



HAL
open science

Impacts environnementaux des agents de contraste au gadolinium

M. Parant

► **To cite this version:**

M. Parant. Impacts environnementaux des agents de contraste au gadolinium. [Rapport de recherche] ECODYN 869543, LIEC Université de Lorraine. 2016. hal-03164874

HAL Id: hal-03164874

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03164874>

Submitted on 10 Mar 2021

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

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

Rapport d'activité

Programme EC₂CO financé du 1/01/2014 au 31/12/2015

Impacts environnementaux des agents de contraste au gadolinium

Porteur du Projet :

PARANT Marc, Maître de conférences

Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux

LIEC - UMR 7360

Site BRIDOUX - METZ UFR SciFA - Rue du Général Delestraint 57070 METZ - FRANCE

Tel +33.(0)3 72 74 89 32 Fax +33.(0)3 72 74 89 74 courriel : marc.parant@univ-lorraine.fr

Laboratoires et personnes impliquées :

Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux

LIEC - UMR 7360

Site BRIDOUX - METZ

UFR SciFA - Rue du Général Delestraint

57070 METZ - FRANCE

COSSU -LEGUILLE Carole, Pr- implication dans le projet : 0,15 ETP

PARANT Marc, Maître de conférences – implication dans le projet : 0,4 ETP

PERRAT Emilie, Etudiante en thèse– implication dans le projet : 0.8 ETP

SOHM-REDERSTORFF Bénédicte, Ingénieur Recherche - implication dans le projet : 0,15 ETP

WAGNER Philippe, Technicien - implication dans le projet : 0,05 ETP

POULET Elisa Stagiaire Master 1- 3E Spécialité E2EA – Stage d'une durée de 2 mois

BENZAKOUR Samuel Master 1- 3E Spécialité E2EA – Stage d'une durée de 2 mois

Institut de Chimie Moléculaire de Reims

ICMR – UMR 7312 – Groupe Chimie de Coordination

Université de Reims Champagne Ardenne

UFR Sciences Exactes et Naturelles – Moulin de la Housse – BP1039

51687 REIMS cedex 2 - FRANCE

DECHAMPS-OLIVIER Isabelle, Maître de Conférences HDR – implication dans le projet 0.30 ETP

CADIOU Cyril, Maître de Conférences – implication dans le projet : 0.15 ETP

CHUBURU Françoise, Professeur – implication dans le projet 0.2 ETP

SOMMAIRE

CONTEXTE DE L'ETUDE	3
PRESENTATION DES RESULTATS	
<u>Action 1</u>	
Présence du gadolinium dans le milieu aquatique Lorrain	7
<u>Action 2</u>	
Etude de la bioaccumulation des agents de contraste	13
<u>Action 3</u>	
Comportement des agents de contraste en condition de pollutions environnementales	20
<u>Action 4</u>	
Impacts cellulaires	24
<u>Action 5</u>	
Impacts sur les organismes vivants	29
CONCLUSION GENERALE	35
BIBLIOGRAPHIE	37
VALORISATION SCIENTIFIQUE	39

CONTEXTE DE L'ETUDE :

Le développement des techniques d'IRM intègre depuis environ 25 ans l'utilisation d'agents de contraste contenant du gadolinium. Le gadolinium est un élément chimique qui appartient à la famille des terres rares. Il est intéressant par ses propriétés paramagnétiques mais extrêmement toxique pour les organismes vivants, en particulier l'homme, lorsqu'il se trouve à l'état libre. Lorsqu'il est introduit dans une molécule qui joue un rôle de chélateur (le cas de la partie organique des agents de contraste), le gadolinium conserve ses propriétés paramagnétiques mais sa toxicité est masquée, ce qui permet d'injecter le composé à un patient. L'injection se fait juste avant l'examen médical (de l'ordre du gramme injecté par voie sanguine pour un examen), et ces composés sont ensuite évacués par voie rénale puis urinaire dans un délai court (quelques heures). Chez les personnes ne présentant pas de déficience rénale, cette évacuation rapide garantit une innocuité du gadolinium qui reste chélaté dans la partie organique de l'agent de contraste (Thomsen, 2011 ; Bellin 2008). Cette pratique médicale répandue au niveau mondial représente un rejet estimé entre 20 et 50 tonnes de gadolinium par an dans l'environnement (Kulaksiz, 2011). Par conséquent, on observe aujourd'hui dans de nombreux milieux aquatiques des concentrations anormalement élevées en gadolinium (phénomène appelé « anomalie gadolinium »). Ainsi, cet élément se trouve de façon accrue, présent sous forme soluble dans les eaux de rivières, les nappes phréatiques et parfois même dans l'eau du robinet (Figure 1 ; Verplanck, 2010 ; Rabiet, 2009 ; Lawrence, 2009 ; Kulaksiz, 2007 ; Elbaz-Poulichet, 2002 ; Bau, 2006). Les concentrations environnementales en gadolinium sont généralement mesurées dans ces différents compartiments par ICP-MS (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry). Il est important de souligner que cette technique ne permet qu'une mesure du gadolinium total présent dans les eaux, sans approche de sa spéciation. Il est habituellement admis que le gadolinium anthropique doit principalement se trouver dans l'environnement sous la forme chimique sous laquelle il a été rejeté (c'est-à-dire complexé par son ligand), bien que ces molécules ne soient pas directement dosées. De récents travaux effectués en Allemagne ont montré qu'environ 80% du gadolinium retrouvé en rivière dans le secteur de Berlin se trouve effectivement sous la forme de l'agent de contraste natif, les autres formes étant non identifiées (Telgman, 2012, Birka 2013, Lindner 2013). Ceci est particulièrement vrai pour les agents de contraste cycliques de type Dotarem® et Gadovist. Les concentrations

environnementales de gadolinium anthropique mesurées sont de l'ordre de quelques dizaines de ng/L dans l'eau du robinet (Kulaksiz, 2011) et donc très inférieures à celles injectées lors des examens IRM (de l'ordre de quelques dixièmes de grammes par litre de sang). Il est couramment admis que le risque pour la santé humaine à ce niveau de concentration est négligeable (Galera, 2010 ; Abraham, 2008). Il est important de noter que ce postulat est basé sur la toxicité de l'ion gadolinium (pour lequel aucune toxicité cellulaire n'a été montrée aux doses environnementales mesurées) et non sur la base d'une réflexion menée directement sur les complexes moléculaires dans lesquels se trouve le gadolinium suite à son rejet dans l'environnement, ce qui peut fortement changer la biodisponibilité de cet élément (Bleavins et al. 2012). Par contre, concernant le risque pour l'environnement dans les conditions découlant de l'accumulation environnementale de ces composés (faibles concentrations et exposition chronique des organismes), celui-ci n'a à notre connaissance jamais été abordé.

Le sujet intitulé « Impacts environnementaux des agents de contraste au gadolinium, approches locale, cellulaire et *in vivo* » a été initié afin d'apporter des éléments scientifiques utiles et nécessaires pour une utilisation durable et respectueuse de l'environnement des agents de contraste.

Préalablement à la mise en route de ce sujet, des premiers travaux avaient été entrepris afin d'apporter des éléments de réponse concernant la toxicité cellulaire des agents de contraste chez l'homme, ceci dans les conditions de leur présence environnementale. Ces travaux avaient consisté à étudier les impacts de l'agent de contraste le plus rejeté et retrouvé dans l'environnement (Dotarem®) sur des cellules humaines en culture. Les conditions d'exposition des cellules avaient été choisies suivant une synthèse de données bibliographiques faisant état de la présence de ces composés dans l'environnement (Kulakziz 2011, Telgmann 2013). L'ensemble des résultats obtenus permettent à ce jour de dire que, dans le cas de la lignée cellulaire utilisée (cellules embryonnaires rénales - HEK293), ces composés ne semblent pas, à des concentrations de l'ordre du micro-molaire ou inférieures, initier de dérèglements majeurs de la croissance cellulaire, pouvant aboutir soit à une prolifération cellulaire exacerbée soit à des phénomènes de type apoptose. Notre approche préliminaire a cependant montré que suite à une exposition au Dotarem® à faible dose (1µM) dans le milieu de culture pendant 48h, le gadolinium véhiculé est soit très fortement adsorbé sur la membrane cellulaire soit internalisé, ce qui suggère une possibilité de

bioaccumulation. Si les résultats obtenus lors de cette première approche sont plutôt rassurants pour la santé humaine, ils montrent qu'il est indispensable (1) de mieux connaître la situation de terrain actuelle concernant la présence des agents de contraste au gadolinium, (2) de s'intéresser avec attention aux possibilités de bioaccumulation sur les organismes vivants dans les environnements aquatiques et (3) de poursuivre les approches cellulaires afin de mieux comprendre l'action potentielle de ces composés. De plus, comme il n'est pas exclu que les composés rejetés puissent réagir avec d'autres composés chimiques présents dans l'environnement et ainsi générer de nouvelles formes chimiques contenant du gadolinium, il est important d'aborder également cette question par exemple dans le cas de fortes concentrations en métaux.

Ce projet a été mené afin d'étudier les impacts environnementaux des agents de contraste gadolinés en couplant des approches terrain à des approches de laboratoire, qui ont nécessité de part et d'autre des compétences dans le domaine de l'écotoxicologie et de la chimie.

L'objectif final de ce projet est d'utiliser les résultats que nous obtenons pour proposer des solutions de gestion de ces rejets afin de permettre la continuité de leur utilisation de manière durable et respectueuse de l'environnement.

Afin de pouvoir évaluer une situation concrète concernant l'accumulation dans l'environnement et les impacts qui peuvent en découler, nos travaux ont été orientés en fonction des questions suivantes :

- Quelle est la situation réelle concernant la présence des agents de contraste gadolinés dans les compartiments aquatiques sur le secteur lorrain ?
- Qu'en est-il de la bioaccumulation des agents de contraste gadolinés dans des organismes présents dans les environnements aquatiques?
- Quelle est la réactivité possible des agents de contraste gadolinés rejetés en présence d'autres polluants de l'environnement ?
- Les agents de contraste gadolinés ont-ils une action perturbante sur des organismes vivants exposés via le milieu aqueux dans lequel ils vivent ?
- Quels sont plus précisément les effets possibles des agents de contraste gadolinés majoritairement rejetés sur d'autres systèmes cellulaires que des cellules humaines ?

PRESENTATION DES RESULTATS

Action 1 : Présence du gadolinium dans le milieu aquatique Lorrain

Afin de déterminer le niveau de présence des AC-Gd dans le milieu aquatique Lorrain, une première réflexion a été menée afin d'évaluer les zones géographiques les plus concernées (localisation des lieux d'exams IRM, nombre de personnes concernées). Tenant compte de ces critères, nous avons sélectionné 15 sites correspondant aux stations d'épuration (STEP) ayant les plus fortes capacités de traitement des eaux usées en équivalent habitant (EH) en Lorraine. Ces sites sont répertoriés dans le tableau 1 et localisés sur la figure 2.

STEP	Ville	Cours d'eau	Capacité d'accueil de la STEP en EH	Types de traitements (données 2012) *
S1	Bar-le-Duc (55)	L'Ornain	35 000	DERU, BAA, Comp (100%)
S2	Verdun (55)	La Meuse	52 500	T2, Pr, Bf, Ep(100%)
S3	Longwy (54)	La Chiers	64 000	DERU, BAA, Ep(100%)
S4	Thionville (57)	La Moselle	28 800	DERU, BAA, Comp (100%)
S5	Briey (54)	Le Woigot	16 000	DERU, Bam, SA, Ep(100%)
S6	Metz (57)	La Moselle	440 000	DERU, Pr, Dec, Baf, St, Esg, Ep(100%)
S7	Saint-Avold (57)	La Rosselle	24 300	DERU, Pr, BAA, St, Esg, Comp(100%)
S8	Freming-Merlebach (57)	La Rosselle	49 300	DERU, BAA, Esg, Comp(100%)
S9	Sarreguemines (57)	La Sarre	68 300	DERU, Esg, Bio, Ep(100%)
S10	Sarrebourog (57)	La Sarre	37 000	DERU, BAA, Bam, St, Esg, SeT, Ep(100%)
S11	Nancy (54)	La Meurthe	500 000	DERU, Pr, Dec, Bam, Baf, St, DC, Esg, SeT, SA, Comp(39,7%), Ep (60,3%)
S12	Neufchâteau (88)	La Meuse	18 000	DERU, Bam, Ep(100%)
S13	Epinal (88)	La Moselle	80 000	DERU, Pr, BAA, DC, Esg, Val(58,9%), Comp(41,1%)
S14	Remiremont (88)	La Moselle	26 200	DERU, BAA, Esg, Val(54,5%), Comp(45,5%)
S15	Saint-Dié-des-Vosges (88)	La Meurthe	40 000	DERU, BAA, St, Esg, Val(46,4%), Comp(53,6%)

* DERU : Traitement secondaire + Dénitrification + Déphosphatation, BAA : Eau- Boue activée aération prolongée (très faible charge), Baf : Eau - Boue activée faible charge, Bam : Eau - Boue activée moyenne charge, Pr : Eau – Prétraitements, Dec : Eau - Décantation physique, Bio : Eau – Biofiltre, St : Eau - Stockage avant traitement, DC : Eau - Désodorisation chimique, SA : Boue - Stabilisation aérobie, Esg : Boue - Epaississement statique gravitaire, SeT : Boue - Séchage thermique, Comp : Compostage des boues, Ep : Epanchage des boues, Val : Valorisation industrielle des boues.

