PE comme force de sélection?)
- > impacts sur la dynamique des populations abordés via des modèles populationnels (matriciels ou individus-centrés) nécessitant un effort de paramétrisation important (manque de données réalistes) → pouvoir prédictif limité

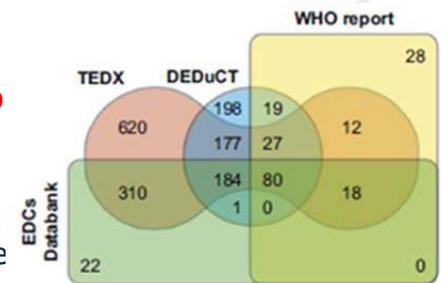


Principales lacunes identifiées (4)

Contamination des milieux et de la faune par des PE, enjeux en matière de surveillance

5. Pas de connaissance exhaustive des substances capables d'interférer avec le système endocrinien de la FS, connaissance limitée de l'imprégnation du milieu et des espèces terrestres

- > peu de connaissances sur les substances chimiques susceptibles d'interférer avec le système hormonal des invertébrés
- > contamination chimique des écosystèmes terrestres moins bien caractérisée, données encore trop parcellaires (action 18 de la SNPE2 et valorisation des données RMQS pour certains POP aux propriétés PE)
- > exposition difficile à caractériser pour les espèces terrestres dans la mesure où elles exploitent une plus grande diversité de milieux et que leur espace vital est dans certain cas très étendu (grands carnivores, oiseaux migrants)
- > mise au point de méthodes d'analyse nécessaires pour des matrices complexes, besoin de miniaturisation des méthodes pour les micromammifères
- > besoin de mettre en place une surveillance de l'imprégnation de la faune terrestre, basée sur des espèces sentinelles représentatives de groupes taxonomiques, d'écosystèmes ou de régimes alimentaires particuliers



6. Besoins de développements en matière de bio-surveillance

- > peu de biomarqueurs pertinents de la perturbation endocrinienne pour les espèces d'invertébrés (hors Imposex et retard du cycle de mue) → intérêt des approches OMICs pour l'identification de biomarqueurs

Principales lacunes identifiées (5)

6. Besoins de développements en matière de bio-surveillance

- > développement, application de modèles cellulaires d'espèces sauvages pour la détection d'activités hormonales dans les échantillons environnementaux

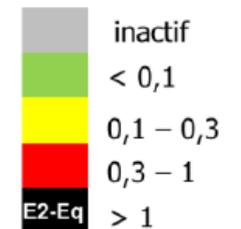
lignée cellulaire de poisson zèbre (hépatocyte)



lignée cellulaire humaine (cancer du sein)



Activité (ng/L E2-Eq) :



Source: Thèse d'Hélène Serra (2017). Evaluation *in vitro* et *in vivo* des perturbateurs endocriniens chez le poisson zèbre: cas de substances seules et en mélanges. Université de Bordeaux

Principales lacunes identifiées (6)

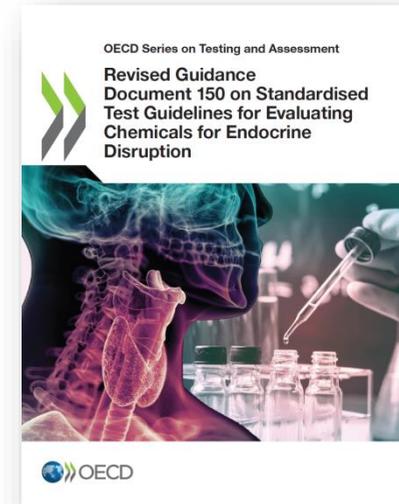
Méthodes réglementaires d'évaluation des propriétés PE

7. Mieux tenir compte des espèces sauvages dans la caractérisation des dangers

- > essais biologiques sur mammifères (dangers envers l'Homme) vs tests sur modèles non-mammaliens (dangers envers la faune sauvage)
- > pour les tests non-mammaliens, des méthodes d'essai existent essentiellement pour les poissons et les amphibiens, très peu de tests « mécanistiques » pour les oiseaux et aucun test pour les reptiles
- > pour les invertébrés, les essais disponibles permettent d'évaluer un effet néfaste à l'échelle de l'organisme mais pas d'identifier le mécanisme d'action à l'origine de l'effet observé (cf. manque de connaissances fondamentales de l'endocrinologie des invertébrés) → tests surtout utilisés pour le screening et l'identification d'effets PE potentiels
- > seules les voies EATS sont couvertes par ces lignes directrices (quid des voies de signalisation rétinoides, des corticostéroïdes, des ecdystéroïdes, des juvénoïdes)
- > tests évaluant surtout des effets sur la reproduction (moins les effets sur le comportement, le métabolisme ou l'immunocompétence)

8. Autres lacunes identifiées

- > PE et transmission transgénérationnelle d'anomalies épigénétiques
- > prise en compte des périodes de vulnérabilité (puberté, métamorphose, phases de mue régulées par des pics hormonaux → phases de grande vulnérabilité vis-à-vis des PE)
- > effets de mélange, facteurs de stress multiples...



Merci de votre attention