Tableau 1 : Liste des stations d'épuration choisies pour les mesurer les concentrations en Gd et évaluer la part en Gd d'origine anthropique à partir des données de www.assainissement.developpement-durable.gouv.fr

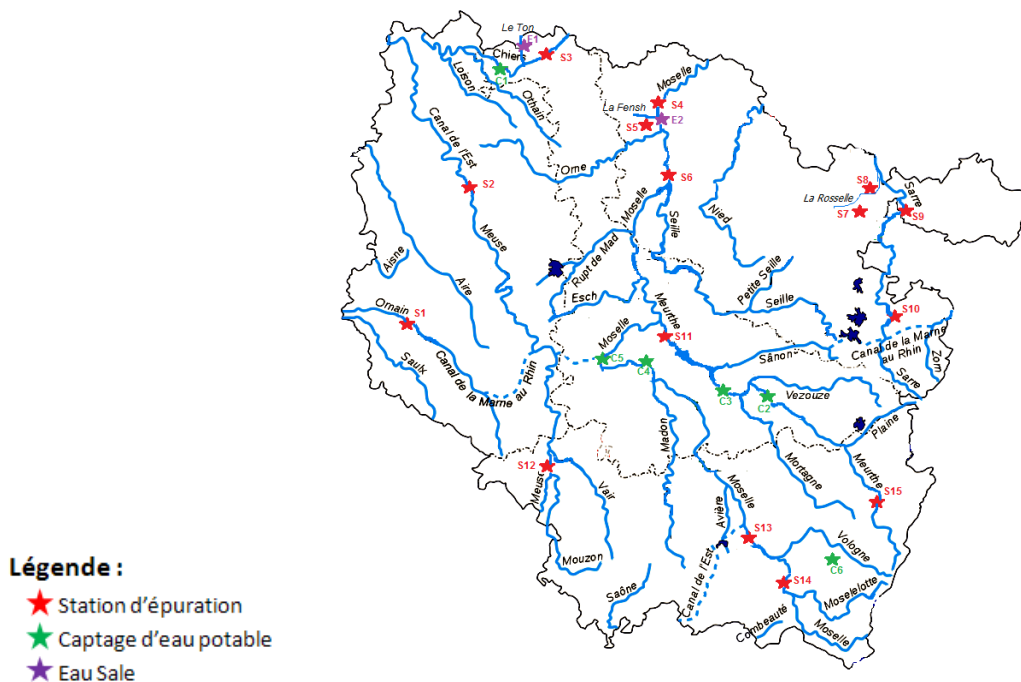


Figure 2 : Carte des points de prélèvement en Lorraine

Il a ensuite été rajouté 5 sites (Figure 2 et Tableau 2) qui sont des zones de captage en eau potable en eau de surface. Le captage est effectué directement dans les cours d'eau subissant un impact d'origine anthropique dû aux stations d'épuration précédemment définies.

Zone de Captage	Ville	Cours d'eau	STEP en Amont (cf Tableau 2)
C1	Montmédy (55)	La Chiers	S3
C2	Lunéville (54)	La Meurthe	S15
C3	Blainville-sur-l'eau (54)	La Meurthe	S15
C4	Méreville/Richardménil (54)	La Moselle	S13, S14
C5	Toul (54)	La Moselle	S13, S14

Tableau 2 : Liste des zones de captage en eau potable prise en eau de surface en aval de Stations d'épuration précédemment listées.

Suite aux résultats préalablement obtenus par l'ANSES (Py et al., 2011), nous avons également choisi de nous intéresser au site de Liézey (C6) dans les Vosges (88) qui est une zone de captage en eau potable en eau profonde et qui nous sert de site de référence. Ce site ne peut présenter de contamination au Gd d'origine anthropique en raison de la nappe

phréatique d'où provient l'eau qui s'étend majoritairement sous des exploitations sylvicoles sans apport anthropique externe (pas de STEP).

Enfin, nous avons choisi deux autres sites considérés comme de l'eau polluée (Figure 2 et Tableau 3), de par le passage d'un cours d'eau proche d'industries :

Eau polluée	Ville	Cours d'eau	Industries
E1	Écouvriez (54)	Le Ton	Papeteries
E2	Maison Neuve (Florange) (57)	La Fensh	Sidérurgie

Tableau 3 : Sites considérés comme de l'eau polluée en raison des industries en amont.

Après une première approche afin de cerner les niveaux de concentration auxquels nous avons à faire, une campagne de mesure a été pilotée en situation de basses eaux (Juillet 2014) et une autre en situation hautes eaux (Décembre 2014-Janvier 2015)

A chacune de ces campagnes, les prélèvements ont été effectués dans des flacons en polyéthylène haute densité (HDPE). Ces flacons proviennent d'un même lot, ils ont été préalablement testés par ICP-MS et ne présentent pas de traces de gadolinium.

Exceptions faites du site de Liézey (88) où nous avons prélevé directement au niveau de la zone de captage et des deux sites dits « d'eau polluée » où les prélèvements sont réalisés en points fixes, pour chaque autre site, nous avons prélevé de l'eau à 10 cm de la surface en eau courante à une distance d'environ 2 m de la berge à l'aide d'une canne de prélèvement. Ces prélèvements sont effectués ponctuellement à 50 m en amont et en aval de la sortie des STEP et à 50 m en amont des zones de captage en eau potable.

Pour chaque site, plusieurs paramètres physicochimiques ont été mesurés : le pH, la conductivité, la température et l'oxygène dissous, à l'aide d'un pH-mètre (WTW 3110) en plongeant les différentes sondes directement dans l'eau courante sur le site correspondant à l'échantillonnage.

A partir des échantillons d'eau prélevés, nous avons effectué différentes analyses chimiques :

- **La demande biochimique en oxygène (DBO₅)** : étude de la diminution de concentration en oxygène au cours du temps due à la charge organique (NF EN 1899-1, 1998). Elle se mesure par la différence entre les mesures d'oxymétrie au

moment du prélèvement et celles au bout de cinq jours en milieu fermé et sans luminosité.

- **La demande chimique en oxygène (DCO)** : étude de la consommation en oxygène par les oxydants chimiques forts pour oxyder les substances organiques et minérales de l'eau (NF T 90-101, 2001). Elle se mesure par titrage au sel de More avec de la feroïne (virage du bleu au rouge).
- **Le titrage alcalémique complet (TAC)** : détermination de la présence de bicarbonates, carbonates et hydroxydes par neutralisation des échantillons d'eau aux niveaux de pH 8,3 et 4,5 avec du H₂SO₄ (NF EN ISO 9963-1, 1996). C'est un indicateur de la minéralisation des eaux.
- **Les taux de chlore (Cl⁻), de nitrates (NO³⁻), phosphates (PO₄²⁻) et de sulfates (SO₄²⁻)** ont été évalués en mg.L⁻¹ selon la norme AFNOR EN ISO 10304-1 (2009) Méthode +norme
- **Le carbone organique total (TOC), le carbone total (TC) et le carbone inorganique (IC)** qui sont des indicateurs employés pour le suivi de la qualité des eaux ont été mesurés selon la norme AFNOR NF EN 1484 (1997)

Ne disposant pas des moyens analytiques complexes nécessaires à la mesure directe des concentrations d'agents de contraste présents dans nos échantillons, nous avons mesuré la présence du gadolinium par ICP-MS, sachant que la part anthropique qui peut ensuite être évaluée par calcul est reconnue comme ayant pour origine quasi-unique les rejets en agents de contraste gadolinés.

Pour ce faire, les échantillons prélevés ont été acidifiés à 1% avec du HNO₃ 70% (Ultra pure) juste après le prélèvement. Ils ont ensuite été stockés à 4°C sans luminosité jusqu'à analyse.

Les mesures ont été réalisées au laboratoire d'hydrologie de l'ANSES à Nancy sur un ICP-MS Series X II.

Sur cet appareil un étalon interne (le rhodium) est employé pour corriger la dérive instrumentale tout au long de l'analyse. Lors d'une analyse complète en REE d'un échantillon, la limite de détection est de l'ordre du ng.L⁻¹ et sa limite de quantification est de l'ordre de 10 ng.L⁻¹ alors qu'au cours de l'analyse d'un échantillon pour mesurer uniquement le gadolinium les limites de détection et de quantification sont de l'ordre de 1 ng.L⁻¹.

Au début de chaque série d'analyse, une gamme étalon de 10, 20, 50, 100, 1 000, 10 000 et 100 000 ng.L⁻¹ en REE et autres éléments métalliques est réalisée. Enfin, chaque échantillon est mesuré en triplicatas par l'appareil afin de limiter les valeurs aberrantes.

Une fois les mesures en gadolinium réalisées, nous avons utilisé la méthode de calcul principalement utilisée dans la littérature afin de déterminer la part en gadolinium d'origine anthropique présente dans les échantillons. Pour ce faire, nous avons employé une table de normalisation en rapport avec le profil géologique de notre secteur géographique (Taylor et McLennan, 1985). Ceci nous a ensuite permis d'évaluer le degré des anomalies de gadolinium observées.

De manière à mieux cerner le comportement des rejets de STEP en gadolinium, nous avons également suivi la présence de gadolinium sur deux stations d'épuration à l'aide de préleveurs automatiques calibrés à l'échelle journalière ou hebdomadaire.

La présence du gadolinium sur les sites suivis est affichée sur le graphique 3

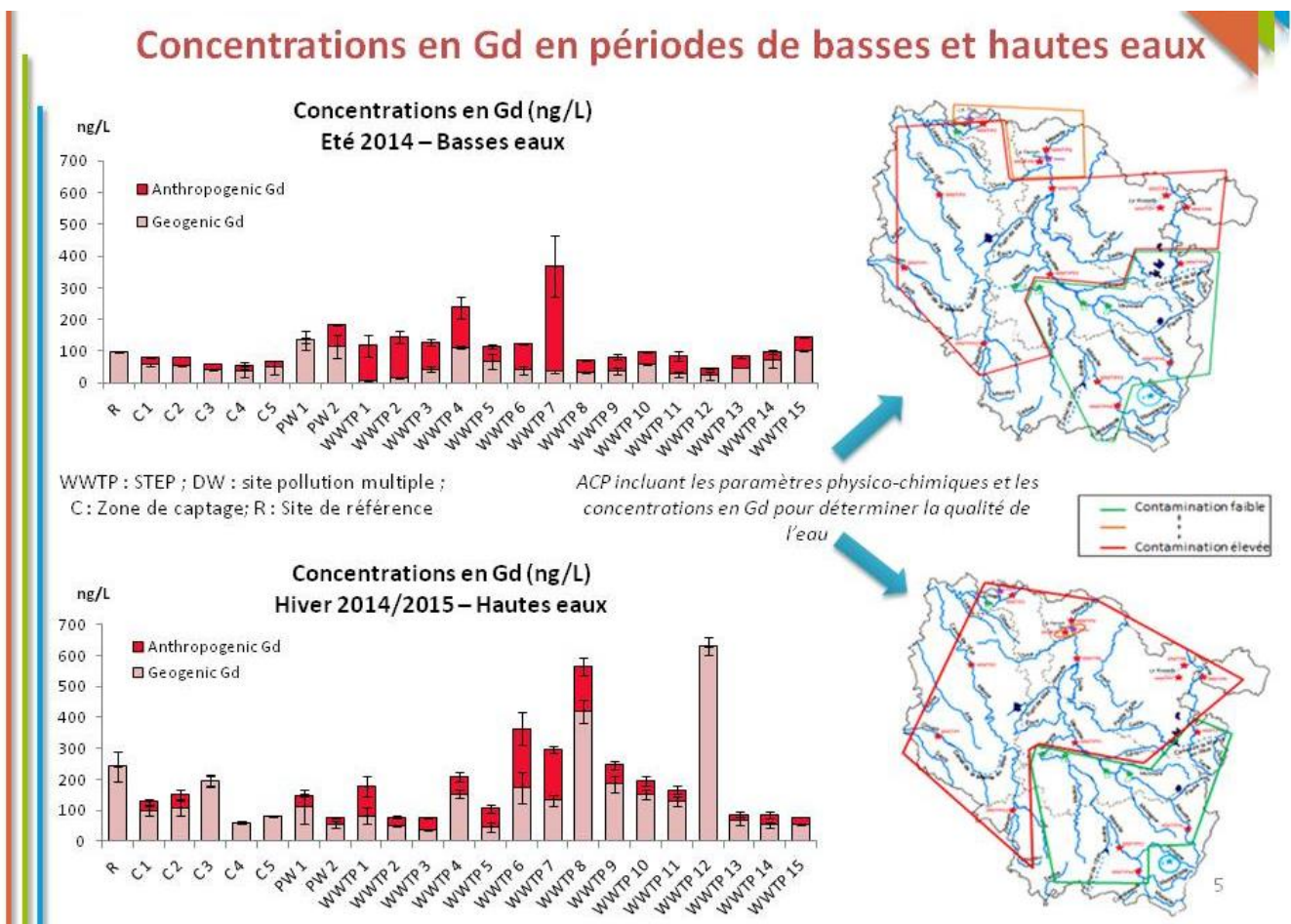


Figure 3 : Bilan des concentrations en gadolinium sur les différents sites de prélèvements

Après analyse, les résultats ont clairement fait apparaître :

Une présence de gadolinium total sur tous les sites mesurés.

Une présence de gadolinium anthropique sur tous les sites situés à proximité de STEP ainsi que sur les zones de captage.

Des concentrations en gadolinium anthropique en sortie de STEP pouvant varier de quelques ng/L à quelques centaines de ng/L.

Des fluctuations importantes des concentrations en gadolinium anthropique à l'échelle journalière comme hebdomadaire.

Des modifications conséquentes de la part de gadolinium géogénique entre la situation de basses eaux et de hautes eaux (certainement due à une plus forte érosion des sols).

Au regard de ces observations, il apparaît clairement que les mesures que nous avons effectuées sont une image ponctuelle de la présence de gadolinium sur les lieux évalués et ne peuvent être en aucun cas être assimilés à des valeurs régulières.

Néanmoins, ces mesures ont clairement permis de situer la plage de concentration en gadolinium total qui peut être retrouvées sur des zones proches de STEP, ces zones représentant certainement les lieux les plus contaminés par les agents de contraste au gadolinium.

Il est légitime de considérer cette plage de concentration en gadolinium total répartie suivant les cas entre quelques ng/L et une dizaine de µg/L pour les situations les plus extrêmes que nous avons observées.

D'autre part, une analyse statistique incluant les paramètres physico-chimiques et les concentrations en gadolinium total et anthropique pour déterminer la qualité de l'eau a permis de regrouper les différents sites de manière quasi similaire en situation de basses eaux et de hautes eaux (Figure 3). Ce regroupement laisse apparaître une contamination au gadolinium plus importante en Lorraine nord comparé à la partie vosgienne située plus au sud de la région.

Action 2 : Etude de la bioaccumulation des agents de contraste

Les études de bioaccumulation ont été menées sur différents organismes de la chaîne trophique (algues, daphnies, bivalves et poissons). Lorsque ces études ont été menées *in vitro*, les organismes ont principalement été mis en présence du composé le plus utilisé, et donc le plus rejeté à l'heure actuelle, à savoir l'acide gadotérique (Dotarem®). Dans le cas des bivalves, la bioaccumulation a également été analysée *in situ*. Dans ce cas, les organismes étaient en présence de gadolinium contenus dans les rejets gadolinés issus des STEP avoisinantes, mais également de gadolinium naturel.

Aucune bioaccumulation n'a pu être mise en évidence chez les algues (*Pseudokirchneriella subcapitata* et *Chlorella vulgaris*) après un maintien en culture durant 6 jours ni chez les daphnies après un maintien en élevage durant 45 jours en présence de Gd-DOTA (Dotarem®) à des concentrations de 20, 200, 600, 1000, 5000 et 10000 ng/L de Gd et ceci quelque soit le mode de contamination, i.e. présence du Dotarem® dans le milieu pour les algues et les daphnies, dans la nourriture pour les daphnies, ou combinaison des deux situations pour les daphnies.

Concernant les bivalves dulçaquicoles, nous avons travaillé sur deux espèces différentes : *Corbicula fluminea* et *Dreissena rostriformis bugensis*. Les mesures de bioaccumulation ont été menées *in situ* sur un site situé à proximité d'un rejet de station d'épuration ainsi qu'en conditions contrôlées en laboratoire. La présence du gadolinium total dans l'eau et dans les organismes a été mesurée par ICP-MS.

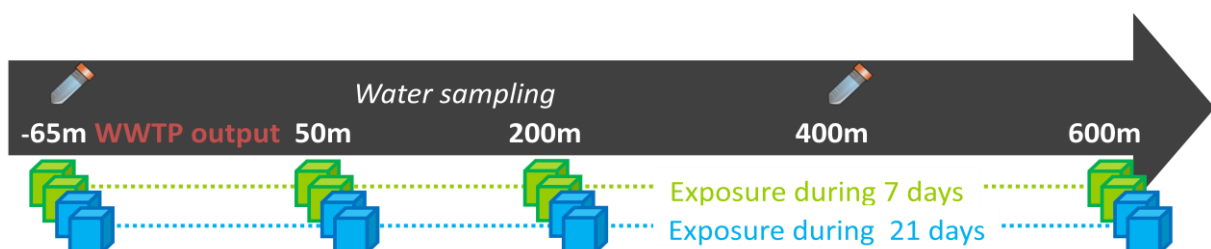


Figure 4 : Emplacements des organismes lors de l'expérimentation *in situ*

Concernant l'exposition *in situ*, les organismes ont été placés en amont (65m) et en aval (50, 200 et 600 m) d'un rejet de station d'épuration (La Maxe, 57) pendant 7 et 21 jours. Le

gadolinium total a été mesuré dans l'eau de manière journalière sur le site amont et en aval à 400 m du rejet, les taux de gadolinium naturel et anthropique ont été calculés à partir des valeurs mesurées. Le gadolinium total a été mesuré dans les organismes entiers ainsi que dans la glande digestive et dans les branchies.

Sur toute la durée de l'exposition, la valeur de gadolinium total est apparue globalement plus importante sur le site de mesure situé en aval. Le suivi journalier des concentrations en gadolinium total fait également apparaître des pics de rejet très clairement visibles sur le site aval (400 m) mais qui apparaissent également de manière plus modérée lors des mesures faites sur le site amont (-65 m). Il semble que l'activité fluviale sur cette zone provoque de nombreux mouvements d'eau qui pourraient expliquer cette observation.

Lors de ces expérimentations, les concentrations de gadolinium anthropique, calculées à partir des mesures de gadolinium total, sont globalement plus importantes sur le site de mesure situé en aval et apparaissent clairement plus élevées lors des périodes de rejets.

Les mesures ayant été faites par un préleveur automatique chaque jour, il semble plus intéressant pour présenter le niveau d'exposition des organismes au cours des périodes d'expérimentation (7 et 21 jours) de présenter les valeurs médianes de ces mesures sur les durées d'exposition plutôt qu'une valeur moyenne.

Observées de cette manière, les mesures confirment une présence accrue de gadolinium sur la zone aval du rejet – avec une présence nettement différente en ce qui concerne le gadolinium anthropique.

Concernant la bio-accumulation de gadolinium dans les organismes après l'exposition *in situ*, les résultats sont présents dans la figure 5.

Aucune différence significative n'est observée entre l'amont et l'aval après 21 jours d'exposition. Ces observations que les rejets de STEP n'ont pas d'influence sur la bioaccumulation de gadolinium dans les organismes dans nos conditions expérimentales. Pour *Corbicula fluminea* uniquement, une augmentation significative de gadolinium bio-accumulé est observée après 21 jours sur les sites -65m, +200m et + 600m, sans pour autant que ceci ne fasse apparaître des différences amont –aval.

Si l'observation est faite au niveau des tissus, dans les branchies, les valeurs sont proches de zéro pour *Corbicula fluminea* et une accumulation dépendante du temps d'exposition est

visible pour *Dreissena rostriformis bugensis*. L'accumulation n'est que partiellement dépendante du temps dans la glande digestive. Les concentrations de gadolinium après 21 jours d'exposition sont du même ordre quelque soit le site de prélèvement et ne font pas apparaître de différence significative entre les tissus pour les deux organismes.

La différence de comportement entre les deux espèces de bivalves pourrait être expliquée par un taux de filtration plus faible pour *Corbicula fluminea* et pourrait être le reflet d'une induction d'un mécanisme de défense cellulaire tel que le MRX (Mécanisme de Résistance aux Xénobiotiques) , particulièrement dans les branchies (Achard 2004).

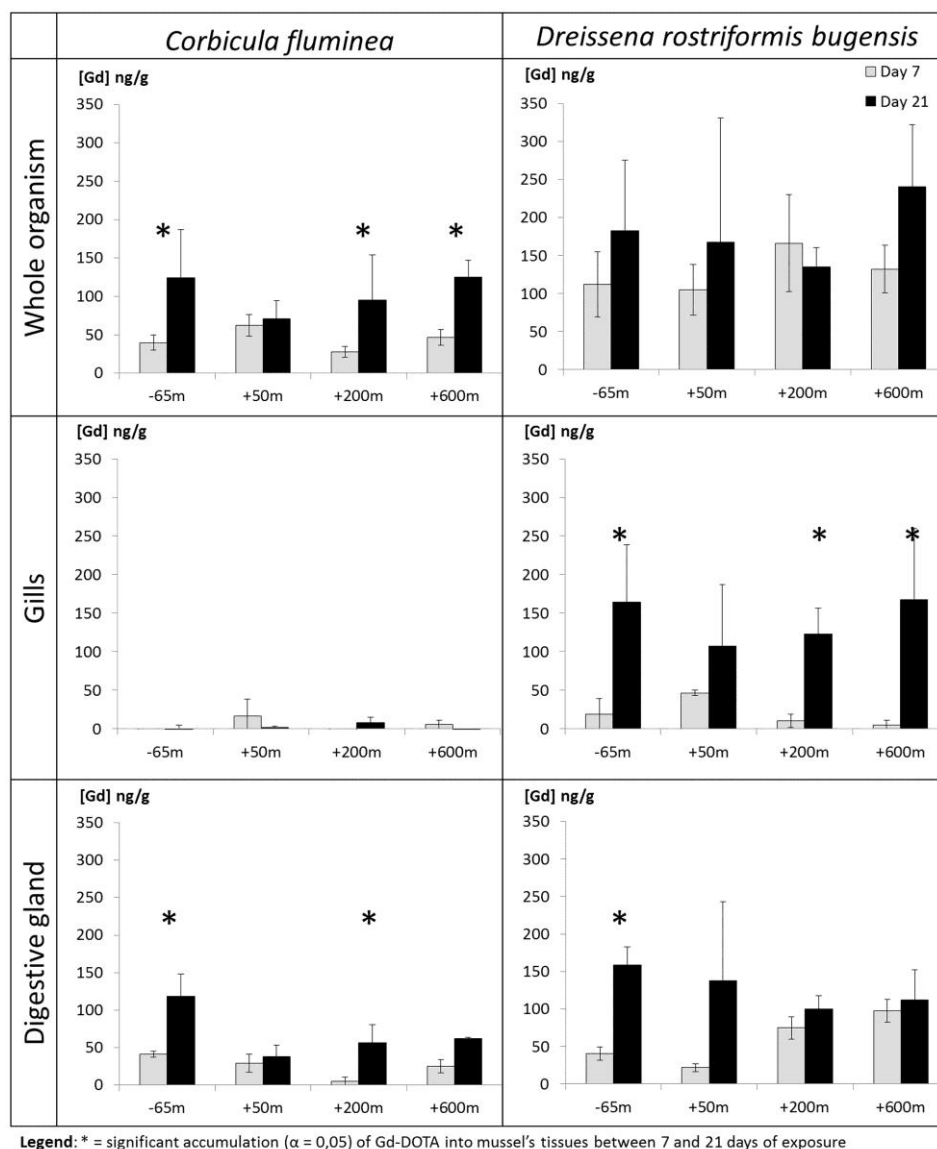


Figure 5 : Concentrations de Gd exprimée en ng par g poids de tissus sec dans les organismes entiers, dans les branchies et dans la glande digestive de *Corbicula fluminea* and *Dreissena rostriformis bugensis* lors de l'expérimentation *in situ*.

Afin d'évaluer la bioaccumulation possible du gadolinium anthropique chez les bivalves, nous avons développé une manipulation de laboratoire en conditions contrôlées. Pour ce faire, nous avons utilisé comme source de gadolinium l'agent de contraste le plus stable, le plus utilisé et donc actuellement le plus rejeté dans l'environnement, à savoir l'acide gadotérique (nom commercial: Dotarem®)

Après 7 et 21 jours d'exposition à 1µg/L et 10µg/L en gadolinium sous forme d'acide gadotérique (Dotarem®), la présence du gadolinium a été mesurée dans les branchies et les glandes digestives des organismes. Aucune autre source de gadolinium n'était présente dans les milieux durant cette expérience. Les résultats sont présentés dans la figure 6.

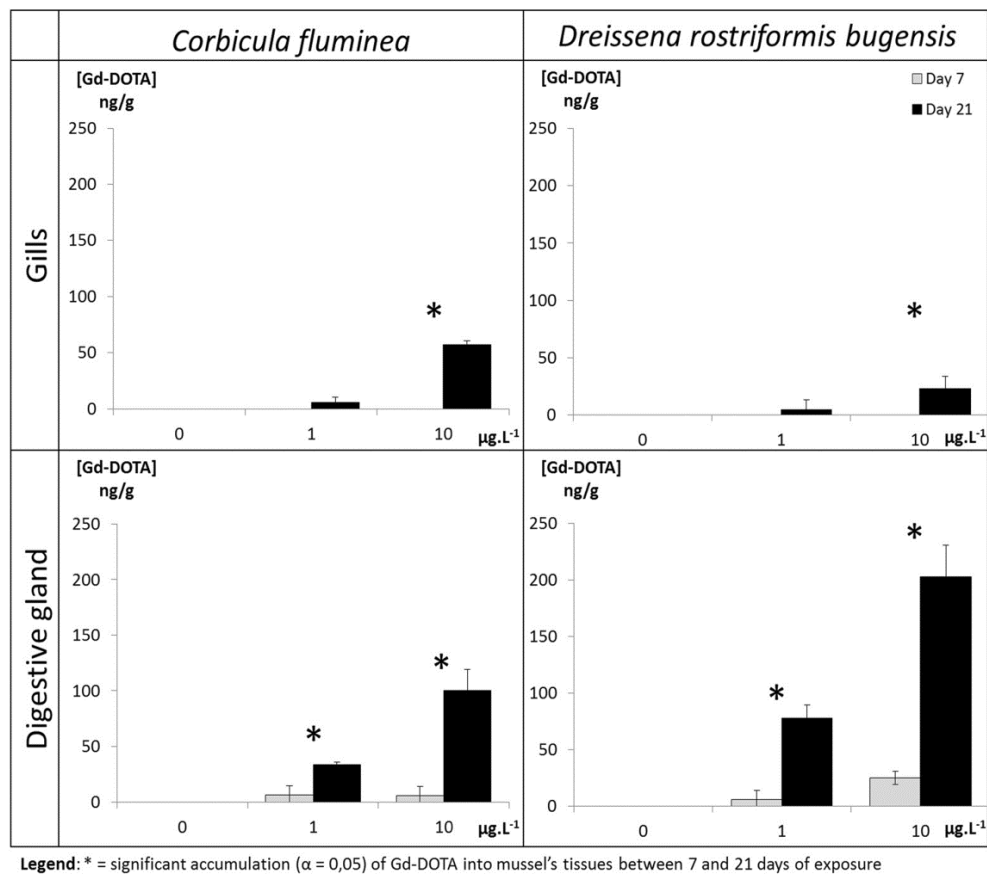


Figure 6 : Concentrations de gadolinium sous forme d'agent de contraste en ng par gramme de tissu sec, dans les branchies et les glandes digestives de deux espèces de bivalves après 7 et 21 jours d'exposition à 1 et 10 µg.L⁻¹ d'acide gadotérique (Dotarem®)

Concernant l'exposition $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ of Dotarem®, une très faible bioaccumulation a été observée chez *Dreissena rostriformis bugensis* et *Corbicula fluminea* dans la glande digestive et les branchies. Une accumulation dépendante du temps est observée chez les organismes exposés à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'acide gadotérique. Dans ces conditions, la présence de gadolinium est plus faible dans les branchies comparées à la glande digestive, et ceci particulièrement pour *Dreissena rostriformis bugensis*.

Les facteurs de bioaccumulation (BAF) du gadolinium dans la glande digestive et dans les branchies ont été calculés à l'issue des expérimentations de terrain et de laboratoire. Comme on peut l'observer dans le tableau 4, le gadolinium s'accumule dans les tissus de bivalves quand les organismes sont exposés à une solution mixte de gadolinium géogénique et anthropique (expérimentation *in situ*) mais également en présence unique de gadolinium anthropique (agent de contraste durant la manipulation contrôlée en laboratoire). Les résultats font apparaître des valeurs de BAF plus faible lors de l'expérimentation en laboratoire par rapport à ceux calculés lors de l'expérimentation *in situ*. Toutefois, il est important de noter que les valeurs de concentrations de gadolinium exprimées en ng/g sont du même ordre de grandeur lors des deux expérimentations (tableau 5). La différence de BAF provient de la nette différence de concentration en gadolinium dans le milieu (1 or $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ pendant l'expérimentation de laboratoire et une moyenne de 57 ng.L^{-1} pendant l'expérimentation *in situ*). On peut émettre l'hypothèse que la quantité de gadolinium bio-accumulée est limitée quelle que soit la présence et la spéciation du gadolinium dans le milieu extérieur aux organismes.

Comme cela a déjà été décrit (Bau and Dulski 1996; Kulaksız and Bau 2011; Telgmann et al. 2013), la principale origine de gadolinium anthropique dans les rivières est la forme agent de contraste rejetée après les examens IRM. On peut donc légitimement penser que la présence de gadolinium anthropique dans les rivières suggère la présence d'agents de contraste dans ce milieu. Durant de l'exposition *in situ*, les bivalves étaient en présence d'un mélange de gadolinium géogénique et anthropique, et dans ces conditions, nous avons observé que le gadolinium peut se bio-accumuler dans les tissus de bivalves. Cependant, notre approche technique de mesure du gadolinium (ICP-MS) ne nous permettait pas de

distinguer le gadolinium géogénique du gadolinium anthropique dans les tissus de bivalves. La preuve de la bio-accumulation possible du gadolinium sous forme agent de contraste est venue de la manipulation en laboratoire en présence d'acide gadotérique (Dotarem®), source unique de gadolinium dans le milieu lors de cette expérimentation.

	<i>Dreissena rostriformis bugensis</i>				<i>Corbicula fluminea</i>			
	DG		G		DG		G	
	7 days	21 days	7 days	21 days	7 days	21 days	7 days	21 days
<i>In situ</i> (200 m)	1732 ±643	1691 ±525	792 ±440	2079 ±924	456 ±272	973 ±782	0 ±0	335 ±241
<i>In lab</i>								
1 µg.L ⁻¹	6.0 ±5.8	77.8 ±11.8	0.0 ±0.0	4.7 ±6.2	6.4 ±6.2	33.4 ±2.6	0.0 ±0.0	5.4 ±4.0
10 µg.L ⁻¹	2.5 ±0.5	20.3 ±2.8	0.0 ±0.0	2.3 ±0.8	0.5 ±0.6	10.0 ±1.9	0.0 ±0.0	5.7 ±0.3

Tableau 4: Facteurs de bio-accumulation (BAF) calculés pour les glandes digestives (DG) et les branchies (G) de deux espèces de bivalves suite à une exposition au gadolinium *in situ* et en conditions contrôlées (*in lab*)

	<i>Dreissena rostriformis bugensis</i>				<i>Corbicula fluminea</i>			
	DG		G		DG		G	
	7 days	21 days	7 days	21 days	7 days	21 days	7 days	21 days
<i>In situ</i> (200 m)	75 ±15	100 ±18	11 ±9	123 ±34	6 ±0	57 ±24	0 ±0	8 ±7
<i>In lab</i>								
1 µg.L ⁻¹	6,0 ±5,8	77,8 ±11,8	0,0 ±0,0	4,7 ±6,2	6,4 ±6,2	33,4 ±2,6	0,0 ±0,0	5,4 ±4,0
10 µg.L ⁻¹	25,0 ±4,8	203 ±27,8	0,0 ±0,0	22,8 ±8	5,4 ±6,0	100,4 ±19	0,0 ±0,0	57,4 ±3,0

Tableau 5 : Concentrations de gadolinium (ng par g de poids sec de tissu) mesuré après exposition *in situ* et en conditions contrôlées (*in lab*) dans la glande digestive (DG) et dans les branchies (G) pour deux espèces de bivalves

En conclusion pour cette approche, l'ensemble de ces résultats montre clairement que le gadolinium présent dans le milieu étudié est bio-accumulé par les bivalves, qu'il s'agisse d'un mélange de gadolinium géogénique et anthropique dans le cas de l'exposition *in situ* ou uniquement de gadolinium sous forme d'agent de contraste dans le cas de l'expérimentation en conditions contrôlées réalisée en laboratoire.

Ces résultats sont innovants puisque jusqu'à ce jour aucune bio-accumulation d'agents de contraste dans les bivalves n'avait été décrite. Ces travaux originaux ont fait l'objet d'une

publication récente (Mars 2017) dans la revue « Environmental Science and Pollution Research » (Publication complète jointe en annexe).

On peut noter que dans le même temps l'expérimentation *in situ* montre que les rejets de STEP ne semblent pas avoir un impact majeur sur cette bioaccumulation.

Concernant l'approche menée sur les poissons, nous avons choisi de travailler sur un modèle poisson largement exploité en écotoxicologie : le poisson zèbre – *Danio rerio*.

Après une étude préliminaire ayant montré de fortes disparités dans le comportement des organismes femelles (effet certainement dû à la situation de reproduction), nous avons choisi de centrer notre approche sur une population de poissons mâles. Ces travaux ne sont pas finalisés à ce jour.

Action 3 : Comportement des agents de contraste en condition de pollutions environnementales

L'action 3 avait pour objectif d'apporter des éléments de réponse pour mieux comprendre le comportement potentiel des agents de contraste une fois rejetés dans l'environnement.

Les travaux ont été abordés sur le composé le plus rejeté à ce jour (Dotarem®) mais également sur un autre composé reconnu comme moins stable (Omniscan®). Ces composés appartiennent respectivement aux catégories « Faible » et « Elevée » de risques définis pour l'homme par la Haute autorité de santé, suite à l'observation de problèmes de santé découlant de leur utilisation clinique.

La technologie utilisée a été la relaxométrie. Cette approche a consisté à suivre le taux de relaxation R1 d'eaux de terrain lorsque celles-ci ont été supplémentées par des concentrations croissantes en Gadolinium, que celui-ci soit apporté sous forme chélatée (Dotarem® et Omniscan® qui sont deux agents de contraste GdCA utilisés au cours des examens IRM chez l'homme) ou sous forme de sel (chlorure de gadolinium GdCl₃).

Lorsque le Gd est apportée sous forme chélatée (GdCA) aucun écart à la linéarité pour $R_1 = f([GdCA])$ n'est observé– (Figure 7).

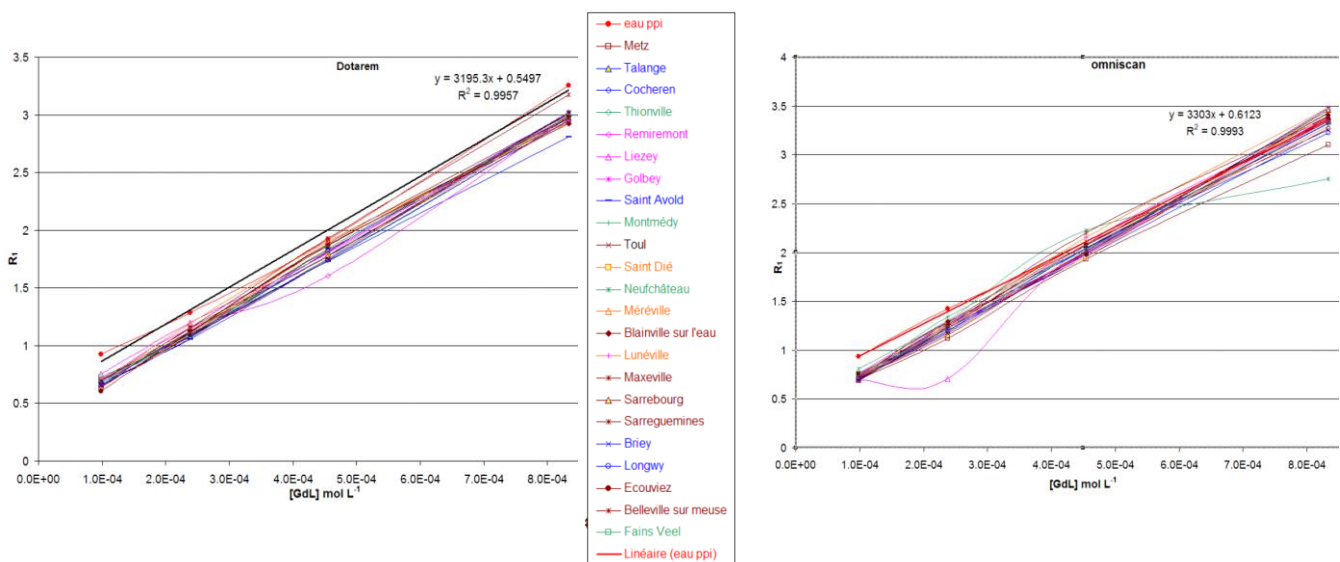


Figure 7 : Taux de relaxation d'eaux supplémentées en agent de contraste – Dotarem® (graphique de gauche) – Omniscan® (Graphique de droite)

En revanche, lorsque le gadolinium est apporté sous forme de chlorure de gadolinium (Gd³⁺ non chélaté) des écarts à la linéarité peuvent être observés (Figure 8). Les résultats montrent

que quelle que soit la situation (Basses eaux ou hautes eaux), les eaux de terrains n'ont pas toutes le même impact sur une solution contenant de Gd^{3+} . Les eaux provenant des sites localisés principalement dans le secteur sud –vosges de la région Lorraine ne modifient quasiment pas le comportement du gadolinium libre (aucun écart à la linéarité), alors que les autres induisent de manière plus ou moins intense une complexation (précipitation ?) du gadolinium libre (écart à la linéarité) et donc sa disparition de la colonne d'eau.

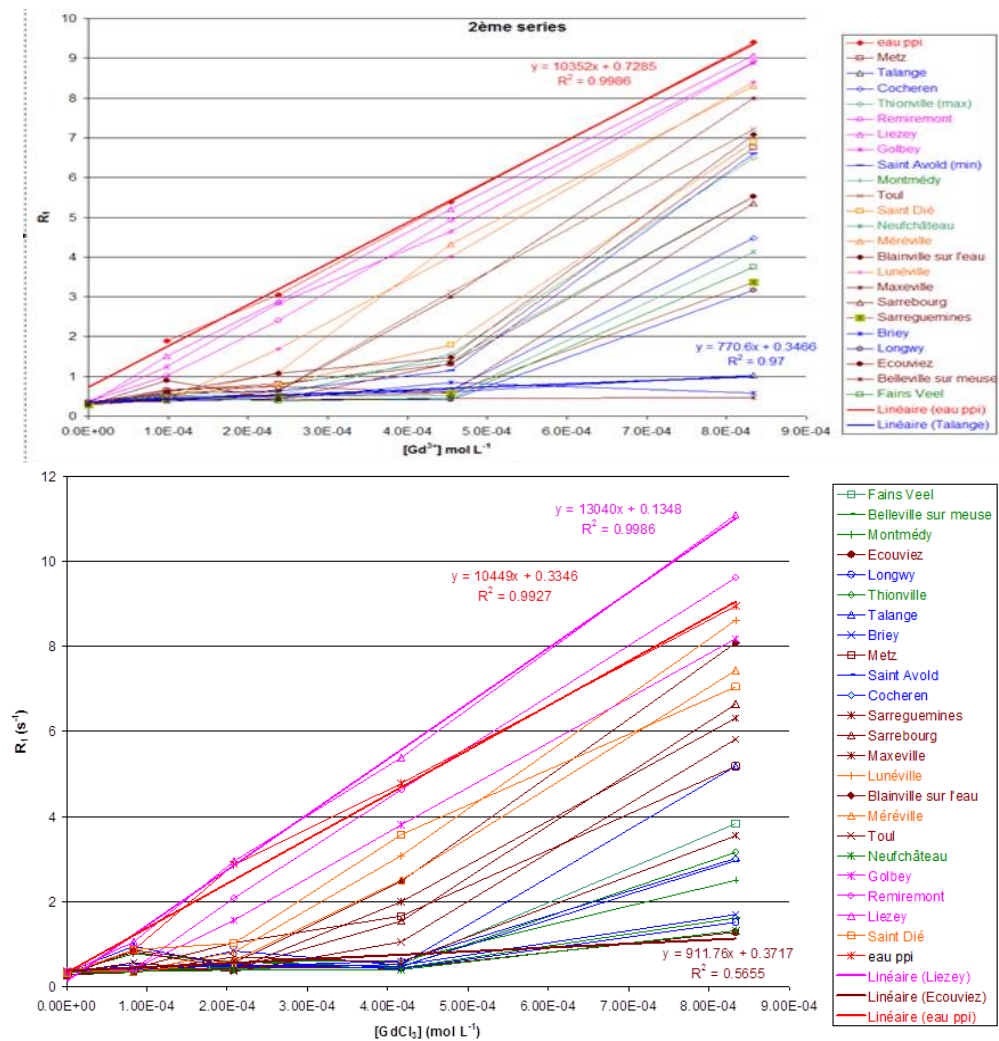


Figure 8 : Taux de relaxation d'eaux supplémentées en $GdCl_3$ – Situation de hautes eaux (graphique du haut) – Situation de basses eaux (graphique du bas).

Les écarts à la linéarité observés pouvant être dus à la prise en charge du Gd^{3+} libre par les phosphates présents dans les eaux de terrain (par la formation de phosphate de gadolinium), nous avons effectué des dosages de phosphate dans ces eaux. Les dosages n'indiquant pas de teneur en phosphate susceptible d'expliquer les résultats, nous émettons donc l'hypothèse que les particules en suspension peuvent piéger le Gd^{3+} libre.

Nous avons ensuite testé la capacité des eaux de terrain à interagir avec le gadolinium libre dans des conditions de démétallation forcée par le zinc. Il apparaît clairement que, même dans les conditions les plus extrêmes testées, aucune réaction de démétallation ne se produit à partir du Dotarem®. Cette observation confirme la forte stabilité de ce composé décrite dans la littérature pour diverses conditions de milieu. Il semble donc que même en situation favorable à la transmétallation (forte concentration d'ions capables de transmétaller et présence de molécules capables de fixer du gadolinium libre issu d'une transmétallation) le gadolinium présent dans le Dotarem® ne se décroche pas.

Il n'en est pas de même pour l'Omniscan® (Figure 9). En effet, après avoir observé que la transmétallation par le zinc était possible avec ce composé, nous avons constaté que le comportement du gadolinium libéré dépendait de l'origine de l'eau environnementale utilisée lors de la réaction. En accord avec les premières expérimentations réalisées, nous avons ainsi observé lors de ces réactions, que les eaux en provenance de la zone sud-vosges de la région Lorraine n'interagissaient pas avec les ions gadolinium libérés alors que les eaux plus chargées en matière en suspension induisent une complexation du gadolinium qui n'est donc plus sous forme libre dans la solution.

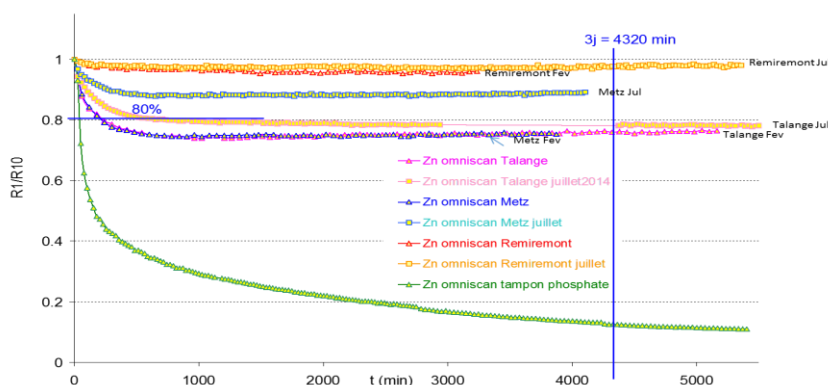


Figure 9 : Démétallation du gadolinium contenu dans l'Omniscan® en présence de zinc et de différentes eaux environnementales.

Ces résultats permettent d'émettre les hypothèses suivantes :

Dans le cas de rejet de gadolinium sous la forme Dotarem®, il est peu probable que la qualité de l'eau ait un impact sur la transmétallation du gadolinium ; ceci suggère que le gadolinium sous la forme complexée (Dotarem®) puisse circuler de manière prolongée dans les colonnes d'eau où elle se trouve. Dans cette situation, le gadolinium est certainement peu biodisponible.

Par contre, dans le cas où un agent de contraste de stabilité similaire à l'Omniscan® se trouve dans une eau environnementale, la transmétallation est une situation possible si le milieu contient une forte concentration d'ions capables de transmétaller le gadolinium. Dans cette situation, plus cette eau est "propre" (faiblement concentrée en matières en suspension), plus on risque d'avoir du gadolinium libre dans la colonne d'eau et dans ce cas il est forcément plus bio-disponible et certainement toxique. Concrètement, ceci suggère donc qu'en milieu de type rivière (où il y a toujours une certaine quantité de matières en suspension), le risque de toxicité du gadolinium en cas de démétallation ne soit pas très élevé puisque la majorité du gadolinium libéré serait rapidement amené à être complexé par les matières en suspension et serait donc de fait peu biodisponible. On pourrait penser que le risque augmente quand la même situation se produit dans des eaux plus propres (moins chargées en matières en suspension), mais si on est dans cette situation, il est peu probable d'avoir une concentration d'ions suffisamment élevée qui puissent favoriser la transmétallation, donc le risque dans une telle situation ne doit pas être très élevé non plus.

En conclusion, tenant compte du fait que la majorité du gadolinium rejeté actuellement dans l'environnement suite aux utilisations lors d'examens IRM se trouve sous la forme d'agent de contraste stable de type Dotarem®, il apparaît que le risque d'une toxicité due à un relargage de l'ion gadolinium présent dans l'agent de contraste soit faible. Néanmoins, ceci n'exclut pas, comme nous l'avons constaté lors de certaines des expériences de bioaccumulation (Cf partie 2) que cette forme complexée puisse être assimilée par des organismes vivants et que, dans cette situation, la biodisponibilité et donc la toxicité du gadolinium puissent être modifiées.

Action 4 : Impacts cellulaires

Les approches cellulaires ont majoritairement été effectuées sur des cellules de poissons zèbres ZF4 (*Danio rerio* – Zebra fish – ATCC® CRL-2050™).

Aucune cytotoxicité de l'acide gadotérique (Dotarem®) n'a été observée en réalisant des tests MTT sur les cellules ZF4.

Par contre, comme cela est visible sur la figure 10, un impact sur la croissance cellulaire est observé de manière significative après 6 jours de culture en présence de 10µg/L de gadolinium présent dans le milieu sous forme d'acide gadotérique (Dotarem®). Cet impact ralentit la croissance des cellules et semble retarder le déclenchement de la phase exponentielle de croissance. Il est important de noter qu'un effet similaire est observé avec une concentration plus faible de 20 ng/L et qu'il n'y a pas d'effet significatif avec une concentration nettement plus élevée de 1 mg/L. La même observation a pu être faite avec du gadodiamide (Omniscan®), avec dans ce cas un effet également retrouvé à forte concentration (1 mg/L).

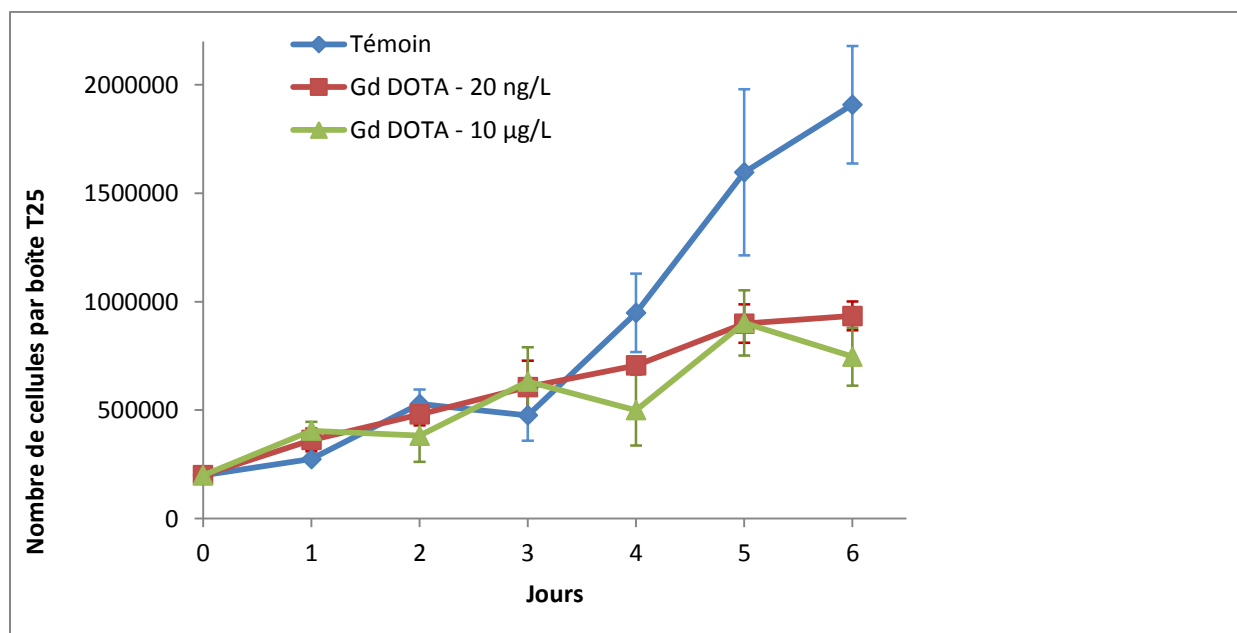


Figure 10 : Impact du Dotarem® sur la croissance des cellules ZF4 (*Danio rerio* – ATCC® CRL-2050™)

Nous avons également constaté que l'impact en présence de 10 µg/L d'acide gadotérique (Dotarem®) perdure dans le temps puisque ce retard de croissance apparaît systématiquement sur des cellules entretenues en culture en présence d'acide gadotérique

(Dotarem®) 10µg/L durant 5 semaines. Lorsque les cellules sont remises dans un milieu de culture sans Dotarem®, elles reprennent leur rythme de croissance normal au bout d’une semaine. Ces observations suggèrent que la présence de Dotarem® 10 µg/l dans le milieu de culture de cellules ZF4 soit un facteur limitant pour la vitesse de croissance sans qu’il y ait pour autant d’effet toxique et que cet effet est réversible. Ces résultats sont présentés dans la figure 11.

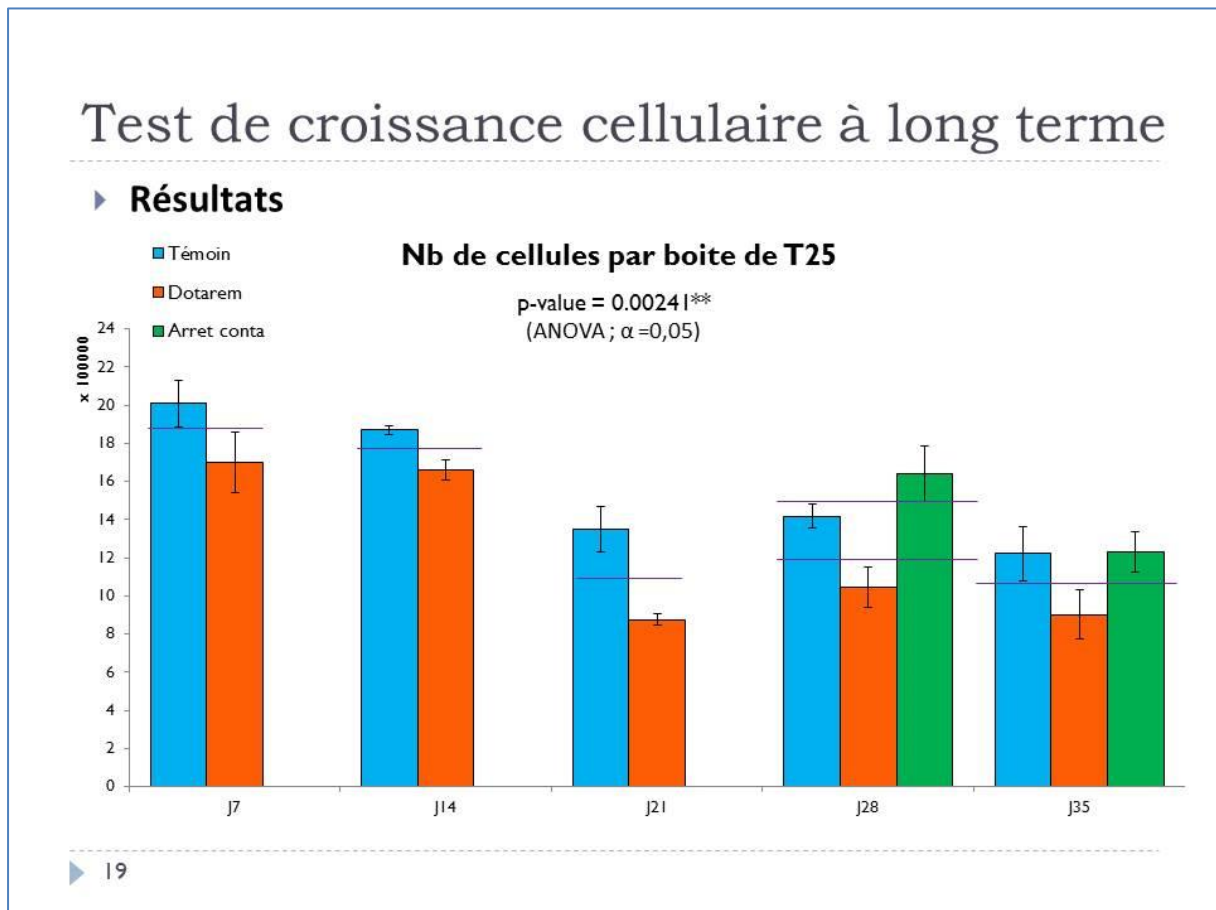


Figure 11 : Impact du Dotarem® sur la croissance des cellules ZF4 (*Danio rerio* – ATCC® CRL-2050™) lors d’une exposition de longue durée.

Afin de mieux cerner l’origine de ces impacts, nous avons entretenu des cellules ZF4 en culture en présence de différentes structures moléculaires. Nous avons ainsi testé l’impact sur la croissance cellulaire des cellules ZF4 du Gd-DOTA dépourvu de méglumine (contre-ion présent dans la solution de Dotarem®), de la méglumine seule, du Zn-DOTA (équivalent du principe actif du Dotarem® ou l’ion gadolinium est remplacé par du zinc), et du H-DOTA (structure chélatrice seule sans présence de métal).

Comme on peut le constater sur la figure 12, l'inhibition de croissance est observée dès lors que la structure chélatrice est présente dans le milieu et ceci indépendamment de la présence ou de la nature du métal. Il semblerait donc que l'effet observé ne soit pas en relation avec une quelconque toxicité du gadolinium mais qu'il s'agisse plutôt d'un phénomène en lien avec la présence de la structure chélatrice. Les manipulations menées ne nous ont pas permis à ce jour de montrer si la structure chélatrice agit sur les cellules ou sur un composant du milieu cellulaire (en le rendant peut-être inaccessible aux cellules). De même nous ne savons pas si cette structure est ou non internalisée dans les cellules.

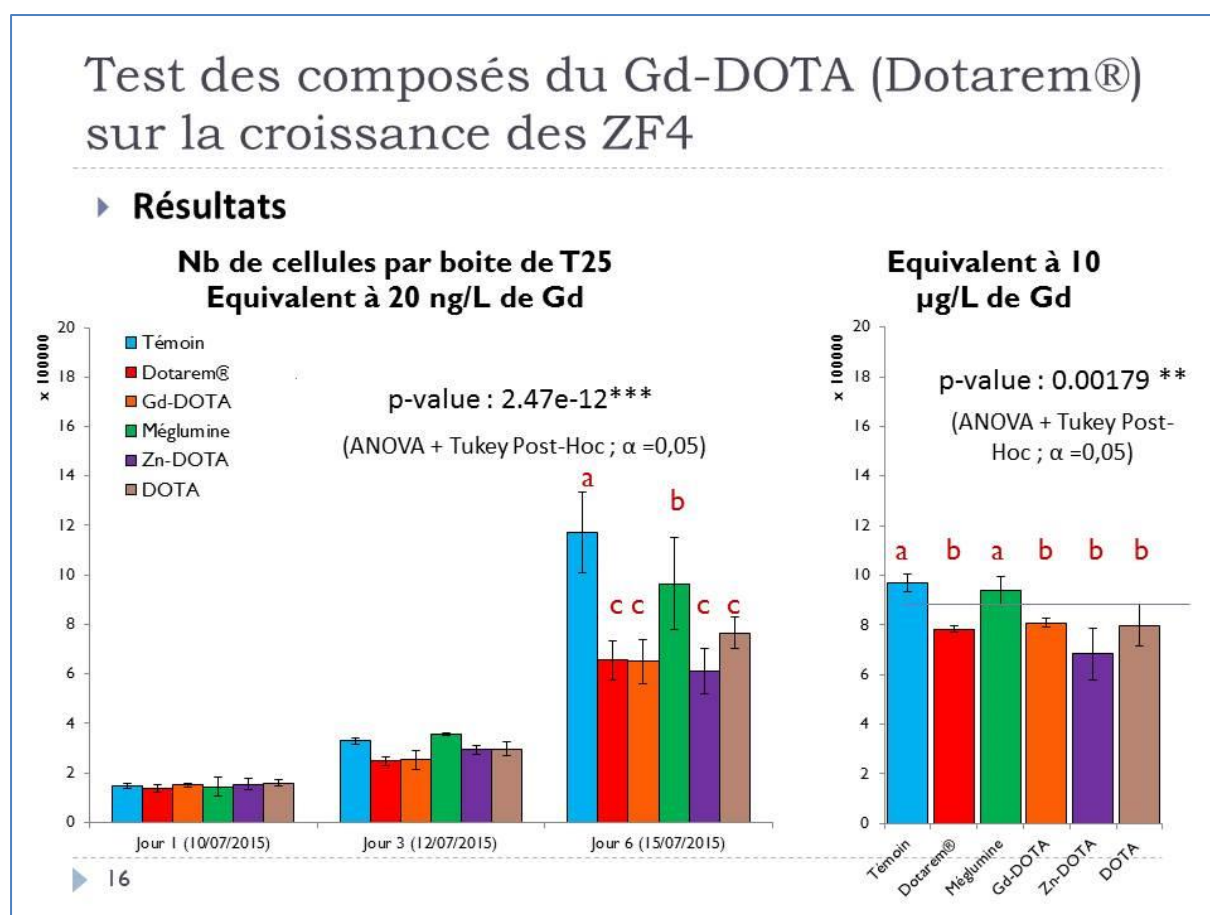


Figure 12 : Impact des différents composants du Dotarem® sur la croissance des cellules ZF4 (*Danio rerio* – ATCC® CRL-2050™).

Afin de voir si les effets observés sur le lignée ZF4 (*Danio rerio* – Zebra fish) étaient propres à cette lignée cellulaire ou non, nous avons suivi l'effet de l'acide gatotérique (Dotarem®) sur

une lignée cellulaire issue de cellules épithéliales provenant de branchies de truites arc-en-ciel (RT gill – W1 / ATCC® CRL-2523™).

Les résultats (figure 13) ont montré qu'un effet de ralentissement de la croissance était également observé sur les cellules RT gill W1, ceci de manière significative dès 9 jours de culture en présence de 20ng/L de gadolinium apporté dans le milieu sous forme d'acide gadotérique (Dotarem®). L'effet observé est donc similaire à celui observé sur les cellules ZF4 (ralentissement de croissance à faible concentration non visible à une concentration plus élevée) mais il apparaît à une concentration plus faible et plus tardivement que celui observé sur les cellules ZF4. On peut également souligner que l'effet est moins prononcé, puisque la différence de taux de croissance est de 1,83 à 6 jours pour les cellules ZF4 contre 1,35 à 9 jours pour les cellules RT gill – W1 (moyennes de 2 manipulations).

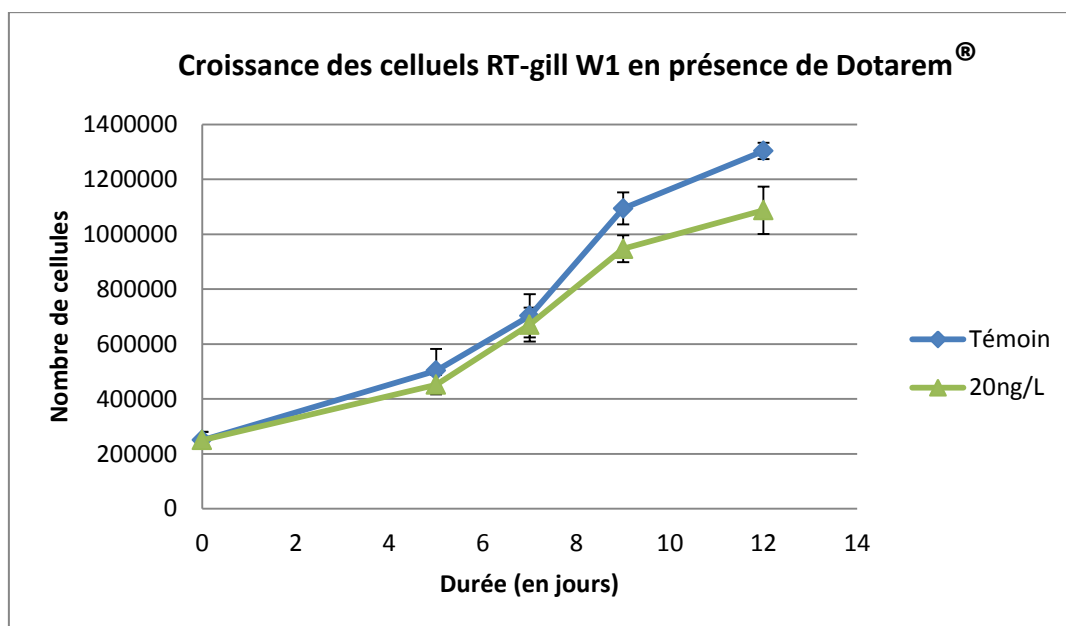


Figure 13 : Suivi de croissance des cellules RT-gill W1 en condition de culture conventionnelle ou en présence de gadolinium 20 ng/L introduit sous forme de Dotarem®.

En conclusion de cette approche, nous avons pu constater que la présence de Dotarem® dans un milieu de culture cellulaire perturbe la croissance de lignées cellulaires de poissons (ZF4 - *Danio rerio* – ATCC® CRL-2050™ et RT gill – W1 / ATCC® CRL-2523™). Il n'y a apparemment pas d'effet cytotoxique mais un impact qui ralentit la croissance. Cet impact

pourrait être dû à une interaction du noyau DOTA (partie chélatrice constituant du Dotarem®) avec un composant du milieu de culture cellulaire indispensable à une croissance normale. Ces résultats suggèrent que la présence de Dotarem® dans un milieu puisse interagir avec des composants présents dans ce milieu et en conséquence avoir des répercussions négatives sur la physiologie d'organismes vivants présents dans le milieu. Certes, il s'agit d'effets observés sur des cellules en culture et les fortes dilutions d'agents de contraste en milieu environnemental atténuent fortement la possibilité de ce phénomène mais néanmoins, nous avons mis en évidence que l'acide gadotérique (Dotarem®) n'est pas inerte face à un système vivant. Les rejets incontrôlés de ce composé dans l'environnement sur des temps longs représentent donc un risque non nul de possible interaction avec des organismes vivants dans l'écosystème.

Action 5 : Impacts sur les organismes vivants

L'impact sur les organismes vivants a été abordé sur des algues vertes unicellulaires d'eau douce – *Chlorella vulgaris* et *Pseudokirchneriella subcapitata*, un micro-crustacé d'eau douce *Daphnia magna*, des larves de poisson zèbre (*Danio rerio*) ainsi que deux bivalves d'eau douce *Dreissena rostriformis bugensis* et *Corbicula fluminea*.

Impacts sur des algues vertes unicellulaires d'eau douce – *Chlorella vulgaris* et *Pseudokirchneriella subcapitata*

Aucun effet sur la croissance cellulaire algale n'a été observé sur une durée de 6 jours de culture en présence de Gd sous forme Gd-DOTA (Dotarem®) à 20, 200, 600, 1000, 5000 et 10000 ng/L. Un aspect morphologique modifié de *Chlorella vulgaris* a bien été relevé dès le 2^{ème} jour d'exposition des algues au Gd-DOTA 1 000 à 10 000 ng/L. Cependant, cette observation a été faite au microscope optique (x60) et n'a pas été confirmée par les résultats de cytométrie en flux (granularité et taille des cellules pas significativement différentes à ces concentrations).

Dans le cadre de mesure de l'inhibition de la croissance algale en toxicité aiguë (72 h d'exposition) en présence de Gd-DOTA (Dotarem®) et de Gd-Cl₃ (témoin de toxicité du Gd libre). On a pu déterminer une inhibition de la croissance algale entre :

- 2,24 et 7,86 g[Gd]/L pour *C. vulgaris* et *P. subcapitata* exposées au Gd-DOTA (Dotarem®)
- 2,93 et 11 mg[Gd]/L pour *P. subcapitata* exposée au Gd-Cl₃
- 0,84 et 11 mg[Gd]/L pour *C. vulgaris* exposée au Gd-Cl₃

D'autres manipulations sont encore en cours pour resserrer ces concentrations et déterminer les IC₅₀ pour chaque espèce algale.

Impacts sur un micro-crustacé d'eau douce *Daphnia magna*

Des expérimentations ont été menées en situation d'exposition dans un milieu contaminé par du Gd sous forme Gd-DOTA et une mortalité statistiquement plus élevée a été observée pour les fortes concentrations de 1 à 10 µg/L après 35 jours d'exposition (entre 12 et 20% de mortalité en plus). Un impact sur les pontes (nombre de petits pondus par

daphnie plus faible chez les organismes exposés au milieu contaminé sans effet dose) mais cette observée n'a pas été confirmée lors d'une seconde manipulation.

Dans le cas d'une exposition à de la nourriture (mélange d'algues - *C. vulgaris* et *P. subcapitata*) préalablement exposée au Gd-DOTA, des effets sur la mortalité ont été observés, i.e. les individus exposés à la nourriture préalablement exposée au Gd-DOTA commencent à mourir une semaine avant les témoins. Cependant, comme aucune bioaccumulation n'a pu être mise en évidence sur les algues ; il est difficile d'apporter une explication au phénomène observé.

Impacts sur le développement larvaire du poisson zèbre (*Danio rerio*)

Le suivi des effets de deux agents de contraste gadolinés (Dotarem® et Omniscan®) ainsi que du chlorure de gadolinium (utilisé comme témoin positif) sur le développement larvaire du poisson zèbre (*Danio rerio*) a été effectué lors d'un stage de master 1. Nous avons pu vérifier la toxicité du GdCl₃ à des concentrations élevées (100% de mortalité des larves à 24h en présence de GdCl₃ 200mg/L). Les autres observations, faites à partir GdCl₃ à plus faibles concentrations et de gadolinium sous forme d'agents de contraste à différentes concentrations (20 ng/L – 10µg/L – 20mg/L et 200 mg/L) n'ont montré aucune perturbation du développement larvaire, que ce soit en termes morphologiques ou en termes de vitesse de développement (Stage de Elisa POULET – Avril-Mai-Juin 2016). Au cours de ces expérimentations qui représentaient une première approche au laboratoire, nous avons pu constater un certain nombre de points délicats à contrôler (maîtrise de la ponte et homogénéité de la nourriture des larves). De nouvelles manipulations sont actuellement en cours afin d'utiliser les résultats obtenus comme point de départ d'une approche plus précise de l'impact de xénobiotiques (agents de contraste mais également d'autres composés) sur le développement larvaire du poisson zèbre. Ces travaux font l'objet d'un stage de Master 2 d'une durée de 6 mois.

Impacts sur deux bivalves d'eau douce *Dreissena rostriformis bugensis* et *Corbicula fluminea*

Suite aux résultats obtenus lors des expériences de bioaccumulation, nous avons suivis plusieurs paramètres biochimiques chez les deux bivalves étudiés (*Dreissena rostriformis bugensis* et *Corbicula fluminea*) afin d'évaluer l'impact d'une bioaccumulation de Gd-DOTA dans ces organismes.

Les mesures ont été faites dans les glandes digestives des organismes après 7 et 21 jours d'exposition à des solutions de 1 et 10µg/L en Gd-DOTA.

Les paramètres suivants ont été mesurés :

Activité de la catalase en lien avec les réponses cellulaires aux phénomènes d'oxydation

Activité de la GST (Glutathion S-transférase) en lien avec les réponses cellulaires aux phénomènes de détoxication de xénobiotiques

Activité de la GPx (Glutathion peroxydase) en lien avec les réponses cellulaires aux phénomènes d'oxydation

Capacité antioxydante totale (TAC)

Peroxydation lipidique (ROS) en lien avec des dommages induit par des phénomènes d'oxydation

Activité Caspase 3 en lien avec les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée)

Activité LDH – Lactate déshydrogenase correspondant à un indicateur de dommage cellulaire

Activité ETS - Système de transfert d'électron

L'ensemble des résultats sont présentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Activités enzymatiques mesurées dans la glande digestive (a) et les branchies (b) de deux espèces de bivalves après exposition à du gadolinium présent sous forme d'agent de contraste (Dotarem®)

a)	7 days			21 days		
	0 µg.L ⁻¹	1 µg.L ⁻¹	10 µg.L ⁻¹	0 µg.L ⁻¹	1 µg.L ⁻¹	10 µg.L ⁻¹
<i>Dreissena rostriformis bugensis</i>						
ETS (µmolO ₂ .gFW ⁻¹ .h ⁻¹)	30.03 ±7.32	28.15 ±8.5	23.60 ±7.7	17.80 ±6.97	25.66 ±12.66	17.33 ±8.9
LOOH (µmolTBH.gFW ⁻¹)	0.42 ±0.09	0.18 ±0.12	0.1 ±0.02	0.14 ±0.10	0.13 ±0.12	0.20 ±0.16
ACP activity (µmol.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	123.28 ±23.17	78.18 ±25.96	59.64 ±5.5	60.18 ±18.71	65.04 ±21.31	71.49 ±17.48
GST (µmolCDNB.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	276 ±71	314 ±108	503 ±103*	291 ±67	284 ±121	303 ±100
GPx (µmolNADPH.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	9.95 ±8.11	37.99 ±16.43	31.93 ±19	21.31 ±9.92	15.42 ±8.84	15.23 ±6.37
TAC (µmolTeq.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	41.24 ±4.90	14.37 ±2.37	18.77 ±13.64	10.36 ±3.68	12.48 ±5.03	15.10 ±9.65
LDH (µmolNADH.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	264 ±42	201 ±63	267 ±72	153 ±3	170 ±20	171 ±62
CAT (mmoleH ₂ O ₂ .gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	296 ±92	169 ±45	203 ±95	165 ±96	137 ±50	139 ±60
<i>Corbicula fluminea</i>						
ETS (µmolO ₂ .gFW ⁻¹ .h ⁻¹)	35.9 ±7.85	36.14 ±10.15	54.98 ±13.59*	29.97.0 ±3.46	21.52 ±6.61	21.04 ±1.69
LOOH (µmolTBH.gFW ⁻¹)	0.48 ±0.18	0.40 ±0.14	0.77 ±0.22*	0.33 ±0.02	0.23 ±0.10	0.23 ±0.01
ACP activity (µmol.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	62.32 ±27.72	55.09 ±16.37	60.00 ±12.84	180.06 ±38.90	173.24 ±7.01	177.23 ±14.23
GST (µmolCDNB.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	487 ±321	361 ±125	483 ±129	426 ±50	624 ±205	593 ±144
GPx (µmolNADPH.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	58.40 ±26.12	62.24 ±12.15	65.81 ±19.51	32.29 ±10.13	41.31 ±8.32	34.07 ±5.29
TAC (µmolTeq.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	39.14 ±20.81	24.94 ±5.65	35.95 ±6.97	4.30 ±1.60	5.23 ±2.39	7.22 ±1.95
LDH (µmolNADH.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	164 ±74	130 ±15	159 ±22	104 ±13	122 ±28	125 ±11
CAT (mmoleH ₂ O ₂ .gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	219 ±102	123 ±49	150 ±43	65 ±22	114 ±37	95 ±32

Legend: * = significant effect of Gd-DOTA exposure on biomarker concentration ($\alpha = 0.05$)

b)	7 days			21 days		
	0 µg.L ⁻¹	1 µg.L ⁻¹	10 µg.L ⁻¹	0 µg.L ⁻¹	1 µg.L ⁻¹	10 µg.L ⁻¹
<i>Dreissena rostriformis bugensis</i>						
ETS (µmolO ₂ .gFW ⁻¹ .h ⁻¹)	9.35 ±1.78	7.43 ±1.14	7.56 ±1.66	11.27 ±3.58	11.11 ±2.62	9.67 ±0.89
LOOH (µmolTBH.gFW ⁻¹)	0.47 ±0.10	0.38 ±0.15	0.52 ±0.11	0.41 ±0.04	0.50 ±0.13	0.44 ±0.05
ACP activity (µmol.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	61.95 ±9.34	70.39 ±10.81	73.76 ±15.28	59.86 ±12.17	68.86 ±8.92	71.05 ±10.35
GST (µmolCDNB.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	200 ±35	227 ±18	214 ±53	276 ±88	193 ±50	257 ±45
GPx (µmolNADPH.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
TAC (µmolTeq.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LDH (µmolNADH.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	119 ±40	123 ±38	154 ±47	154 ±70	127 ±51	113 ±35
CAT (mmoleH ₂ O ₂ .gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	100 ±21	99 ±26	90 ±18	171 ±77	122 ±37	137 ±32
<i>Corbicula fluminea</i>						
ETS (µmolO ₂ .gFW ⁻¹ .h ⁻¹)	39.69 ±20.73	47.07 ±13.45	47.20 ±8.00	101.06 ±44.07	53.33 ±18.60	44.06 ±9.47
LOOH (µmolTBH.gFW ⁻¹)	0.85 ±0.41	1.12 ±0.33	1.08 ±0.19	0.47 ±0.18	0.34 ±0.09	0.55 ±0.16
ACP activity (µmol.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	37.32 ±9.76	38.00 ±5.77	33.21 ±2.66	27.69 ±4.45	31.55 ±3.60	29.97 ±5.39
GST (µmolCDNB.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	31 ±6	33 ±8	28 ±7	19 ±10	31 ±10	25 ±4
GPx (µmolNADPH.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
TAC (µmolTeq.gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LDH (µmolNADH.gprot ⁻¹ .h ⁻¹)	60 ±13	72 ±44	44 ±11	56 ±27	70 ±13	70 ±12
CAT (mmoleH ₂ O ₂ .gprot ⁻¹ .min ⁻¹)	46 ±22	41 ±10	45 ±17	24 ±11	34 ±7	46 ±9

Legend: n.d. = not determined.

Concernant les branchies, aucune variations significative n'a été observée quelque soit la durée d'exposition et les concentrations d'agent de contraste testées.

A propos de la glande digestive, après 21 jours d'exposition aucun paramètre n'a montré de variation significative par rapport au témoin quelque soit la concentration d'exposition. Après 7 jours d'exposition, aucune modification n'a été observée en présence de 1 µg/L de Gd DOTA, par contre lorsque la concentration d'exposition est de 10 µg/L de Gd-DOTA, nous avons pu observer une induction de l'activité GST chez *Dreissena rostriformis bugensis* et une induction de la peroxydation lipidique et de l'activité ETS chez *Corbicula fluminea*. Dans le premier cas, cette réponse suggère l'activation d'un système de défense alors que dans le

second nous observons des effets cellulaires. Il semble donc que l'exposition à 10 µg/L Gd-DOTA (dont nous avons constaté la bioaccumulation – cf action 3) induise une réaction cellulaire dans la glande digestive. Cette réaction est certainement très précoce chez *Dreissena rostriformis bugensis*, ce qui explique que nous ne voyons pas les effets qui sont enrayés suite à cette réponse de défense cellulaire chez cet organisme. Cette réponse plus tardive chez *Corbicula fluminea* nous amène à observer des perturbations après 7 jours d'exposition. Chez cet organisme, la réponse doit avoir lieu peu après 7 jours puisqu'à 21 jours plus aucune différence n'est visible par rapport au témoin. Dans les deux cas, on peut penser qu'il y a une adaptation des organismes puisque la réponse observée est transitoire et permet ensuite aux organismes de revenir à un état normal après 21 jours.

Pour plus de clarté, les variations observées obtenus sont résumées dans le tableau 7.

	<i>D. r. bugensis</i>		<i>C. fluminea</i>	
	7 days	21 days	7 days	21 days
Catalase activity	=	=	=	=
GST activity	↗ 10 µg/L	=	=	=
GPx activity	=	=	=	=
TAC	=	=	=	=
Lipid hydroperoxide	=	=	↗ 10 µg/L	=
Mitochondrial electron transfer system	=	=	↗ 10 µg/L	=
ACP activity	=	=	=	=
LDH activity	=	=	=	=
Csp-3 activity	=	=	=	=

Tableau 7 : Bilan des variations d'activités enzymatiques observées dans la glande digestive de deux espèces de bivalves (*Dreissena rostriformis bugensis* et *Corbicula fluminea*) après exposition à du gadolinium présent sous forme d'agent de contraste (Dotarem®)

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de cette étude a été d'évaluer quels sont les impacts environnementaux qui peuvent découler des rejets hospitaliers d'agents de contraste au gadolinium utilisés lors des examens IRM. Comme cela est aujourd'hui couramment admis dans la littérature, ces rejets représentent la source quasi unique de gadolinium anthropique dans les environnements aquatiques.

Dans un premier temps, nous avons constaté que le gadolinium anthropique est présent dans les cours d'eau situés à proximité des rejets de STEP sur la totalité des sites lorrains étudiés. Les concentrations mesurées sont du même ordre de grandeur que ce qui a auparavant été décrit dans d'autres secteurs européens (Bau et al. 1996 ; Kulaksiz et al. 2011 ; Telgman et al. 2013). Ces concentrations sont très fluctuantes en fonction des rejets mais aussi en fonction des conditions saisonnières (hautes eaux – basses eaux) qui amènent les cours d'eau à voir leur débit varier de manière non négligeable.

L'impact du gadolinium anthropique sur les organismes a été abordé par des expérimentations de terrain mais également par des expérimentations contrôlées en laboratoire. Nous avons ainsi pu montrer :

- Que ces composés ne semblent pas être bio-accumulés par les algues, ni les daphnies, dans des conditions de concentrations environnementales.
- Que ces composés peuvent être bio-accumulés par des bivalves. Ce phénomène est certainement associé au mécanisme de filtration fortement développé qui caractérise ces organismes.
- Que ces composés provoquent dans la glande digestive des bivalves une réaction d'adaptation cellulaire que nous avons pu observer par la variation de biomarqueurs d'effet et de toxicité.
- Que des composés tels que l'acide gadotérique (Dotarem®) et le gadodiamide (Omniscan®) ont un impact sur la croissance de cellules de poisson zèbre (ZF4 - - *Danio rerio* – ATCC® CRL-2050™) à une concentration de 10µg/L. Il n'y a pas de cytotoxicité mais un ralentissement de la croissance cellulaire qui semble plutôt être en lien avec la structure chélatrice Dotarem® (noyau DOTA) et non avec l'ion Gd.

En parallèle à ces approches à dominante biologique, ce projet a permis d'étudier par des approches chimiques le comportement des agents de contraste lorsqu'ils se retrouvent dans des conditions d'eaux environnementales. Ces approches ont permis de confirmer la stabilité extrême de l'acide gadotérique (Dotarem®) qui n'a jamais libéré le gadolinium chélaté qu'elles que soient les eaux environnementales auxquelles il a été mélangé, y compris lorsque des conditions favorables à la transmétallation ont été créées. Par ces mêmes approches nous avons constaté que la stabilité du gadodiamide (Omniscan®) était plus facilement altérée. Cependant les conditions qui aboutissent au relargage du gadolinium ionique potentiellement toxique sont favorable à la précipitation rapide de ce dernier. Il est donc peu probable, même dans de telles conditions de dégradation de l'agent de contraste, que l'ion gadolinium puisse être bio-disponible et donc devenir toxique.

En conclusion, il convient de souligner le double constat de : 1- la présence des agents de contraste dans les rivières et 2- les perturbations que peuvent engendrer ces composés à l'encontre de systèmes vivants.

Certes les concentrations environnementales de ces composés sont, à ce jour, inférieures aux concentrations ayant un impact sur le vivant mais néanmoins il serait prudent d'envisager une gestion de leurs rejets si on souhaite s'inscrire dans une politique de fonctionnement durable. Ceci est d'autant plus vrai que dans les milieux environnementaux, ces composés sont mélangés à de multiples autres composés d'origine anthropique (HAP, PCB, pesticides, multiples composés pharmaceutiques et métabolites qui en découlent) et que les connaissances des impacts de ces composés en milieux de pollution complexe sont inexistantes à ce jour.

Afin d'approfondir la connaissance du risque associé aux rejets d'agents de contraste dans l'environnement, il conviendra donc maintenant d'en évaluer les impacts en situation de mélanges complexes avec d'autres composés anthropiques, en respectant au mieux des compositions de mélanges représentatives des situations environnementales déjà décrites. Au regard de ce que nous avons observé, le suivi de ces impacts sur les bivalves ainsi que sur des cultures cellulaires de poissons pourront être de bonnes approches pour mener à bien ces expérimentations.

BIBLIOGRAPHIE

- Abraham, J.L., Thakral, C., 2008. Tissue distribution and kinetics of gadolinium and nephrogenic systemic fibrosis. *Eur J Radiol* 66, 200–7.
- Achard, M., 2004. Induction of a multixenobiotic resistance protein (MXR) in the Asiatic clam *Corbicula fluminea* after heavy metals exposure. *Aquat. Toxicol.* 67, 347–357. doi:10.1016/j.aquatox.2004.01.014
- Bau, M., Dulski, P., 1996. Anthropogenic origin of positive gadolinium anomalies in river waters. *Earth Planet. Sci. Lett.* 143, 245–255. doi:10.1016/0012-821X(96)00127-6
- Bau, M. et al. (2006). "Anthropogenic gadolinium as a micropollutant in river waters in Pennsylvania, and in Lake Erie, northeastern United States." *Chemie Der Erde-Geochemistry* 66(2): 143-152.
- Bellin, M.F., Van Der Molen, A.J., 2008. Extracellular gadolinium-based contrast media: an overview. *Eur J Radiol* 66, 160–7.
- Birka M. et al. (2013). Sensitive quantification of gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agents in surface waters using hydrophilic interaction liquid chromatography and inductively coupled plasma sector field mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1308, 125-131.
- Bleavins S. et al. (2012). "Stimulation of Fibroblast Proliferation by Insoluble Gadolinium Salts." *Biol Trace Elem Res* 145: 257-267.
- Elbaz-Poulichet, F., Seidel, J.L., Othoniel, C., 2002. Occurrence of an anthropogenic gadolinium anomaly in river and coastal waters of southern France. *Water Res* 36, 1102–5. doi:10.1016/S0043-1354(01)00370-0
- Galera, C., et al. (2010). "Anaphylaxis to gadolinium contrast agents." *Revue française d'allergologie* 50: 556-562.
- Kulaksız, S., Bau, M., 2013. Anthropogenic dissolved and colloid/nanoparticle-bound samarium, lanthanum and gadolinium in the Rhine River and the impending destruction of the natural rare earth element distribution in rivers. *Earth Planet. Sci. Lett.* 362, 43–50. doi:10.1016/j.epsl.2012.11.033
- Kulaksız, S. et al. (2007). "Contrasting behaviour of anthropogenic gadolinium and natural rare earth elements in estuaries and the gadolinium input into the North Sea." *Earth and Planetary Science Letters* 260(1-2): 361-371.
- Kulaksız, S., Bau, M., 2011. Anthropogenic gadolinium as a microcontaminant in tap water used as drinking water in urban areas and megacities. *Appl. Geochem.* 26, 1877–1885. doi:10.1016/j.apgeochem.2011.06.011

Lawrence, M.G., Ort, C., Keller, J., 2009. Detection of anthropogenic gadolinium in treated wastewater in South East Queensland, Australia. *Water Res.* 43, 3534–3540. doi:10.1016/j.watres.2009.04.033

Lindner, U., Lingott, J., Richter, S., Jakubowski, N., Panne, U., 2013. Speciation of gadolinium in surface water samples and plants by hydrophilic interaction chromatography hyphenated with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 1865–73.

NF EN ISO 9963-1, 1996. Qualité de l'eau - Détermination de l'alcalinité - Partie 1 : détermination de l'alcalinité totale et composite.

Py, J.S., Garnier, A., Vo Van Regnault, G., Munoz, J.F., 2011. Occurrence du gadolinium anthropique dans les eaux destinées à la consommation humaine. *Cahiers Réf.* 5, 26–29.

Rabiet, M. et al. (2009). "Positive gadolinium anomalies in wastewater treatment plant effluents and aquatic environment in the Hérault watershed (South France)." *Chemosphere* 75(8): 1057-1064.

Taylor, S.R., McLennan, S.M., 1985. *The Continental Crust: Its Composition and Evolution.* 312 pp. Oxford, London, Edinburgh, Boston, Palo Alto, Melbourne: Blackwell Scientific., Geological Magazine.

Telgmann, L., Sperling, M., Karst, U., 2013. Determination of gadolinium-based MRI contrast agents in biological and environmental samples: a review. *Anal. Chem. Acta* 764, 1–16. doi:10.1016/j.aca.2012.12.007

Telgmann, L., Wehe, C.A., Birka, M., Künnemeyer, J., Nowak, S., Sperling, M., Karst, U., 2012. Speciation and Isotope Dilution Analysis of Gadolinium-Based Contrast Agents in Wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 46, 11929–11936. doi:10.1021/es301981z

Thomsen, H. S. (2011). "Contrast media safety—An update." *European Journal of Radiology* 80: 77-82.

Verplanck, P. L. et al. (2010). "Evaluating the behavior of gadolinium and other rare earth elements through large metropolitan sewage treatment plants." *Environmental Science & Technology* 44(10): 3876-3882.

VALORISATION DES TRAVAUX

Publications

PERRAT E, PARANT M, PY JS, ROSIN C, COSSU-LEGUILLE C. - **2017** - Bioaccumulation of gadolinium in freshwater bivalves - Environ Sci Pollut Res Int. 2017 Mar 30. doi: 10.1007/s11356-017-8869-9

En préparation :

Impact of gadoteric acid on the growth of zebra fish cells (ZF4 – ATCC 2050)

Variations of Anthropogenic gadolinium in rivers close to waste water treatment plants rejections.

Présentations sous forme de posters

- 2016-04-19 Perrat, E., Bouyer L., Parant M., Py J-S., Wagner P., Rosin C., Cossu-Leguille C. Effets des agents de contraste à base de gadolinium sur les bivalves d'eau douce. Journée des doctorants, Metz (France)
- 2016-01-28 Perrat, E., Bouyer L., Parant M., Py J-S., Wagner P., Rosin C., Cossu-Leguille C. Effets des agents de contraste à base de gadolinium sur les bivalves d'eau douce. Séminaire de l'école doctorale RP2E, Nancy (France)
- 2016-01-20 Perrat E., Parant M., Rosin C., Cossu-Leguille C. Les agents de contraste au Gadolinium : présence dans le milieu aquatique lorrain et impacts sur les organismes. Labex Ressources 21, Nancy (France)
- 2015-10-16 Parant M., Perrat, E., Rosin C., Py J-S., Wagner P., Shom B., Chuburu F., Deschamps I., Cadiou C., Cossu-Leguille C. Impacts des agents de contraste au Gadolinium : Année 1. Rapport EC2CO, Paris (France)
- 2015-06-29 Perrat, E., Parant M., Py J-S., Wagner P., Rousselle P., Rosin C., Cossu-Leguille C. Anthropogenic gadolinium: environmental concentrations in Lorraine region (France) and effects on living organisms. EDA-EMERGE PhD student conference, Leipzig (Germany).

- 2015-05-04 Perrat, E., Parant M., Py J-S., Wagner P., Rousselle P., Rosin C., Cossu-Leguille C. Anthropogenic gadolinium: environmental concentrations in Lorraine region (France) and effects on living organisms. SETAC, Barcelone (Spain).
- 2015-01-23 Perrat E., Parant M., Rosin C., Cossu-Leguille C. Evaluation de la présence des agents de contraste au Gadolinium sur le secteur lorrain. Labex Ressources 21, Nancy (France)

Présentations orales

- 2016-05-24 Perrat, E., Bouyer L., Parant M., Py J-S., Wagner P., Rosin C., Cossu-Leguille C. Effects of Gadolinium-based contrast agents used in magnetic resonance imaging on freshwater mussels. SETAC, (Nantes, France).
- 2015-10-16 Perrat, E., Parant M., Rosin C., Py J-S., Wagner P., Shom B., Chuburu F., Deschamps I., Cadiou C., Cossu-Leguille C. Impacts des agents de contraste au Gadolinium dans l'environnement Lorrain : Avancement des travaux. Atelier Terres Rares, Labex Ressources 21 (Nancy, France).
- 2015-01-23 Parant M., Perrat, E., Rosin C., Py J-S., Wagner P., Shom B., Chuburu F., Deschamps I., Cadiou C., Cossu-Leguille C. Impacts environnementaux des agents de contraste au gadolinium : situation locale, approches cellulaires et *in vivo*, Labex Ressources 21 (Nancy, France).
- 2014-06-16 Perrat E., Parant M., Dauchy X., Wagner P., Rousselle P., Cossu-Leguille C. Impacts des agents de contraste au Gadolinium dans l'environnement Lorrain : Premiers résultats. Atelier Terres Rares, Labex Ressources 21 (Nancy, France).